

**T.C.  
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PROGRAMI**

**BÖBREK TAŞI OLUŞUMUNU ETKİLEYEN GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Hazırlayan  
Özlem ÜLİÇ ÇATAR**

**Tez Danışmanı  
Yrd. Doç. Dr. Nagehan ERSOY TUNALI**

**İstanbul - 2010**

T.C.  
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı Tezli Yüksek Lisans öğrencisi **Özlem ÜLİÇ** tarafından hazırlanan “Böbrek Taşı Oluşumunu Etkileyen Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması” adlı bu çalışma jürimizce Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Tarihi : 21.07.2010

( Jüri Üyesinin Ünvanı , Adı , Soyadı ve Kurumu ) :

İmzası :

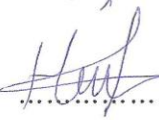
Jüri Üyesi: Yrd.Doç.Dr.Nagehan ERSOY TUNALI  
Danışman-HAL.Üniv.Mol.Biy.ve Gen.ABD Öğr.Üyesi

.....  


Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Baki YOKEŞ  
HAL.Üniv.Mol.Biy.ve Gen.ABD Öğr.Üyesi

.....  


Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Hatice YORULMAZ  
HAL.Üniv. Hemşirelik Yüksekokulu Öğr.Üyesi

.....  


Jüri Üyesi : Prof.Dr.Necmiye SABUNCU  
HAL.Üniv. Hemşirelik Yüksekokulu Öğr.Üyesi (Yedek)

.....

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Burcu Irmak YAZICIOĞLU  
HAL.Üniv.Mol.Biy.ve Gen.ABD Öğr.Üyesi (Yedek)

.....

## ÖNSÖZ

Bu çalışma 2009-2010 yılları arasında T.C. Haliç Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nün bilimsel araştırmalarım ve uygulama çalışmalarım verdiği destek ile hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans eğitiminin tamamlanması sürecinde verdiği bilgi, destek ve gösterdiği hoşgörü ile sabır için tez danışmanım Sayın Yard. Doç. Dr. Nagehan Ersoy Tunalı'ya çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince hep yanımda olan ve desteğini hissettiren yüksek lisans arkadaşım Zeynep Ceylan'a ve bilgi birikimini benden esirgemeyen Kutluhan İncekara'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam süresinde gösterdiği sabır için eşime ve varlığı ile manevi destek veren kızım, tüm eğitim hayatım boyunca verdiğim her kararın arkasında durarak, verdikleri destek ile kendi ayaklarım üzerinde durmamı sağlayan anneme, babama, kardeşime ve teyzeme sonsuz teşekkür ederim.

Özlem Üliç Çatar

Haziran, 2010

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
KISALTMALAR LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ÖZET .....	VII
ABSTRACT .....	VIII

### 1.GİRİŞ

1.1. Böbrek Taşı Hastalığına Genel Bakış.....	1
1.2. Taş Oluşumunu Etkileyen Faktörler.....	2
1.2.1. Coğrafi Konum.....	2
1.2.2. Yaş, Irk ve Cinsiyet.....	2
1.2.3. Genetik Faktörler.....	3
1.2.4. Mevsimsel ve İklimsel Etmenler.....	4
1.2.5. Mesleki Faktörler .....	4
1.2.6. Sıvı Alımı .....	4
1.2.7. Beslenme .....	5
1.2.8. Eşlik Eden Hastalıklar .....	6
1.3. Taş Oluşum Teorileri .....	7
1.4. Yapılarına Göre Taşlar .....	8
1.4.1.Kalsiyum Oksalat Taşları .....	8
1.4.1.1. Hiperkalsiüri.....	8
1.4.1.2. Hiperoksalatüri .....	8
1.4.1.3. Hiperürikozüri .....	9
1.4.1.4. Hipositatüri .....	9
1.4.1.5. Hipomagnezüri .....	9

1.4.2. İnfeksiyon (Strüvit)Taşları .....	10
1.4.3. Ürik Asit Taşları.....	10
1.4.4. Sistin Taşları.....	11
1.5. Taş Hastalığına Neden Olan Gen Polimorfizmleri .....	11
1.5.1. Vitamin D Reseptör Geni .....	11
1.5.2. İnterlökin I Gen Kümesi .....	12
1.5.3. E-Kaderin Geni .....	12
1.5.4. CLDN14 Geni .....	12
1.5.5. TRPV5 ve TRPV6 Genleri .....	13
1.5.6. Ürokinaz Geni .....	14
1.5.7. Kalsitonin Reseptörü Geni .....	15
<b>2.AMAÇ .....</b>	<b>17</b>
<b>3.MATERYALLER .....</b>	<b>18</b>
3.1. Çalışmada Kullanılan Örnekler .....	18
3.2. Kimyasallar .....	18
3.3. Tamponlar, Solüsyonlar ve Enzimler .....	18
3.3.1. Kandan DNA İzolasyon Tamponları .....	18
3.3.2. Yanak İçi Epitelinden DNA İzolasyon Tamponları .....	19
3.3.3. PCR Tamponları ve DNA Polimeraz Enzimleri.....	19
3.3.4. Restriksiyon Enzimleri ve Reaksiyon Tamponları .....	20
3.3.5. Elektroforez Tamponları ve Jel Sistemleri .....	20
3.3.6. Oligonükleotid Primerler.....	20
3.3.7. DNA Büyüklük Markörleri .....	21
3.3.8. Cihazlar .....	21
<b>4.KULLANILAN YÖNTEMLER.....</b>	<b>23</b>
4.1. Kandan DNA İzolasyonu .....	23
4.2. Yanak İçi Epitelinden DNA İzolasyonu.....	23
4.3. İzole Edilen DNA'nın Analizi .....	24

4.4. Uygun Primer Seçimi .....	24
4.5. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) .....	25
4.6. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleaz ile Kesimi (RFLP) .....	25
4.7. Agaroz Jel Elektroforezi.....	26
4.8. Kalsitonin Reseptörü Geni Mutasyon Taraması.....	27
4.8.1. Gen Bölgesinin Çoğaltılması.....	27
4.8.2. Çoğaltılan Gen Bölgesinin Restriksiyonu .....	27
4.9. PCR Saflaştırma ve Dizi Analizi.....	28
<b>5.SONUÇLAR .....</b>	<b>29</b>
5.1. Örneklerin Tanımı .....	29
5.2. DNA İzolasyonu.....	29
5.3. Kalsitonin Reseptörü Geni Polimorfizm Taraması .....	30
5.3.1. İlgili Gen Bölgesinin Çoğaltılması .....	30
5.3.2. Çoğaltılan Gen Bölgesinin Restriksiyonu .....	30
5.3.3. Dizi Analizi .....	31
5.3.4. Genotip Dağılımının İncelenmesi.....	32
5.3.5. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	33
5.3.5.1. Hardy-Weinberg Analizi .....	33
5.3.5.2. Çapraz Tablolar ve Ki kare Bağımsızlık Testi .....	33
5.3.5.3. Alu I Polimorfizmi ve Hastalık İlişkisinin Araştırılması.....	34
5.3.5.4. Yaş ve Hastalık İlişkisinin Araştırılması .....	35
5.3.5.5. Cinsiyet ve Hastalık İlişkisinin Araştırılması .....	35
5.3.5.6. Aile Öyküsü ve Hastalık İlişkisinin Araştırılması .....	36
5.3.5.7. Sigara Kullanımı ve Hastalık İlişkisinin Araştırılması .....	37
<b>6.TARTIŞMA .....</b>	<b>38</b>
<b>7.KAYNAKLAR.....</b>	<b>43</b>
<b>8.ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>4</b>

## KISALTMALAR

<b>b.ç.</b>	: Baz çifti
<b>BPB</b>	: Bromofenol Mavisi
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>CaOX</b>	: Kalsiyum oksalat
<b>CDH-1</b>	: E-Kaderin Geni
<b>CTR</b>	: Kalsitonin Reseptörü Geni
<b>df</b>	: Serbestlik Derecesi
<b>dNTP</b>	: Deoksiribonükleotid trifosfat
<b>EDTA</b>	: Etilen diamin tetraasetik asit
<b>EtBr</b>	: Etidyum Bromür
<b>HW</b>	: Hardy- Weinberg Dengesi
<b>l</b>	: Litre
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>OR</b>	: Görelî Orantı
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RFLP</b>	: Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi
<b>pH</b>	: Asit ve Bazlık Derecesi
<b>SNP</b>	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
<b>SDS:</b>	: Sodyum dodesil sülfat
<b>TBE</b>	: Tris-Borik asit-EDTA
<b>TE</b>	: Tris-EDTA
<b>TRPV</b>	: Transient Receptor Potential Vanilloid Gene
<b>U</b>	: Ünite
<b>ÜSTH</b>	: Üriner Sistem Taş Hastalığı
<b>VDR</b>	: Vitamin D Reseptörü
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>χ<sup>2</sup></b>	: Ki - kare

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa No.

Tablo 1.1 : Böbrek Taşı Hastalığı ile İlgili Çalışılan Gen Polimorfizmleri.....	13
Tablo 3.1 : Alu I Polimorfik Bölgesini Çoğaltmak İçin Kullanılan Primer Dizileri .....	21
Tablo 5.1 : Alu I Polimorfizmi Genotip Frekansları .....	33
Tablo 5.2 : CTR geni Alu I polimorfizmi alel frekansları .....	34
Tablo 5.3 : Örneklerin PLINK ile Hardy-Weinberg Uygunluk Testi.....	34
Tablo 5.4 : Hasta ve Kontrol Grupları ile AluI genotipleri Çapraz Tablosu .....	35
Tablo 5.5 : Ki kare Bağımsızlık Testi .....	35
Tablo 5.6. : PLINK ile Asosiyasyon Testi .....	35
Tablo 5.7 : PLINK ile Model Asosiyasyon Testi.....	36
Tablo 5.8 : Cinsiyet ve Hastalık Çapraz Tablosu .....	37
Tablo 5.9 : Cinsiyet ve Hastalık Ki kare Bağımsızlık Testi .....	37
Tablo 5.10: Aile Öyküsü-Genotip Dağılımı .....	38
Tablo 5.11: Hastalık ve Aile Öyküsü Çapraz Tablosu .....	38
Tablo 5.12: Polimorfizm-Aile Öyküsü Ki-kare Testi.....	38
Tablo 5.13: Sigara Kullanımı ve Hastalık Oluşumu Çapraz Tablosu.....	39
Tablo 5.14: Sigara Kullanımı ve Hastalık Oluşumu Ki-kare Testi .....	39
Tablo 7.1 : CTR Geni ve Böbrek Taşı Hastalığı İle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	44
Tablo 7.2. : C/T Polimorfizminin Populasyon Dağılımı .....	45



## ŞEKİL LİSTESİ

**Sayfa No.**

Şekil 4.1 : PCR ile Çoğaltılacak Bölgenin Belirlenmesi .....	26
Şekil 4.2 : CTR Genindeki Alu I Polimorfizminin Şematik Gösterimi .....	27
Şekil 4.3 : Bir otomatik dizi analizi örneği.....	28
Şekil 5.1 : İzole Edilen DNA'ların %1'lik Agaroz Jeldeki Görüntüsü .....	30
Şekil 5.2 : 228 bç'lik PCR Ürününün %2'lik Agaroz Jeldeki Görüntüsü .....	30
Şekil 5.3 : %3'lük Agaroz Jelde Alu I Restriksiyon Analizi .....	30
Şekil 5.4 : KSP 48, 63 ve 66 numaralı örneklerin dizi analizi görüntüleri .....	31
Şekil 5.5 : Alu I Polimorfizmin İçin Hasta ve Kontrol Gruplarına Ait Genotip Dağılımı (n) .....	33
Şekil 5.6 : Hasta Grubunun Yaş Dağılımı .....	36

## GENEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı : Özlem ÜLİÇ ÇATAR  
Anabilim Dalı : Moleküler Biyoloji ve Genetik  
Programı : Moleküler Biyoloji ve Genetik  
Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr.Nagehan ERSOY TUNALI  
Tez Türü ve Tarihi : Yüksek Lisans – Haziran 2010

## BÖBREK TAŞI OLUŞUMUNU ETKİLEYEN GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

### ÖZET

Üriner sistemde taş oluşumu sık görülen, morbiditeye ve iş gücü kaybına neden olan, global bir sağlık sorunudur. Böbrek taşı hastalığı çevresel ve genetik faktörlerin rol oynadığı multifaktöriyel bir rahatsızlıktır. Beslenme şekli, iklim, sıvı alımı, meslek gibi etmenler taş oluşumundaki en önemli çevresel faktörler olarak sayılabilir. Son yıllarda yapılan genetik çalışmalar, bazı genlerdeki polimorfizmlerin taş oluşumu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu genler arasında Vitamin D reseptörü geni, ürokinaz geni, E-kaderin ve kalsitonin reseptörü genleri sayılabilir. Ancak yapılan çalışmalar çelişkili sonuçlar ortaya koyduğundan, polimorfik gen lokusları farklı etnik grup ve popülasyonlarda incelenmelidir. Genlerdeki polimorfik varyasyonların taş oluşumuna etkilerinin belirlenmesi ile bu varyasyonlar genetik belirteç olarak kullanılabilir ve tanı ve tedavi yöntemlerinin kesinleştirilmesine katkıda bulunabilir.

Bu çalışmada kalsitonin reseptörü geninin (CTR) 1377. nükleotid bölgesindeki C/T polimorfizmi 130 kalsiyum oksalat (CaOx) taş hastası ve 130 sağlıklı bireyde incelenmiş ve taş oluşumu ile polimorfizm ilişkisi araştırılmıştır. Bununla birlikte hastalık ile cinsiyet, yaş, aile öyküsü ve sigara kullanımı ilişkisi de sorgulanmıştır.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda CaOx böbrek taşı oluşumu ile C/T polimorfizmi ilişkili bulunmuştur ( $p<0.05$ ; OR=1,699; %95 CI= 1,316 –

2,194). Taş oluşumu ile hastaların cinsiyeti, aile öyküsü ve sigara kullanımı ilişkili bulunmamıştır. 55 yaş ve üzerinde taş oluşumu sıklığının arttığı gözlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Böbrek taşı, kalsitonin reseptörü geni, C/T polimorfizmi

## **GENERAL KNOWLEDGE**

Name and Surname : Özlem ÜLİÇ ÇATAR  
Field : Molecular Biology and Genetics  
Program : Molecular Biology and Genetics  
Supervisor : Asist.Prof.Dr. Nagehan ERSOY TUNALI  
Degree Awarded and Date : Master – June 2010

## **INVESTIGATION OF THE GENE POLYMORPHISMS AFFECTING KIDNEY STONE FORMATION**

### **ABSTRACT**

Stone formation in the urinary system is a common health problem which leads to morbidity and loss of work power. Kidney stone disease is multifactorial disorder for which both environmental and genetic factors play roles. The type of nutrition, climate, fluid consumption, business could be ranked as the most important environmental factors. Genetic studies in the recent years demonstrated that polymorphisms in some genes are associated with stone formation. Vitamin D receptor gene, urokinase gene, E-cadherin gene and calcitonin receptor gene are among these genes. However, since the studies display contradictory results, polymorphic gene loci should be analyzed in different ethnic groups and populations. Given that the effects of the polymorphic variations in the genes are determined, these variations can be used as genetic markers and can contribute to the establishment of diagnostic and treatment methods.

In this study the C/T polymorphism at nucleotide position 1377 in the calcitonin receptor gene (CTR) gene has been examined in 130 CaOx kidney stone patients and 130 healthy individuals; and the association between stone formation and the polymorphism has been investigated. In addition to that, the association between the disorder and sex, age, family history and cigarette smoking were questioned.

Statistical analyses revealed an association between CaOx kidney stone formation and C/T polymorphism ( $p < 0.05$ ; OR=1,699; %95 CI= 1,316 – 2,194). Sex, family history and smoking status of the patients were not found to be associated with stone formation. It was observed that the frequency of stone formation increases after the age of 55.

**Key words:** Kidney stone disease, calcitonin receptor gene, C/T polymorphism.

# 1. GİRİŞ

## 1.1.Böbrek Taşı Hastalığı'na Genel Bakış

Üriner sistem taş hastalığı, idrar yollarında taşın mevcut olması ile tanımlanır ve dünyanın birçok bölgesinde geniş hasta popülasyonlarını etkileyebilen, endüstrileşmiş toplumlarda giderek artmakta olan ciddi bir sağlık sorunudur (Kıraç ve diğ., 2008). Yaklaşık 7000 yıldır insanoğlunu etkileyen bu hastalığa milattan önce 4800 yıllarına ait Mısır mumyalarında böbrek ve mesane taşı olarak rastlanmıştır (Adayener ve diğ., 2002; López ve Hoppe, 2008). Örneğin 1901 yılında İngiliz arkeolog E. Smith, Mısır El Amrah'ta 5000 yıllık bir mesane taşı bulmuştur. Milattan sonra 1500 yılında eski Mısır'a ait tıp bilgileri içeren en eski ve en önemli yazmadan biri olan Eber Tıp Papirüsü'nde de üriner sistem taşlarının tedavisi ile ilgili bilgiler bulunmaktadır (López ve Hoppe, 2008). Üriner sistem taşları çok eski zamanlardan beri bilinmesine rağmen, Avrupa'da bu hastalık ile ilgili ilk epidemiyolojik verilerin toplanmasına 19. yüzyılda başlanmıştır. Bu dönemde incelenen taşların çoğunluğu amonyum ürat taşları olup geri kalanları ise kalsiyum oksalat taşları şeklindedir. Zaman içinde hızla değişen sosyo-ekonomik şartlar, değişen diyet alışkanlıkları gibi etmenlerle son 100 yılda mesane taşlarının, kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfat taşlarından oluştuğu belirlenmiştir (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 10). Son 20 yıllık süreçte üriner sistem taş hastalığı Merkez ve Güney Avrupa, Ortadoğu ülkeleri, Türkiye, Tayvan, Japonya ve Brezilya gibi ülkelerde anlamlı bir artış göstermiştir (Heilberg ve Schor, 2006). Üriner sistem taş hastalığının dünyadaki prevalansı yaklaşık %5-12 arasında olup Türkiye'deki prevalansı %14,8'dir (Adayener ve diğ., 2002; Mutlu ve diğ., 2002; Tefekli ve diğ., 2005) ve ülkemizin Güney ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde daha sık rastlandığı bildirilmiştir (Adayener ve diğ., 2002).

Üriner sistemde taş oluşumu çevresel, anatomik ve genetik faktörlerin karşılıklı etkileşmesine dayanan multifaktöriyel bir olaydır. Günümüzde genel olarak kabul edilen risk etkenleri hiperkalsiüri, hiperoksalüri, hiperürükozüri ve hipositratüri olup, azalmış idrar miktarı da bu duruma neden olabilen çok önemli bir faktördür. Beslenme, yaş ve cinsiyet, sıvı alımı, genetik, coğrafya, iklim ve mevsimsel etkenler, meslek gibi diğer birçok faktör de taş hastalığında önem arz etmektedir (Demirel ve Adanur, 2009, Trinchieri A., 1996). Genetik bozukluklar üriner sistem taş hastalığının hemen her evresinde etkili olabilmekte, her tip taş (kalsiyum oksalat, kalsiyum fosfat, ksantin, sistin, ürik asit gibi) oluşumuna neden olabilmektedir. Özellikle kalsiyum emilimi, oksalat üretimi ve transportu, idrarda inhibitör maddelerin (osteopontin, üromodülin, sitrat) sentezi aşamalarında genetik bozukluklar göze çarpmaktadır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 78).

## **1.2. Taş Oluşumunu Etkileyen Faktörler**

### **1.2.1.Coğrafi Konum**

Farklı coğrafi konumlarda yaşayan bireylerde taş oluşumu sıklığı farklılıklar gösterir. Yetişkinlerde üriner sistemde taş oluşması riski batı yarıkürede (Avrupa'da %5-9, Kanada'da %12, Amerika'da %13-15) doğu yarıküreden (%1-5) daha yüksektir. Ayrıca dağlık, çöl ve tropikal bölgelerde taş hastalığı prevalansının yüksek olduğu bildirilmektedir (López ve Hoppe, 2008). İskandinavya, Akdeniz Ülkeleri, Kuzey Hindistan, Pakistan, Kuzey Avustralya, Orta Avrupa ve Orta Amerika böbrek taşı hastalığı açısından yüksek insidanslı ülkeler olarak sınıflandırılmaktadır (Tefekli ve diğ., 2005). Suudi Arabistan gibi bazı Asya ülkelerindeki risk en yüksek (%20,1) olarak rapor edilmiştir. Hastalığın insidansı coğrafi bölgeye, ırksal özelliklere ve sosyo-ekonomik statüye göre değişmektedir (Soucle M. ve diğ., 2008). Zaman içinde sosyo-ekonomik koşulların değişimi ve diyet alışkanlıklarının farklılaşması sadece insidansı değil böbrek taşının kimyasal yapısını ve yerleşim yerini de etkilemiştir. Ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfat taşı daha sık görülürken, Asya'da amonyum urat ve kalsiyum oksalat taşlarından oluşan mesane taşı oluşumu epeyce yaygındır (López ve Hoppe, 2008). Son 20 yıllık süreçte üst üriner sistem taş hastalığı Merkez ve Güney Avrupa, Ortadoğu Ülkeleri, Tayvan, Japonya ve Güney Amerika (Brezilya) gibi ülkelerde de anlamlı artış göstermiştir (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 11)

### **1.2.2.Yaş, Irk ve Cinsiyet**

Ülkemizde, üriner sistem taş hastalığının epidemiyolojisi ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada erkek: kadın oranı 1,5:1 ve en sık görüldüğü yaş grubu 55 yaş üstü olarak rapor edilmiştir (Adayener ve diğ., 2002). Diğer yandan, taş hastalığının erkek: kadın oranı literatürde 2:1 veya 3:1 olarak bildirilmiştir (Tefekli ve diğ., 2005; Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 12). Yapılan bir çalışmada göreceli olarak taş hastalığı oluşumuna neden olan kronik üriner sistem enfeksiyonları, sistinüri, hiperparatiroidizmin bayanlarda daha sık görülmesinin taş hastalığı sıklığını artırabileceğini öne sürülse de, bayanlardaki düşük serum testosteron düzeyleri ve idrarlarındaki sitrat miktarının yüksekliği taş hastalığının erkeklerde daha fazla görülmesini açıkça ortaya koymaktadır (Tefekli ve diğ., 2005).

Böbrek taşı hastalığı beyaz Kafkaslarda, siyahilerden coğrafi alana bağlı olmaksızın daha sıklıkla görülür (López ve Hoppe, 2008; Elaine ve diğ., 2008). Eskimolarda ise hiç görülmemektedir (Demirel ve Adanur, 2009).

Üriner sistem taş hastalığının insidansı erkekler için 20'li yaşlarda yükselmeye başlar, 40-60 yaşlar arasında en yüksek noktaya ulaşır ve sonra azalır. Kadınlarda ise 20'lerin sonunda yükselen insidans, 50'li yaşlarda azalır. Almanya'da yapılan bir çalışmada 50 yaş üstündeki erkeklerde prevalansın %9,7 kadınlarda ise %5,9 olduğu vurgulanmıştır (Demirel ve Adanur, 2009).

### **1.2.3.Genetik Faktörler**

Ailesinde taş hastalığı olan bireylerin hastalığa yakalanma ihtimali, aile öyküsü olmayanlardan 2,5 kat daha fazladır. Bu yüksek risk, çevresel ve kalıtsal etmenlerin kombinasyonudur (Curhan, 2007). Böbrek taşı tespit edilen hastaların böbrek taşı hastalığı olmayan grupla karşılaştırıldığı bir çalışmada ailede taş hastalığı hikayesinin, taş hastalığı olmayanlardan üç kat fazla olduğu gözlenmiştir (Curhan ve diğ., 1997; Demirel ve Adanur, 2009). İtalya'da yapılan bir çalışmada, son on yılda prevalansın %11,7'den, %17,2'ye yükseldiği ve hastaların anne-babalarında %22,5 ve kardeşlerinde %14,1 oranlarında taş oluşumun görülmesiyle hastalığın kalıtsal yatkınlığı olduğu saptanmıştır (Serio ve Fraioli, 1999). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, hastaların %40'ının birinci derece akrabalarında taş hastalığı görüldüğü bildirilmiştir (Tefekli ve diğ., 2005).

Taş hastalığının multifaktöriyel doğası nedeniyle genetiğin katkısını tespit etmek zorluk arz etmektedir. Ancak böbrek taşı olan hastaların %25'inde aile



öyküsünün pozitif olması ve taş oluşumuna yol açan ailesel renal tubüler asidöz, sistinüri, primer hiperoksalüri, Lesch–Nyhan sendromu, ksantinüri ve Dent hastalığı gibi birçok hastalığın herediter<sup>1</sup> olması taş hastalığında genetik bozuklukların rolünü ve önemini göstermektedir (Demirel ve Adanur, 2009).

#### **1.2.4. İklim ve Mevsimsel Etmenler**

Sıcak iklim kuşağında yaşayan bireylerde artan sıvı kaybı, daha satüre olmuş idrar atılımı gibi nedenler ile daha yüksek oranda taş hastalığına rastlanır (López ve Hoppe, 2008; Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 11). Sıcak iklim bölgelerinde ortaya çıkan artmış taş hastalığının en önemli sebebi, cilt yoluyla kaybedilen sıvı miktarının artışına bağlı olarak idrar miktarının azalmasıdır (Tefekli ve diğ., 2005). Buna ek olarak, daha uzun süre güneş ışığına maruz kalma ile 1,25 dihidroksivitamin D<sub>3</sub> üretiminin arttığı ve bundan dolayı artan idrar kalsiyum miktarının taş oluşumunu yaz aylarında hızlandırdığı ileri sürülmüştür (Parry ve Lister, 1975). Yıl boyunca sıcaklık farklılıklarının gözlemlendiği ülkelerde ise taş hastalığının sıklığı yıl içinde farklılıklar göstermekte olup, en yoğun dönem yaz ayları (Haziran – Eylül) olarak saptanmıştır (Tefekli ve diğ., 2005).

#### **1.2.5. Mesleki Faktörler**

Üriner sistem taş hastalığı için çeşitli meslek gruplarında farklı görülme sıklıkları rapor edilmiş ve sedanter<sup>2</sup> meslek gruplarında taş hastalığına daha sık rastlandığı bildirilmiştir (Adayener ve diğ., 2002; Tefekli ve diğ., 2005). Yapılan bir çalışmada, yönetim ve büro işinde çalışanlarda, beden işi yapanlara göre taş hastalığına daha sık rastlandığını belirtilmiştir (Adayener ve diğ., 2002). İşlerinin içeriği ve buldukları ortam gereği yüksek ısıya maruz kalan bireylerde de (gemi çalışanları, fırın ve döküm işçileri vs.) taş hastalığına daha sık oranda rastlanılmaktadır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 13; Curhan, 2007). Ülkemizde bu konuda yapılan bir çalışmada kliniğe başvuranların %57,1'inin sedanter yaşam süren mesleklerde çalıştıkları tespit edilmiştir (Tefekli ve diğ., 2005).

#### **1.2.6. Sıvı Alımı**

Aşırı su alımının idrar hacmini artırarak seyreltik idrar oluşumunu ve diüreziyi artırması nedeniyle kristallerin üriner sistemi daha hızlı terk etmesinin taş oluşumunu engellediği bilinmektedir. Literatürde idrar hacminin azalması sonucu

---

<sup>1</sup> Kalıtsal

<sup>2</sup> Hareketsiz, durağan.

idyopatik kalsiyum taşı sıklığının arttığı belirtilmektedir (Tefekli ve diğ., 2005; Taylor, Stampfer ve Curhan, 2004). Günde 2 litre ve üzerindeki miktarlarda sıvı alımının üriner sistem taş hastalığı (ÜSTH) oluşumunu önlediği, idrar miktarı ve idrar akım hızını arttırarak idrarda düşük solid konsantrasyonu sağladığı gösterilmiştir (Bellizzi ve diğ., 1999). Üriner sistem taş hastalarının %19'unda yetersiz sıvı alımı tespit edilmiştir (Embon, Rose ve Rosenbaum, 1990). Alınan sıvının türü de üriner sistem taş hastalığının oluşumunu etkileyebilir (Demirel ve Adanur, 2009). Portakal suyu ve limonatanın idrar sitrat miktarını arttırarak taş oluşumunu azalttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Wabner ve Pak, 1993). Portakal suyu kalsiyum fosfat taşı için oluşum çarpımını arttırır, idrarda çözünmemiş ürik asiti azaltır (Curhan, 2007). Elma ve greyfurt suyunun taş oluşum riskini arttırdığı belirtilmiştir (Curhan, 2009; Demirel ve Adanur, 2009). Çay, kahve gibi içeceklerin ve alkol alışkanlığının da kalsiyum oksalat taşı için risk faktörü olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (Curhan, 2007).

### **1.2.7.Beslenme**

Üriner sistem taş hastalığı ve diyet ilişkisi literatürde sık işlenen bir konudur (Adayener ve diğ., 2002; Curhan ve diğ., 1998). Burada en önemli iki faktör ise idrarın bileşimi ve böbreğin anatomik yapısıdır. Etiyolojik faktörlerin önemli bir kısmı diyet yoluyla değiştirilebilir, çünkü idrar bileşimi doğrudan diyetle ilişkilidir. Diyetteki hayvansal protein miktarındaki artışın oksalat absorpsiyonunu ve üriner sistem taş hastalığı riskini arttırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir (López ve Hoppe, 2008; Taylor, Stampfer ve Curhan, 2004; Fromberg, 1992; Demirel ve Adanur, 2009). Örneğin İngiltere'de yapılan bir çalışmada hayvansal proteinden fakir bir diyet ile taş oluşma riskinin azaldığı ve taş hastalığına vejetaryenlerde normal popülasyondan %40-60 daha az rastlandığını rapor etmiştir. Yapılan bir başka çalışmada günlük içilen su miktarı arttırılmış, hayvansal kaynaklı protein, sofr tuzu ve kalsiyum miktarı azaltılmış bir diyetle idrardaki kalsiyum oksalat saturasyonunun azaldığı rapor edilmiştir (Adayener ve diğ., 2002). Taş hastalığı prevalansının Amerika ve Avrupa'dan yüksek olduğu Suudi Arabistan'da hayvansal protein tüketimi Amerika'dan %10 ve Avrupa'dan %50 daha yüksektir. Japonya'da mesane ve üst üriner sistem taşlarının prevalansı 1950 yılında aynı iken 1980'de %95'e yükselmiştir. Bu aralıkta Japonların günlük protein tüketimi 20g'dan 40g'a

yükselmiştir (López ve Hoppe, 2008). Dolayısıyla ürik asit ve kalsiyum oksalat taşlarının olumunun diyetle hayvansal gıda alımından etkilendiği görülmektedir.

Diyetle aşırı pürin, kalsiyum, oksalat ve fosfat alınması, idrarda bu maddelerin aşırı atılımına neden olarak taş hastalığını kolaylaştırmaktadır (Tefekli ve diğ., 2005). Süt ürünleri hayvansal protein ve kalsiyum içererek esas rolü oynarlar. Amerika'da 40.000 sağlıklı birey üzerinde, diyetle kalsiyum alımının taş hastalığı riskine etkilerini araştıran bir çalışmada günlük kalsiyum tüketiminin 1,050g'dan 600g'a düşürülmesinin taş hastalığının gelişim riskini arttırdığı ispatlanmıştır (Tefekli ve diğ., 2005; Demirel ve Adanur, 2009). 45.000 erkek üzerinde yapılan bir diğer çalışmada taşlı olguların, diğerlerinden daha az oranda kalsiyum içeren besinler tükettiklerini belirtmişlerdir (Adayener ve diğ., 2002; Hiatt ve diğ., 1996). Yetişkin ve çocuk popülasyonunda sodyum alımı hiperkalsiüri ile ilişkili olarak taş oluşumunda majör rol oynar (López ve Hoppe, 2008). Aşırı tuz alımı nedeniyle böbrek tubuluslarından sodyumun geri absorpsiyonu sonucu kalsiyumun tübüler sekresyonu, hiperkalsiüriye neden olarak taş oluşum riskini artırır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada hastaların %77,6'sının aşırı tuzlu beslenmesi diyetin önemini ortaya koymaktadır (Tefekli ve diğ., 2005; Demirel ve Adanur, 2009).

Böbrek taşı hastalarının beslenmelerinde lifli besin tüketiminin düşük olduğu gözlenmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, diyetle lifli besin tüketiminin taş hastalığının tekrarını önlemedeki rolü üzerine odaklanmıştır. Beslenmelerinde günlük 30 g. soya ve buğday tüketen kişilerde böbrek taşı hastalığının tekrarında belirgin bir azalma olduğu gözlenmiştir (Hughes, Richard ve Norman, 1992).

### **1.2.8.Eşlik Eden Hastalıklar**

Taş hastalığının oluşum riski vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksi artışına bağlı olarak artmaktadır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 13; Curhan, 2007; Curhan ve diğ., 1998; Demirel ve Adanur, 2009; Erden ve diğ., 2004). Vücut kitle indeksinin 25'in üzerinde olması durumu taş hastalığı için risk faktörü olarak belirlenmiştir (Adayener ve diğ., 2002). Vücut kitle indeksinin artışı ile idrardaki ürik asit, sodyum, amonyum fosfat artmakta, idrar pH'sı düşmektedir. İdrarda ürik asitin artması kalsiyum oksalat çözünürlüğünü ve glikozaminoglikanların taş oluşumu üzerindeki inhibitör etkisini azaltmaktadır. Bu iki mekanizma kalsiyum oksalat taşı oluşumu riskini artırır (Demirel ve Adanur, 2009). Taş hastalığının mekanizması çok iyi bilinmemesine rağmen özellikle kadınlarda hipertansiyon ile de

ilişkili olduğu bildirilmiştir (Elaine ve diğ., 2008; Strazzullo ve Cappuccio, 1995; Cappuccio, Strazzullo ve Mancini, 1990) Taş hastalığının diğer bir takım kronik hastalıklarla birliktelik gösterebileceğine dair çalışmalar mevcuttur (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 13).

### **1.3.Taş Oluşum Teorileri**

Normalde idrarda belirli bir pH ve sıcaklıkta belirli bir maddenin çözünürlüğü sabittir. Eğer idrardaki bu maddelerin miktarlarında artış devam ederse, madde idrarda kristalize olmaya başlar. Bu oluşum süpersatürasyon teorisiyle açıklanır. Kristalizasyondan sonraki aşama nükleizasyon dönemidir. Nükleizasyon eğer primer olarak benzer kristaller üzerinde olursa homojen nükleizasyon adını alır. Kristalizasyon, ortamda var olan hücrenin debris, epitelyum hücreleri veya ürik asit kristalleri gibi başka bir yüzey üzerinde devam ederse heterojen nükleizasyon adını alır. Heterojen nükleizasyon homojen nükleizasyondan daha düşük yoğunlukta gelişir. İdrarda bulunan epitel hücreler, eritrosit hücreleri ve diğer kristaller heterojen nükleizasyon için yüzey görevi görürler. İdrarda kristallerin bulunması taş oluşumu için yeterli değildir. Kalsiyum oksalat kristalleri idrarla birlikte hareket edip böbrekten atıldığı sürece bir sorun oluşturmaz. Ancak kristaller idrarla atılamadıklarında taş oluşumu için çekirdek görevi göreceklerdir. Bu ise kristallerin hareketlerinin idrar hareketlerinden yavaş olması demektir. Bu durumda nükleizasyon ile oluşan kristaller idrarda büyüyerek bir araya toplanmaya (agregasyon) başlar (Macfarlane, 2006).

Bu süreçte büyüyen kristallerin taş oluşumuna nasıl yol açtığı konusunda iki temel görüş vardır. Bunlardan birisi serbest parçacık teorisidir. Bu görüşe göre; kristallerin ileri derecede süpersatüre olan idrarda hızla büyüdüğü ve bir araya geldiği, böylece idrarın tübüllerden geçiş zamanından daha kısa bir sürede tübül lümenini tıkayacak büyüklüğe ulaştığı kabul edilir. Bu büyüklüğe ulaşan parçacık, tübül lümeni içinde takılarak taş oluşumu için bir çekirdek oluşturur. İkinci teoriye göre ise; idrarın tübüllerden geçiş süresi içinde kristallerin lümen içine takılacak boyuta ulaşmasının mümkün olmadığına inanılır. Bu nedenle kristallerin büyürken tübül epiteline yapışarak taş oluşumu için çekirdek oluşturduğu düşünülür. Bu konuda her iki teori için yapılmış çalışmalar vardır. Finlayson ve Reid, böbrek içinde idrarın akım hızı ile kalsiyum oksalat kristallerinin büyüme hızını karşılaştırmış,

idrarn nefrondan geçiş süresi içinde kristallerin tıkanıklığa yol açacak kadar büyümelerinin mümkün olmadığını göstermiştir. Kok ve Khan ise tübüller içinde kristallerin idrara göre daha yavaş hareket edeceğini ve özellikle yemeklerden sonra oluşabilecek akut hiperoksalüri durumunu da göz önüne alarak hesaplamalar yapmışlardır. Bu hesaplamalarda, tübüllerden geçiş süresi içinde kalsiyum oksalat kristallerinin lümen içinde takılmalarına yetecek büyüklüğe ulaşmalarının mümkün olduğunu göstermişlerdir (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 22; Yapanoğlu ve Okyar, 2009).

#### **1.4.Yapılarına Göre Taşlar**

##### **1.4.1.Kalsiyum Oksalat Taşları**

Kalsiyum oksalat taşları, üriner sistem taşlarının %60-%75'ini oluşturan, en sık görülen taş tipidir (Elaine, Worcester ve Fredric, 2008; Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 141; Yapanoğlu ve Okyar, 2009). Kalsiyum oksalat taşları monohidrat ya da dihidrat (daha az yoğunlukta) olmak üzere iki değişik yapıda olabilir (Yapanoğlu ve Okyar, 2009; Macfarlane, 2006). CaOx taş hastalığında, hastaların idrarlarında hiperkalsiüri, hipositratüri, hiperoksalatri ve hipomagneziri gibi metabolik anomalilerin biri ya da birkaçı saptanabilir. Ülkemizde bu durumlardan en ne çıkan metabolik anomali, hipositratridir (Yapanoğlu ve Okyar, 2009).

##### **1.4.1.1.Hiperkalsiüri**

Hiperkalsiüri, 24 saatlik idrardaki kalsiyum miktarının 250 mg'dan fazla olması şeklinde tanımlanır (Yapanoğlu ve Okyar, 2009; Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 124). İyonik kalsiyum (Ca) artmasına bağlı olarak idrardaki kalsiyum miktarı artar. Artmış Ca miktarına bağlı olarak Ca tuzları taş haline dönüşür. Bu dönüşümde idrardaki sitrat ve glikozaminoglikan gibi inhibitör madde miktarlarının az olması da katkıda bulunur (Yapanoğlu ve Okyar, 2009). Tefekli ve arkadaşları, kalsiyum oksalat taşı olan erkeklerde %44,1 oranında hiperkalsiüri saptamışlardır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 125). Hiperkalsirinin sebepleri arasında barsaktan fazla kalsiyum emilmesi, böbrekten kalsiyum kaçağı ve aşırı D vitamini alımı gösterilmektedir (Coe, Evan ve Worcester, 2005; Elaine ve Fredric, 2008; Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 126; Yapanoğlu ve Okyar, 2009; Macfarlane, 2006).

#### **1.4.1.2.Hiperoksalatüri**

Hiperoksalatüri idrarda oksalat miktarının 24 saatte 45 mg üzerinde olması şeklinde tanımlanır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 140; Curhan, 2007; Yapanoğlu ve Okyar, 2009). İdrardaki oksalat konsantrasyonu artışıyla ve kalsiyum ile süpersatürasyonunu etkileyerek kristal oluşumunu tetikler, taş oluşumunda anahtar rol oynar. Kristalizasyon üzerinde kalsiyuma göre on kat daha güçlü etkisi vardır. Üriner oksalatın %80'i karaciğerde endojen üretimden ve %20'si diyetlerden gelir. Oksalattan zengin gıdalar çay, kahve, bira, ravent, kakao, ıspanak ve diğer yeşil sebzelerdir (Macfarlane, 2006). Diyetteki Ca miktarının kısıtlanması barsaklarda oksalatın Ca'a bağlanmasını azaltır ve barsaklarda oksalat emiliminin artmasına neden olur. Ayrıca aşırı C vitamini alımında, hücre içinde askorbat oksalata çevrildiği için oksalat miktarı artabilir (Yapanoğlu ve Okyar, 2009).

#### **1.4.1.3.Hiperürikozüri**

Hiperürikozüri idrarda ürik asit miktarının 24 saatte 600-700 mg'dan fazla olmasıdır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 127; Yapanoğlu ve Okyar, 2009; Macfarlane, 2006). Ürik asit kalsiyum oksalat kristal formasyonunu artırır (Macfarlane, 2006). İdrarda ürik asit kristallerinin bulunması kalsiyum oksalat kristallerinin oluşumu için çekirdek görevi görür ve heterojen nükleizasyona yol açar (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 127). Hiperürikozürinin en sık nedeni diyet ile aşırı miktarda pürin alınmasıdır.

#### **1.4.1.4.Hipositratüri**

İdrardaki sitrat, hem idrardaki kalsiyumu bağlayarak hem de kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfat kristal formasyonunu azaltarak taş formasyonu üzerinde inhibitör etkiye sahiptir (Macfarlane, 2006). İdrardaki sitrat kalsiyumla birleşerek çözünürlüğü daha yüksek olan bir kompleks oluşturur. Bu durum Ca miktarı azalmasına neden olduğu için CaOx taşı oluşumu azalır. İdrarda sitrat, kadınlarda erkeklerden daha yüksek miktarda bulunur. Bu durumun kadınlarda taş hastalığını erkeklere göre daha az görülmesinin önemli sebeplerinden biri olduğu düşünülmektedir (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 126). Günlük idrardaki sitrat miktarının 300 mg altında olması hipositratüri olarak adlandırılır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 126; Yapanoğlu ve Okyar, 2009). Hipositratüri kalsiyum taşlı hastaların %15-%63'ünde görülmektedir.

#### **1.4.1.5.Hipomagnezürü**

Magnezyum, oksalatla birleşerek idrarda çözünürlüğü CaOx'den daha düşük olan bir madde oluşturmaktadır. Böylece idrarda CaOx saturasyonu düşmektedir. Magnezyum, in vitro kalsiyum oksalat kristal oluşumu ve büyümesini inhibe eder. Ayrıca magnezyum oral yolla alındığında oksalatın barsaktan emilimini azaltır. Preminger ve ark. nın yaptığı çalışmada CaOx taş hastalığında hipomagnezemi oranı %4,4 bulunurken Türkiye'de Akıncı ve ark. nın yaptığı çalışmada ise taş hastalarında %24,4 oranında hipomagnezemi saptanmıştır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 126; Yapanoğlu ve Okyar, 2009).

#### **1.4.2.İnfeksiyon (Strüvit) Taşları**

İnfeksiyon taşları magnezyum, amonyum, fosfat ve karbonat apatit içermektedir. Üriner sistem taşlarının %10-15'ini oluşturan infeksiyon taşları en sık kadınlarda görülmektedir. İnfeksiyon taşlarının oluşumu için birkaç faktör bir arada olmalıdır. Özellikle üriner infeksiyon varlığı, magnezyum amonyum fosfat kristallerinin doymuş olarak idrarda bulunması ve idrar pH'sının 7,2'nin üzerinde olması mekanizmayı tetiklemektedir (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 128; Yapanoğlu ve Okyar, 2009; Macfarlane, 2006).

#### **1.4.3.Ürik Asit Taşları**

Ürik asit pürin metabolizmasının ürünü olup idrarla atılır. Düşük idrar hacmi, düşük pH ve idrar ürik asit düzeylerinin yüksek olduğu durumlarda oluşur (Macfarlane, 2006).

Ürik asit taşları, kalsiyum içeriği ile birlikte veya saf olarak üriner sistem taşlarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Ülkelere göre değişmekle birlikte genellikle tüm taş hastalarının %5-8'ini ürik asit taşı teşkil eder. Görülme sıklığı coğrafi yerleşim yerlerine göre önemli farklılıklar gösterir. Genel olarak fazla proteinli gıda alan ve alkol tüketiminin yoğun olduğu zengin, endüstriyel ülkelerde daha sıktır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 128).

Normalde idrarın 1 litresinde 500-600 mg, günlük olarak 600-800 mg ürik asit atılır. Günde 750 mg'dan fazla atıldığında taş oluşum riski artar. İdrar miktarı azaldıkça günlük toplam çıkan ürik asit miktarı azalmakla beraber, litredeki konsantrasyonu daha yüksek hale gelir. Bu nedenle sıcak iklimlerde yaşayan ya da

kronik dehidratasyonu olan insanlarda daha kolay ürik asit taşı oluşur(Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 129).

Serum ürik asit miktarı %7'nin üzerine çıktığında süpersatürasyon meydana gelir ve kristal formasyonu artar. Kandaki ürik asit %7-8 mg'ın üzerine çıkınca taş oluşmaya başlar (Yapanoğlu ve Okyar, 2009). Ürik asit taşları genellikle gut hastalarında, metabolik sendromu olan hastalarda ve diyabet hastalarında görülür (Coe, Evan ve Worcester, 2005; Elaine ve Fredric, 2008).

#### **1.4.4.Sistin Taşları**

Sistinüri dört aminoasidin (sistin, ornitin, lizin, arjinin) renal tübüllerden geri emiliminde bozukluk olan kalıtsal otozomal, resesif bir durumda görülür. Sistin diyetle alınabildiği gibi, metiyoninden dönüşümle de oluşabilir. Normal idrar sistin seviyesi 24 saatte 100 mg'dan düşük olmakla birlikte homozigot sistinüride vücuttan günde 600 mg'lık aşırı salınım vardır (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 132; Macfarlane, 2006).

Sistin taşları sadece sistinürisi olan hastalarda görülür ve üriner sistemde taş oluşumu ile karakterize kalıtsal hastalıklar arasında en sık görülenidir (Müslümanoğlu, Esen ve Tefekli, 2007: 132). Üriner sistem taşlarının ABD'de %1-2'sini, İsveç'te ise %4,3'ünü oluşturmaktadır. Türkiye'de yüksek riskli 6050 bebeğin metabolik hastalık olarak tarandığı bir çalışmada sistinüri prevalansı 1:1000 olarak belirlenmiştir. Sistinüride taş oluşumu ve buna bağlı komplikasyonlara daha çok 20-30'lu yaşlarda rastlanır (Macfarlane, 2006).

#### **1.5.Taş Hastalığına Neden Olan Gen Polimorfizmleri**

Üriner sistem taş hastalığı çevresel ve genetik etkenlerin birlikte rol oynadığı bir hastalıktır. Genetik bozukluklar üriner sistem taş hastalığının hemen her evresinde etkili olabilmekte ve her tip taş oluşumuna neden olabilmektedir (Mittal ve diğ., 2008; Tefekli ve Müslümanoğlu, 2009).

İnsan genomunda pek çok genin polimorfik olduğu bilinmektedir. Bir genin kodlanan veya kodlanmayan kısımlarında tek baz çiftini kapsayan değişimler (SNP-“single nucleotide polymorphism”), ya da tekrar eden bazların sayılarında değişimler söz konusu olabilir. Bu genetik değişimler gen transkripsiyonunu, mRNA'nın kararlılığını, oluşan proteinin kalitesini ve işlevini değiştirebilir. Dolayısıyla genlerdeki polimorfizmler pek çok hastalığa yatkınlığı veya hastalığın ciddiyetini belirleyebilir. Son yıllarda çok sayıda gen polimorfizmi ile taş hastalığı, özellikle



idiyopatik kalsiyum oksalat taş hastalığı, arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar yapılmış, ancak bu araştırmalar çelişkili bulgularla sonuçlanmıştır. Böbrek taşı hastalığı ile ilgili olarak çalışılan gen polimorfizmleri Tablo 1.1’de özetlenmiştir (Mittal ve diğ., 2008).

### **1.5.1. Vitamin D Reseptör Geni**

Vitamin-D, steroid reseptör ailesinin bir üyesi olup, farklı hücre genlerinin miktarlarını sentezleyip düzenleyerek, aktif ara madde  $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}_3$ ’ü biçimlendirir. Vitamin D’nin hedef hücrelerdeki etkisi, aktif ara maddesi kalsitriol ve hücre reseptörü VDR arasındaki etkileşim ile oluşur. 12. kromozom üzerinde bulunan VDR geni, hacimsel olarak 5,6 kb’dır. Hormon bağlanmasına karşılık olarak VDR geni, hedef genlerin düzenleyici bölgelerinde bulunan Vitamin D yanıt genleri ile birleşmiş  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  yanıt genlerinin transkripsiyonal hareketini düzenler. VDR geninde çeşitli polimorfizmler belirlenmiş, işlevsel önemi ile hastalığa karşı duyarlılığı araştırılmıştır (Mittal ve diğ., 2008; Uitterlinden ve diğ., 2004).

VDR genindeki bu polimorfizmlerin başta kemik mineral yoğunluğu ve osteoporoz (Mittal ve diğ., 2008; Uitterlinden ve diğ., 2004; Uitterlinden ve diğ., 2006) olmak üzere, prostat kanseri (Çiçek ve diğ., 2006), psöriyazis (Erden, Karaduman ve Yurter, 2007) ve böbrek taşı hastalığı (Mittal ve diğ., 2008; Uitterlinden ve diğ., 2004) ile ilişkileri araştırılmıştır.

### **1.5.2. İnterlökin – I gen Kümesi**

Kromozom 2q14-21 bölgesinde yer alan interlökin-I geninin enflamasyon ve doku yıkımında merkezi bir rolü vardır. Üstelik kemik rezorpsiyonu ve osteoklast oluşumunu teşvik eder. Yapılan çalışmalarda postmenapozal osteoporoz ve hiperkalsüri ile interlökin I geni ilişkisi gösterilmiştir (Mittal ve diğ., 2008).

### **1.5.3. E-kaderin Geni**

E-kaderin, hücre epiteli bağlanma proteinlerinden biridir ve epitelyal gelişimde, hücre bütünlüğün sağlanmasında önemli bir rol oynar. E-kaderin geni (CDH-1) kromozom 16q22.1 bölgesinde yer alır. Tsai ve ark. e-kaderin geni 3’UTR bölgesindeki C/T polimorfizmi ile kalsiyum oksalat taş hastalığı arasında anlamlı bir bağlantı olduğunu bildirmişlerdir (Mittal ve diğ., 2008).

### **1.5.4. CLDN14 Geni**

Claudin 14 (CLDN 14) geni, membran proteinlerinden claudin ailesinin bir üyesidir. CLDN 16 ve CLDN 19 genlerindeki bazı mutasyonlar böbrek taşı

oluşumuna neden olan mekanizmaların tetiklenmesine yol açabilirler. CLDN 14 geni böbrekte ifade edilir. (Thorleifsson ve diğ., 2009). Kuzey Avrupa'da İzlanda ve Hollanda popülasyonlarıyla yapılan çalışmalarda CLDN14 genindeki iki farklı SNP'nin böbrek taşı hastalığıyla belirgin bir şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir (Wu ve diğ., 2009; Thorleifsson ve diğ., 2009).

Tablo 1.1. Böbrek Taşı Hastalığı İle İlgili Çalışılan Gen Polimorfizmleri

Gen	Yaş Aralığı	Yazar	Alel	Hasta/kontrol Sayısı	Çalışmanın Yapıldığı Yer	P Değeri/ Göreli Orantı
Kalsiyum Reseptörü Geni	23-76 yaş ort. 30	Chen et. al., 2001 Mittal t. al.	1377. nükleotiddeki	102/105 100/105	Tayvan Hindistan	0.0002/5.634 0.185
Vitamin D Reseptör Geni	42-73 21-72	Chen et. al. 2001 Bid et. al. 2005	Fok I Fok I	146/90 138/166	Tayvan Hindistan	0.032/1.672 <0.001/654
	18-65	Relan et. al. 2004	Bsm I ve Fok I	150/100	Hindistan	> 0.05
	22-68	RuggieroM. et. al. 1999	Taq I	37/19	USA	
	23-74	Chen et. al. 2001	Bsm I	124/90	Tayvan	0.89/1.162
İnterlökin	23-76	Chen et. al. 2001	IL-1Ra	105/152	Tayvan	0.005/6.041
			IL-1β511			0.627
			IL-1β-3954			0.403
	40.0±11.5	Mittal et. al. 2007	IL-1Ra	130/150	Hindistan	0.039/2.8
			IL-1β511			<0.0001/18.7
			IL-1β-3954			0.408/1.2
	24-73	Tsai et. al. 2001	TNF- α	103/114	Tayvan	0.78
Ürokinaz	24-73	Tsai et. al. 2001	3'UTR	153/105	Tayvan	0.025
	21-62	Mittal et. al. 2006	3'UTR + 4065	130/150	Hindistan	0.035/1.006
VEGF	26-78	Chen et. al. 2003	Bst UI C/T	230/230	Tayvan	< 0.001/1.30
			CYP 17			0.263/0.584
			EGFR 2073			0.180
			IGF 2 exon 9			
Arginin p21	24-73	Chen et. al. 2001	Kodon 31	95/119	Tayvan	0.037/0.719
E-Kaderin	24-73	Tsai et. al. 2003	C/T 3'UTR	148/103	Tayvan	0.001/2.0
Androjen/Östrojen Reseptör Geni	41-70	Chen et. al. 2001	ER genindeki CAG Tekrarları	149/102	Tayvan	0.8280.0001

Mittal ve diğ., 2008

### 1.5.5. TRPV5 ve TRPV6 Genleri

İntestinal ve renal epitelyal kalsiyum mekanizması üç basamakta gerçekleşir; (i) apikal  $Ca^{+2}$ 'un TRPV “Transient Receptor Potential Vanilloid Gene” kalsiyum kanallarından girişi, (ii)  $Ca^{+2}$ 'un kalbindin  $D^3$ 'ye bağlanması, (iii) bazolateral<sup>4</sup> kalsiyumun dışarı çıkışı ve  $Ca^{+2}$ 'u  $Na^+/Ca^{+2}$  mekanizmasına pompalamasıdır. Birinci ve ikinci 1,25 dihidroksivitaminin aktif formu vitamin D tarafından yapılır. Apikal kalsiyumun girişi için kilit rol TRPV5 ve TRPV6'ya aittir.

TRPV5 geni, böbrekteki aktif kalsiyum metabolizmasında yer alan renal epitelyal kalsiyum kanallarından biridir. TRPV5 geni 15 exon içerir ve kromozom 7q35 bölgesinde lokalize olmuştur (Kirsten ve diğ., 2009). Bu gen 729 aminoasitlik bir protein kodlar ve renal hiperkalsiüri için aday bir genidir. Bu gende yer alan polimorfizmlerin, bu genin  $Ca^{++}$  aktivitesini engellediği ve böbrek taşı olumunun majör problemlerinden hiperkalsiüriye neden olduğu düşünülmektedir. Bu konuda Renkema ve Ark.'nın 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada, A8V, R154H ve A561T polimorfizmlerinin hiperkalsiüri etiolojisinde rol oynamadığı sonucuna varılmıştır (Renkema ve diğ., 2009).

TRPV6 geninde yer alan C157R, M378V, M681T polimorfizmlerinin böbrek taşı hastalarında belirgin şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir (Suzuki ve diğ., 2008). Ancak bu iki gen ile yapılan tüm çalışmalarda örnek sayısının artırılması gerektiği bilgisi verilmiştir (Renkema ve diğ., 2009; Suzuki ve diğ., 2008).

### 1.5.6. Ürokinaz Geni

Ürokinaz geni kromozom 10q24 bölgesinde lokalize olmuştur. 6,4 kb uzunluğundadır ve 11 ekson içerir (Mittal ve diğ., 2008; Tripputi ve diğ., 1985). Ürokinazın reseptörüne bağlandığı kısım proteinin N-terminal bölgesidir. Asıl serin proteaz aktivitesini taşıyan B zinciri 252 amino asitten oluşur ve proteinin C-terminal bölümündedir. Plazminojenden plazmin aktivitesini sağlayan kısım burasıdır (Mittal ve diğ., 2008).

Ürokinaz geninde üç polimorfik bölge bildirilmiştir. Bunlar 3'UTR (+4065) bölgesindeki C/T, ekson 6'daki C/T ve intron 7'deki T/C polimorfizmleridir (Öztürk

---

<sup>3</sup>Kalbindin D protein: 1,25-dihidroksikolekalsiferol'e yanıt olarak oluşturulan mRNA'ların oluşturduğu protein topluluğu. İnsan barsağı, beyin ve böbreklerinde ve sıçanlarda rastlanmıştır.

<sup>4</sup>Bir oluşumun (korpus amigdaloideum) yan alt bölümü.

ve diğ., 2008; Wu ve diğ., 2004, Tsai ve diğ., 2002). Bunlar arasında çeşitli hastalıklarla ilişkisi en çok araştırılan polimorfizm 3'UTR polimorfizmidir, bunun sebebi de 3'UTR bölgelerinin trasnlasyonel seviyede gen ifadesini düzenlemeleri ve dolayısıyla bu bölgelerdeki nükleotid değişimlerinin gen ifadesi değişimlerine yol açarak hastalıklarla sonuçlanabileceğidir. Kolorektal, oral, prostat ve mesane kanserlerinde ve böbrek taşı oluşumunda ürokinaz geni 3'UTR C/T polimorfizmi araştırılmıştır (Öztürk ve diğ., 2008).

### **1.5.7.Kalsitonin Reseptörü Geni**

Kalsitonin hormonu, tiroid bezindeki C hücrelerinde üretilen ve kalsiyum dengesinde önemli bir fizyolojik rol oynayan 32 aminoasitlik bir peptid zinciridir (Menon ve Bharath, 2008). Bu hormon, hedef hücrelere kalsitonin reseptörleri (CTR) aracılığıyla etki eder. Kalsitonin reseptörleri Sınıf-II G-proteine bağlı reseptörler grubuna girerler (Chen, 1997). Osteoklastların yüzeyinde bulunan 7-membran geçişli CTR'leri, kalsitonin hormonu ile aktiflenir ve adenilat siklazı tetikleyerek osteoklastik kemik resorpsiyonunda azalmaya sebep olur.

İnsan kalsitonin reseptörü geni kromozom 7q21.3 bölgesinde yer alır (Lin, 1991). Bu genin bilinen beş kırılma varyantı bulunmaktadır, bunlardan ikisi CTR-1 ve CTR-2 olarak bilinir (Wolfe ve diğ., 2003). CTR geninin 8. eksonunda meydana gelen farklı kırılma CTR-1'de CTR-2'ye göre 16 amino asit inserte neden olur. Kalsitoninin CTR-2 ile etkileşiminin kemik resorpsiyonunu engellediği düşünülmektedir (Wolfe ve diğ., 2003). Kalsitoninin bu özelliği dolayısıyla osteoporoz, Paget hastalığı, hiperkalsemi gibi metabolik kemik hastalıklarında incelenmesi öngörülmüştür.

Kalsitonin reseptörü geninde bugüne kadar tanımlanan 11 polimorfik bölge olmasına rağmen, sadece 1377. nükleotid pozisyonunda meydana gelen sitozin (C) - timin (T) baz değişimi proteinde amino asit değişimine neden olur. Bunun sonucu olarak da lösin yerine prolin kodlanmaktadır. Üçüncü intraselüler domainde gerçekleşen bu değişimin reseptörün yapısını değiştireceği intraselüler sinyal yolları vasıtasıyla etkisini göstereceği ve biyolojik aktivitesindeki değişim yoluyla da hastalık oluşumuna katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (Taboulet ve diğ., 1998; Bid ve diğ., 2005). Bu polimorfizmin belirlenmesinde PCR ile çoğaltılan gen bölgesinin AluI restriksiyon enzimi kullanılarak kesimi yapılması nedeniyle C/T polimorfizmi, AluI polimorfizmi olarak da adlandırılır (Kang, Kim ve Lee, 2007).

CTR genindeki AluI polimorfizmi ile kemik mineral yoğunluğu arasında belirgin bir ilişki bulunmuştur (Bid, Chaudhary ve Mittal, 2005). Chen ve ark. benzer bir hipotezle Tayvanlı böbrek taşı hastalarında bu polimorfizmi incelemişler ve TT homozigot genotip yüzdesinin daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir (Mittal ve diğ., 2004). Kalsitonin reseptörü geni ile ilgili olarak yapılan çalışmalardan çoğu kemik mineral yoğunluğu ve osteoporoz üzerinedir. Osteoporoz düşük kemik kütlesi ve kemik dokusunun mikro yapısının bozulması sonucu, kemik kırılabilirliğinin ve kırık olasılığının artması ile karakterize sistemik bir iskelet hastalığıdır (Zajickova ve Zofkova, 2003). Büyüme döneminde; kemik yapımı (formasyon) kemik yıkımından (rezorbsiyon) fazladır. Erişkin dönemde ise yapım ve yıkım birbirine eşittir. Yaşlanma ile birlikte yapım ve yıkım arasındaki denge bozularak kemik kaybı başlar, kayıp belli bir düzeye geldiğinde osteoporoz gelişir (Saridoğan ve Özkul, 2003).

Yakın zamanda yapılan iki araştırmada Tayvan'lı erişkin taş hastalarında ve Kuzey Hintli çocuk taş hastalarında C/T polimorfizmi CaOx taş hastalığı ile ilişkilendirilmiştir (Chen, 2001; Bid 2005). Ancak Kuzey Hintli hasta popülasyonu ile gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise taş oluşumu ile bu polimorfizmin ilişkisi saptanamamıştır (Mittal, 2004). Bunlara ek olarak AluI genotipleri sağlıklı popülasyonlarda da incelenmiş ve yine frekanslar arasında farklılık gözlenmiştir (Öztürk T., 2008: 35; Menon 2008, Chen 2001; Bid 2005; Mittal 2004). Sağlıklı bireylerle yapılan incelemelerde de genotip ve alel frekansları arasında farklılık görülmesi de bu polimorfizmin çeşitli etnik gruplarda veya farklı popülasyonlarda araştırılması gerekliliğini ortaya koyar. Farklı popülasyonlara ait sağlıklı ve taş hastası bireylerin genotip frekanslarının belirlenmesi ve taş oluşumu ile polimorfizm ilişkisinin araştırılması sonucunda veriler karşılaştırılarak bu polimorfizmin taş oluşumu için bir belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağı belirlenebilir. Sağlıklı popülasyonlarda saptanan genotip ve alel frekanslarının farklı oluşu da Bu çelişkili sonuçlar nedeniyle taş oluşumu ile AluI polimorfizmi ilişkisi farklı etnik gruplar için araştırılmalıdır.

## 2. AMAÇ

İnsan genomundaki pek çok gen dizisinin bireyler arasında polimorfiklik gösterdiği bilinmektedir. Polimorfizmler bir genin kodlanan veya kodlanmayan kısımlarında, tek baz çiftini içeren değişimler, delesyon ya da insersiyonlar, veya tekrar eden kısa DNA dizilerinin tekrar sayılarındaki değişimler olarak karşımıza çıkar. Tek nükleotid polimorfizmleri gen transkripsiyonunda, mRNA'nın devamlılığında, oluşan proteinin kalitesi ve etkinliğinde farklılıklara yol açabilirler; dolayısıyla pek çok hastalığa yatkınlığın ya da hastalığın ciddiyetinin belirlenmesinde kullanılabilirler.

Böbrek taşı hastalığının genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Genetik faktörlerin belirlenebilmesi amacıyla, bu hastalığa yatkınlıkta rolü olduğu düşünülen genlerdeki tek nükleotid polimorfizmleri belirlenmeye çalışılmaktadır. Böbrek taşı hastalığında rol oynadığı düşünülen polimorfizmlerden biri de kalsitonin reseptörü genindeki polimorfizmdir. Kalsitonin reseptörü geninin kalsiyum ve fosfolipid metabolizmasına katılarak kalsiyum oksalat taş hastalığı ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasında kalsitonin reseptörü geninde belirlenmiş olan AluI polimorfizmi, sağlıklı bireyler ve CaOx böbrek taşı hastalarında incelenecektir. Hasta ve sağlıklı bireylerin alel ve genotip frekansları karşılaştırılacak ve bu polimorfizmin böbrek taşı oluşumuna yatkınlığın belirlenmesindeki rolü tespit edilecektir. Bu sayede AluI polimorfikliğinin toplumumuzda %14,8 gibi önemli bir prevalansı olan böbrek taşı hastalığı için bir belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağı ortaya koyulacaktır. Sigara içimi, cinsiyet, aile öyküsü, mesleki durum, yaş ve tekrar taş oluşturma kriterlerinin de katkıları incelenerek taş oluşumuna etkisi olabilecek genetik ve çevresel faktörler irdelenecektir.

## **3.MATERYALLER**

### **3.1.Çalışmada Kullanılan Örnekler**

Bu çalışmadaki hasta grubunu oluşturan bireyler, Ocak 2009 – Haziran 2009 tarihleri arasında GATA Tıp Fakültesi Üroloji Kliniği'ne ve Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran ve kalsiyum oksalat böbrek taşı hastalığı tanısı konan hastalar arasından seçilmiştir. Taş tipi, röntgen veya ultrasonografi yöntemleriyle belirlenmiştir. Hastaların yaşları, cinsiyetleri, meslekleri, aile öyküleri, sigara ve alkol kullanma alışkanlıkları ile daha önce geçirdikleri taş kırma operasyonları (ESWL) ve taş öyküleri de sorgulanmıştır. Çalışmaya dahil olma kriterleri CaOx taş tipi olması, herhangi bir malignite taşınmaması, üriner sistemi enfeksiyonu ve böbrek yetmezliği olmaması ve herhangi bir kronik rahatsızlığın bulunmamasıdır. Bu kriterleri sağlayan 130 hasta bireyden kan örnekleri alınmıştır.

Üriner taş hastalığı öyküsü olmayan, fizik muayene ve tam idrar tahlilinde herhangi bir patoloji saptanmayan 130 sağlıklı birey kontrol grubuna dahil edilmiş ve yanak içi epitel hücre örnekleri alınmıştır.

Hasta ve kontrol grubu örnekleri, bireylerin çalışma hakkında bilgilendirilmesi ve yazılı onaylarının alınmasından sonra toplanmıştır. Bu çalışma T.C. Haliç Üniversitesi İnsan Araştırma Etik Kurulu izni ile gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.Kimyasallar**

Bu çalışmada kullanılan tüm katı ve sıvı kimyasallar moleküler biyoloji kalitesindedir, aksi belirtilmediği takdirde marka olarak Sigma (ABD) ya da Merck (ALMANYA) tercih edilmiştir.

### **3.3. Tamponlar, Solüsyonlar ve Enzimler**

#### **3.3.1. Kandan DNA İzolasyon Tamponları**

Kan örneklerinden DNA izolasyonu için RGDE metodu (Ali, Mahnaz ve Mahmood, 2008) kullanılmıştır.

Hücre Lizis Tamponu	:	Tris HCL	10mm/l
		Sükroz	% 11(w/v)
		MgCl <sub>2</sub>	5mm/l
		Triton X-100	% 1 (w/v)
Çekirdek Lizis Tamponu	:	Tris HCL	10mm/l
		SDS	% 1 (w/v)
		EDTA	10mm/l
		Sodyum Sitrat	10mm/l

### 3.3.2.Yanak İçi Epitelinden DNA İzolasyon Tamponları

Lizis Tamponu	:	Tris pH:8.0	50mM
		EDTA	50mM
		Sükroz	50mM
		NaCl	100mM
		SDS	1%
Proteinaz K	:	10mg/ml	dH <sub>2</sub> O içinde
Low- TE pH 8.0	:	Tris pH 8.0	10mM
		EDTA pH 8.0	0.1mM
3M NaOAc	:	3M dH <sub>2</sub> O içinde	% 70 EtOH
Fenol			
Kloroform (CHCl <sub>3</sub> ):	:	25:24:1	
İzoamilalkol (IAA)			
CHCl <sub>3</sub> :IAA	:	24:1	

### 3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Tamponları ve DNA Polimeraz Enzimleri

10X MgCl <sub>2</sub> 'süz Tampon	:	500mM KCl
		100 mM Tris-HCl pH 9.0
		% 0.8 NonidetP40
		(Fermantas,LİTVANYA)
MgCl <sub>2</sub>	:	dH <sub>2</sub> O'da 25 mM
		(Fermantas, LİTVANYA)
Deoksiribonükleotidler (dNTP)	:	100 mM dATP, dCTP, dGTP ve dTTP
		(Fermantas, LİTVANYA)



Taq DNA Polimeraz : 5U/μl Taq DNA Polimeraz  
(Fermantas, LİTVANYA)

### 3.3.4. Restriksiyon Enzimleri ve Reaksiyon Tamponları

AluI : 10 U/μl (Roche, ALMANYA)  
Tanıma Dizisi AG↓CT  
TC↑GA  
Alu I Reaksiyon : 10X Reaksiyon Tamponu (Roche,  
Tamponu : Almanya)

### 3.3.5. Elektroforez Tamponları ve Jel Sistemleri

10X TBE (Tris-Borik asit- : 890 mM Tris-Baz  
EDTA)  
890 mM Borik Asit  
20mM Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O  
pH 8.3  
10X Bromofenol Mavisi : 2.5mg/ml BPB  
(BPB)  
Etidyum Bromid (EtBr) : 10mg/ml  
%1, %2 veya %3'lük agaroz : 0.5 X TBE Tamponunda  
jel : %1,%2 veya %3 (w/v)  
agaroz

### 3.3.6. Oligonükleotid Primerler

Bu çalışmada incelenen polimorfik bölgeleri çoğaltmak için kullanılan primer dizileri Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Alu I polimorfik bölgesini çoğaltmak amacıyla kullanılan primer dizileri  
(F : ileri primer, R : geri primer)

Primer Adı	Primer Dizisi
CLCR-F	5' CTCAGTGATCACGATACTGTG 3'
CLCR-R	5' ATTCAGTGGAACCAGCGTTGG 3'

### 3.3.7. DNA Büyüklük Markörleri

GeneRuler 100 bp DNA markörü: 80, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 baz uzunluğunda fragmentler içeren DNA markörü (Fermentas, LİTVANYA)

GeneRuler 50 bp DNA markörü : 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 baz uzunluğunda fragmentler içeren DNA markörü (Fermentas, LİTVANYA)

### 3.3.8. Cihazlar

Otoklav	:Dik Tip Otoklav (BES, TÜRKİYE)
Tartılar	:Hassas Terazi, XB 220A (Presica, İSVİÇRE) Terazi, KB 400-2 (KERN, ALMANYA)
Santrifüjler	:Mikrosantrifüj, MiniSpin Plus (Eppendorf, ALMANYA)
Derin Dondurucular	:-20°C, 2021 D (Arçelik, TÜRKİYE) -20°C, GSD26410NE (Bosch, ALMANYA)
Dökümantasyon Sistemleri	:Bio-RAD Universal Hood II (BIO-RAD, İTALYA)
Yatay Elektroforez Sistemleri	:Flowgen (İNGİLTERE)

	Sub-Cell GT (BIO-RAD, İTALYA)
Güç Kaynakları	:EPS301 (Amersham Pharmacia Biotech, İSVEÇ) PowerPac Basic (BIO-RAD, İTALYA) PowerPac Universal (BIO-RAD, İTALYA)
Isı Bloğu	:DB 2D (Techne, İNGİLTERE)
Manyetik Karıştırıcılar	:MR 3001 (Heidolph, ALMANYA)
Buzdolapları	:Beko 8742, Arçelik 3061 Plus (TÜRKİYE)
Spektrofotometreler	:Schimadzu UV 1601 (JAPONYA)
Thermo-Cycler	:Techne TC-512 (İNGİLTERE)
Vorteks	:Heidolph REAX (ALMANYA)
Su Arıtma Sistemi	:Millipore Milli Q Synthesis A10 (FRANSA)

## 4. KULLANILAN YÖNTEMLER

### 4.1.Kandan DNA İzolasyonu

Çalışmada kullanılan DNA, “Rapid Genomic DNA Extraction” (RGDE) metoduyla izole edilmiştir (Ali, Mahnaz ve Mahmood, 2008). Bunun için 500 µl kan örneği 1,5 ml Eppendorf tüp içerisine alınır. Alınan kan örneği üzerine 1000 µl hücre lizis tamponu eklenir. Tüp nazikçe karıştırılır ve 2 dakika 6000 rpm’ de santrifüj edildikten sonra, süpernatant atılır. Bu işlem üç kez tekrarlandıktan sonra, pellet üzerine 300 µl çekirdek lizis tamponu eklenir. Mikrofüj tüpü oda sıcaklığında 2 dakika bekletilir. Mikrofüj tüpüne 100µl 5M NaCl ve 600 µl kloroform eklenir. Tüp hafifçe sallanarak 2 dakika 6000 rpm’de santrifüj edilir. Süpernatantın 300 – 500 µl’ si 1,5 ml’lik yeni bir tüpe aktarılır. Üzerine 600 µl soğuk izopropanol eklenerek tüp hafifçe sallanır. Mikrofüj tüpü 1 dakika 13000 rpm’de santrifüj edilir. Süpernatant tüpten uzaklaştırıldıktan sonra oda sıcaklığında kurumaya bırakılır. Kuruduktan sonra tüpe örneğin miktarına göre 50 – 100 µl TE tamponu eklenir. İzole edilen DNA oda sıcaklığında çözülmeye bırakılır. DNA çözüldükten sonra tüpler (-)20 °C’de saklanır.

### 4.2.Yanak İçi Epitelinden DNA İzolasyonu

Çalışmada kontrol grubu için kullanılan DNA örnekleri yanak içi epitelinden sürüntü alınarak elde edilir. Bunun için yanak içi epitel doku örneği taşıyan steril çubuk 600-700 µl arası lizis tamponu içeren 1,5ml Eppendorf tüpe yerleştirilir. Tampon hacminin en az 500 µl olduğundan emin olunduktan sonra; 50 µl 10mg/ml Proteinaz K ile 55 derecede 30dk. – 1 saat arası veya bir gece (yaklaşık 16 saat) inkübe edilir. Tüpün içinde çepere ve tüpün ağzına bastırılarak steril çubuğun emdiği tamponu hücrelerle beraber bırakması sağlanır ve tüpten çıkarılır. Üzerine 300 µl fenol ve 600 µl kloroform eklenir. 12.000 g de 2 dk. santrifüj edilir. Yeni tüpe aktarılan sulu faza eşit hacimde (yaklaşık 500 µl) Fenol: CHCl<sub>3</sub>: IAA (24:1) eklenir. Tüp 12.000 g de 2dakika santrifüjlenir. Sulu faz yeni tüpe aktarılır ve 1:10 hacimde 3M NaOAc eklenip karıştırılır. Üzerine toplam hacmin %6’sı kadar izopropanol eklenir. Tüpler (-)20 °C’de gece boyu inkübe edilir. İnkübasyondan sonra tüpler 12.000g’de 10 dk.

santrifüjleyerek DNA çöktürülür. DNA peleti 500 µl %70 etanol ile 12.000 g de 5 dk. santrifüjlenerek yıkanır. Süpernatant atıldıktan sonra tüpler yaklaşık 15-20 dakika kurumaya bırakılır. DNA 50 µl Low-TE eklenerek oda sıcaklığında 2-3 gün bırakılarak çözünür. DNA içeren tüpler (-)20 °C’de saklanır.

#### 4.3.İzole Edilen DNA’nın Analizi

İzole edilen DNA’nın analizinde spektrofotometrik yöntemler kullanılır. Bu yöntem absorpsiyon temeline dayanır. Ölçümler, UV geçirgen kuvarz küvetler ile yapılır.

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları 260 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon gösterir. Bu nedenle 260 nm’de ölçülen absorpsiyon değerleri ( $A_{260}$ ) saf olarak elde edilen nükleik asitlerin µg düzeyinde miktarlarının belirlenmesinde kullanılır. Çift zincirli DNA molekülleri için 1 optik dansitenin (OD) 50 µl/ml’ye karşılık geldiği bilinmektedir. Buna göre çift zincirli DNA için miktar tayininde;  
 $C (\mu\text{g}/\text{ml}) = A_{260} \times 50 \times \text{sulandırma faktörü}$  formülü kullanılır.

Ayrıca izole edilen DNA’nın ne kadar saf olduğu da önemlidir. Bu sebeple protein kontaminasyon varlığı, her izolasyon işleminden sonra kontrol edilmesi gereken bir parametredir. Bunun için 260 ve 280 nm’de ölçülen değerler kullanılarak  $A_{260}/A_{280}$  oranı hesaplanır. Saf DNA’da bu oran 1,75 – 1,80’in üzerinde olmalıdır. 1,80’in üzerindeki değerler RNA, altındaki değerler ise protein kontaminasyonunu gösterir. Protein kontaminasyonunun yüksek olması, sonrasında uygulanacak PCR işleminde sorunlara sebep olur. Proteinler 280 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon gösterirler.

#### 4.4.Uygun Primer Seçimi

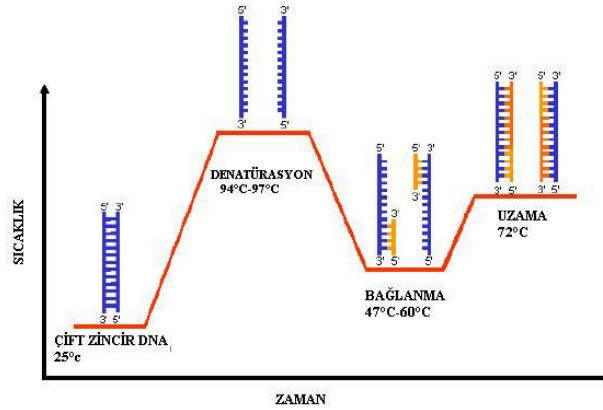
PCR işlemi için kullanılacak primerlerin seçimi, referans alınan makalelerden yapılmıştır. Primerler seçildikten sonra NCBI internet sitesinden elektronik PCR yöntemiyle CTR geni mRNA dizisinde çoğaltılacak olan bölgeye bağlandıkları (Şekil 4.1.) doğrulanmıştır (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>).

```
ATTCAGTGGAACCAGCGTTGGGGGAGGCGCCCCTCCAACCGCTCTGCTCGCGCTGCA
GCCGCTGCTGCGGAGGCTGGCGACATCCCAATTTACATCTGCCATCAGGAG↓CTGAG
GAATGAACCAGCCAACAACCAAGGCGAGGAGAGTGCTGAGATCATCCCTTTGAATATC
ATAGAGCAAGAGTCATCTGCTTGAATGTGAAGCAAACACAGCATCGTGATCACTGAG
```

Şekil 4.1. PCR işlemi ile çoğaltılacak bölgenin belirlenmesi. Gri ile vurgulanmış bölgeler primer bağlanma bölgelerini ifade etmektedir. Sarı ile vurgulanmış olan bölge restriksiyon enzimi tanıma bölgesidir.

#### 4.5.PCR

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesine dayanan *in vitro* bir yöntemdir. PCR'ın temel bileşenleri kalıp olarak kullanılan DNA molekülü, DNA polimeraz enzimi, primerler, dNTP karışımı, tampon ve MgCl<sub>2</sub>'dür. PCR işleminde başlangıç denatürasyonu için genomik DNA gibi kompleks kalıpların denatüre olması için 90-100 °C gibi yüksek sıcaklıklara kadar ısıtılır. Primerler bağlandıktan sonra ısıya dayanıklı olan Taq polimeraz enzimi, 5' - 3' yönünde olmak üzere, ortamdaki nükleotidleri kullanarak, primerlerin 3' hidroksil ucuna nükleotidleri yerleştirir ve böylece hedef DNA parçasının bir kopyası elde edilir. Şekil 4.1'de PCR aşamaları gösterilmiştir. Toplam döngü sayısı genellikle 25-35 arasındadır (Temizkan ve diğ., 2004 :136).



Şekil 4.2. Polimeraz zincir reaksiyonu aşamaları

#### 4.6.PCR Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleaz ile Kesimi

DNA'nın enzimatik kesimi, restriksiyon endonükleazları kullanımı ile yapılır. Restriksiyon enzimleri çift iplikçikli DNA'da özgül bölgelerden kesim yapan ve DNA'dan bir gen bölgesinin veya gen taşıyan bir DNA segmentinin çıkarılmasında rol alan enzimlerdir. Bakterilerde bulunan bu enzimler DNA'da özgün kısa dizileri tanırlar ve kesme işlemini, enzime göre değişerek, tanıma yerinde ya da dizide başka bir bölgede gerçekleştirir. Kesim sonucunda küt veya yapışkan uçlu DNA fragmentleri oluşur (Temizkan ve diğ., 73-74). Bu yöntemle restriksiyon fragmant uzunluk polimorfizmi (RFLP) denir.

Farklı tanıma bölgesine sahip pek çok enzim vardır. Böylece gen dizilerinde oluşan bir mutasyonun ya da polimorfizmin taranmasına olanak sağlanmıştır. Tek nükleotid polimorfizmlerin (SNP) belirlenmesinde de restriksiyon enzimleri kullanılır (Turner ve diğ., 2004; 65).

Restriksiyon işlemi için mutasyonun belirlenmesi için uygun enzim, tampon ve distile H<sub>2</sub>O gereklidir. Hazırlanan tampon – enzim karışımı PCR ürünlerine eklenerek uygun sıcaklıkta 1-16 saat inkübasyon yapılır.

#### **4.7. Agaroz Jel Elektroforezi**

Agaroz, bir kırmızı alg türü olan *Agar agar*'dan izole edilen doğrusal bir polisakkarittir. Agaroz sıcak suda çözünür ve soğutulduğu zaman polimerde karşılıklı hidrojen bağlarının oluşumu ile geri dönüşümlü bir jel yapısı oluşur. Agaroz konsantrasyonu değiştirilerek jelin por çapı ayarlanabilir. Böylece, küçük DNA fragmentleri için düşük agaroz konsantrasyonu kullanılarak DNA'nın jelde en uygun şekilde yürümesi sağlanır (Temizkan ve diğ., 2004: 71).

PCR sonuçlarının görüntülenmesi için %2'lik agaroz jel kullanılır. Bunun için 60 ml %0,5 X TBE içinde 1,2 g agaroz çözülür, içine UV ışık altında PCR ürünlerinin jelde görülmesini sağlamak için 20 µg/ml etidyum bromür'den 5 µl ilave edilir ve daha önce tarakları yerleştirilmiş olan elektroforez küvetine dökülerek soğumaya bırakılır.

Jel soğuduktan sonra taraklar dikkatlice uzaklaştırılır ve küvet içerisinde %0,5 X TBE bulunan elektroforez tankına yerleştirilir. Tarakların çıkarılması ile oluşan kuyucuklara PCR ürünü ve bromofenol mavisi karıştırılarak yüklenir. 120V elektrik akımında 20 dakika yürütülür. Jeldeki bantlar jel görüntüleme sistemi yardımı ile ultraviyole ışık altında görüntülenir.

Restriksiyon ürünleri için %3'lük jel hazırlanır ve sonuçlar yine görüntüleme sistemi yardımı ile UV ışık altında görüntülenir.

#### **4.8. Kalsitonin Reseptörü Geni Mutasyon Taraması**

##### **4.8.1. Gen Bölgesinin Çoğaltılması**

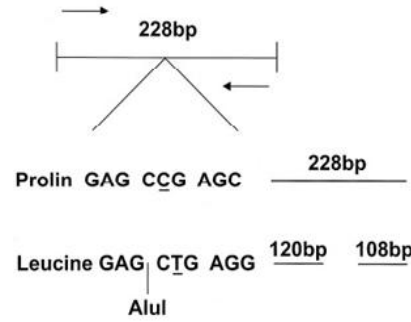
Kalsitonin reseptörü geninde yer alan AluI polimorfizminin belirlenmesi için PCR-RFLP yöntemi kullanılır. Bu yöntemde her birey için hazırlanan total genomik DNA'dan CTR geninin C/T polimorfizminin bulunduğu 228 bp'lik bölgesi PCR

işlemi ile amplifiye edilir. PCR bileşenleri 10 pmol primer, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,8 mM dNTP (dATP, AGTP, dCTP, dTTP), 1X Taq Tamponu ve 1U Taq polimeraz enzimidir. Toplam hacim 25µl olacak şekilde PCR reaksiyonu gerçekleştirilir. PCR reaksiyonunda sıcaklık koşulları; 94 °C 5 dakika ilk denatürasyon, 35 döngü olarak; 95 °C 30 saniye denatürasyon, 57 °C 30 saniye bağlanma, 72 °C 30 saniye uzama ve 72 °C 10 dakika son uzama olarak gerçekleştirilir.

#### 4.8.2.Çoğaltılan Gen Bölgesinin Restriksiyonu

PCR işlemi ile çoğaltılan gen bölgesi uygun enzim yardımı ile restriksiyon işlemine tabi tutulur. Bunun için 10 µl PCR ürününe, 1X kesim tamponu ve 1U Alu I kesim enzimi ve hacmi 25µl'ye tamamlamak üzere steril su eklenerek 37°C'de 3 saat inkübe edilir.

Restriksiyon sonrasında kesilen PCR ürünleri 108 ve 120 bp olarak ikiye ayrılır (Becherini ve diğ., 1998). Şekil 4.3.'te restriksiyon sonucunda oluşan iki fragment şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Restriksiyon sonucunda oluşan fragmentlerin şematik gösterimi (Masi ve diğ., 1998)

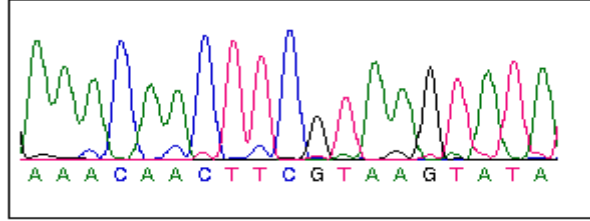
Restriksiyon reaksiyonları %3'lük agaroz jelde 100 bç'lik markör ile birlikte 120 Volt'ta 30 dakika yürütülür. Jel UV ışığı altında görüntülenir ve fragment uzunlukları markör bantlarının uzunlukları ile karşılaştırılarak belirlenir.

#### 4.9.PCR Saflaştırma ve Dizi Analizi

DNA dizi analizi, DNA örneklerindeki baz dizilerinin sırasını ortaya çıkarmak için kullanılan bir genetik şifre çözme yöntemidir. Otomatik DNA dizi analizinde, Sanger tarafından geliştirilen enzimatik sentez yöntemi gelişmiş bir kapiller sisteme uyarlanmıştır. Boya terminasyon işaretleme adı verilen bir metod kullanılarak farklı bazlarda (A, G, T, C) sonlanan DNA sentez ürünlerine floresan işaretli boyalar iliştilir. Elektroforez, örnekler bir kapillerden geçirilirken uygulanır. Floresan işaretli boyaları uyarmak için bir lazer ve boyaların yaydığı ışığı toplamak



içinse bir CCD kamera kullanılır. Böylece, lazer uyarımının ardından dört boya tarafından yayılan farklı dalga boylarındaki ışık tek kulvarda ayırt edilebilir. Floresan miktarlarının ölçülmesi ve yorumlanmasının ardından DNA örneğindeki baz dizisi saptanır (Şekil 4.4.) (Klug ve diğ., 2000).



Şekil 4.4. Bir otomatik dizi analizi örneği ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org))

Dizi analizi yapılacak örneklerin PCR ürünleri High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) kullanılarak saflaştırılır. Filtreli tüpe 50 µl PCR ürünü ile 250 µl bağlanma tamponu konur. 1 dakika 14.000 rpm’de santrifüj edilir. Süpernatant atıldıktan sonra 250 µl yıkama tamponu eklenir ve santrifüj işlemi tekrarlanır. DNA’nın yıkanması işlemi ile ikinci kez 100 µl tampon konarak iki kez tekrarlanır ve sonrasında 100 µl elüsyon tamponu konarak 1 dakika oda sıcaklığında bekletilir. Yine 1 dakika 14.000 rpm’de santrifüj yapıldıktan sonra tüpün içeriği 0,2’lik Eppendorf tüpe aktarılarak dizi analizi için hazırlanmış olur.

## **5.SONUÇLAR**

### **5.1.Örneklerin Tanımı**

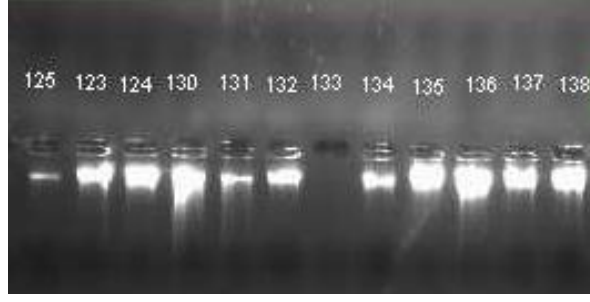
Bu araştırmaya CaOx böbrek taşı hastalığı teşhisi konan 130 hasta ve 130 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hastaların ve sağlıklı bireylerin cinsiyeti, yaşı, bireylerin ailelerinde taş hastalığı olup olmadığı, sigara içim süreleri, miktarı ve markası sorgulanmıştır. Bununla birlikte hastaların daha önce kaç kez taş düşürdüğü ve gördükleri tedavi de sorgulanmıştır.

Hasta bireylerin 80'i (%70) erkek, 50'si (%30) kadındır. Bu bireylerin 70'inin (%54) ailesinde taş öyküsü varken, 60'ının (%46) ailesinde olmadığı saptanmıştır. Hasta bireylerin yaşları 16-80 yaş arasındadır ve yaş ortalaması 44'tür. Hasta grubundan 75 kişi (%57,6) sigara kullanmıyorken, 55 kişi (%42,3) sigara içmektedir. Hastaların taş düşürme hikayeleri sorgulandığında 104'ünün (%80) kliniğe ilk kez taş hastalığı şikayeti ile başvurduğu, 26'sının ise (%20) daha önce bir ya da birden fazla defa taş düşürdüğü öğrenilmiştir.

Kontrol grubu 91 (%61,5) erkek ve 39 (%38,5) kadın sağlıklı bireyden oluşmaktadır. Kontrol grubu yaş ortalaması 42,2 olup yaş aralığı 16-74 arasındadır. Bireylerin sigara içme oranlarına bakıldığında 76'sı (%58,5) sigara kullanmakta, 54'ü (%41,5) ise sigara kullanmamaktadır.

### **5.2.DNA İzolasyonu**

Hasta grubuna ait kan örneklerinden RGDE metodu kullanılarak DNA izole edildi. Kontrol grubunun DNA izolasyonu ise yanak içi epitellerinden gerçekleştirildi. Elde edilen DNA örneklerinden 3'er µl, %1'lik agaroz jelde 120V elektrik akımında 15 dakika yürütüldü, UV ışığı altında incelendi (Şekil 5.1.). DNA örneklerinin saflık ve konsantrasyon analizleri spektrofotometrik ölçüm ile belirlendi.

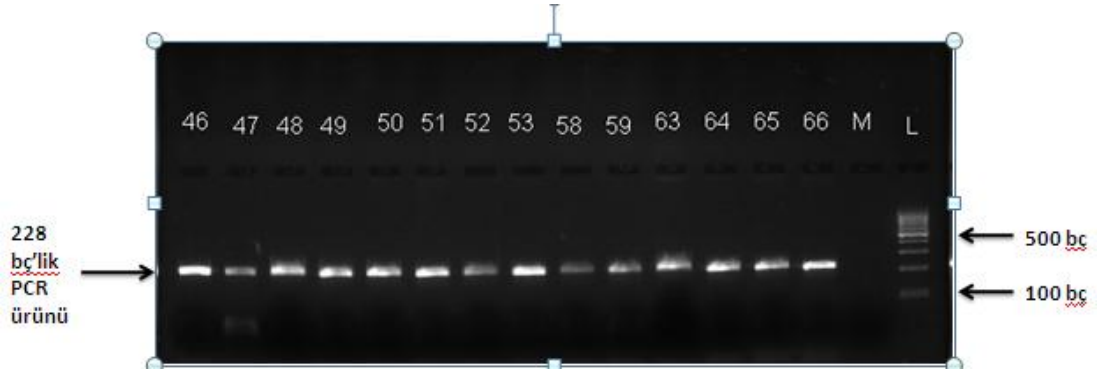


Şekil 5.1. İzole edilen DNA'ların %1'lik agaroz jeldeki görüntüsü

### 5.3. Kalsitonin Geni Reseptörü Polimorfizm Taraması

#### 5.3.1. İlgili Gen Bölgesinin Çoğaltılması

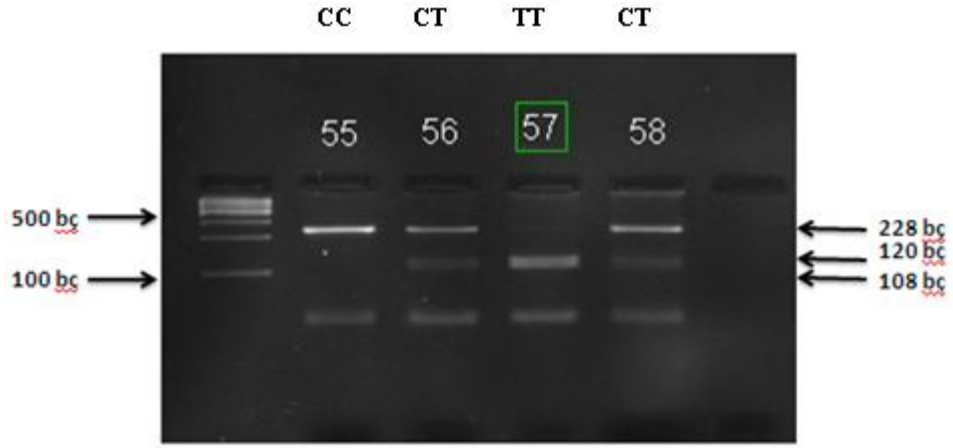
Kalsitonin reseptörü geninde yer alan AluI polimorfizminin belirlenmesi için PCR-RFLP yöntemi kullanıldı. Total genomik DNA'daki CTR geninin polimorfik bölgesi CLCR-F ve CLCR-R kullanılarak amplifiye edildi. Elde edilen 228 bç'lik PCR ürünleri 100 bç'lik DNA markörü kullanılarak %2'lik agaroz jelde görüntülendi (Şekil 5.2.).



Şekil 5.2. 228 bç'lik PCR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü (L: 100 bç DNA markörü)

#### 5.3.2.Çoğaltılan Gen Bölgesinin Restriksiyonu

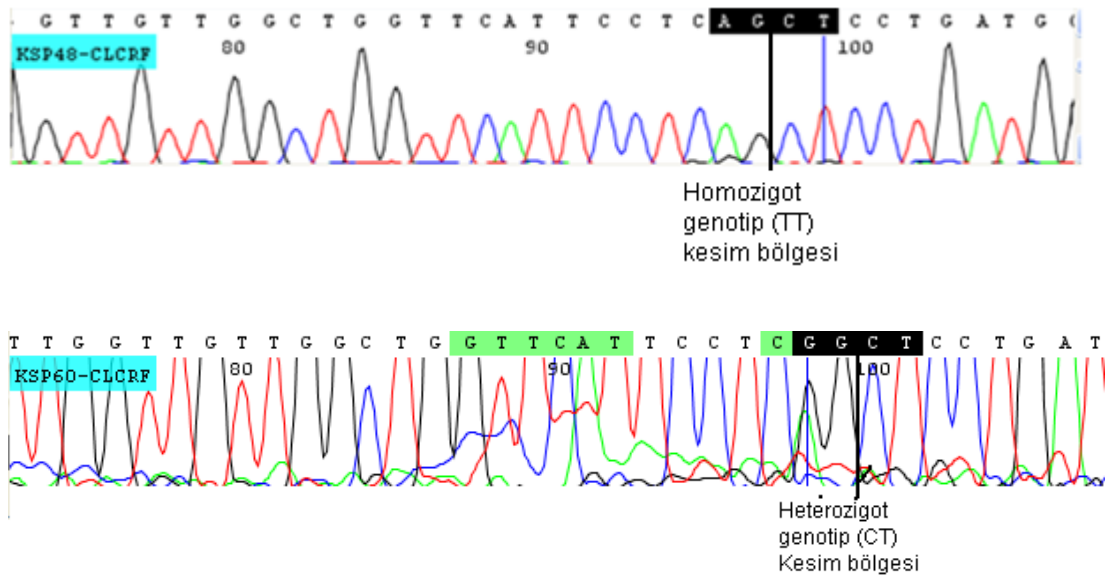
PCR işlemi ile çoğaltılan gen bölgesine Alu I enzimi ile 37°C'de 3 saat süre ile restriksiyon işlemi uygulandı. Restriksiyon işlemi sonucunda 1377. nükleotid pozisyonunda timin (T) – sitozin (C) değişimi olup olmadığı saptanmıştır. Bu gen pozisyonunuda yabancı tip alel olan C aleli mevcutsa Alu I için tanıma bölgesi yoktur ve %3'lük agaroz jelde 228 bç'lik tek bir bant gözlenir. Eğer homozigot C-T baz değişimi varsa Alu I tanıma bölgesi oluşur ve jelde 120 ve 108 bç'lik iki bant gözlenir (mutant tip). Heterozigot bireyler için ise jelde 128, 120 ve 108 bç olarak üç bant gözlenir (Şekil 5.3.).

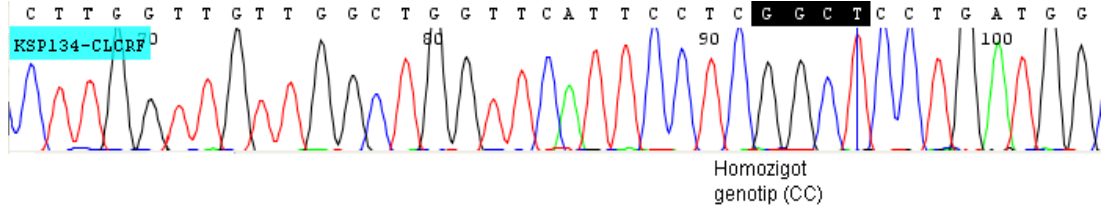


Şekil 5.3. %3'lük agaroz jelde AluI restriksiyon analizi

### 5.3.3.Dizi Analizi

PCR-RFLP yöntemi ile saptanan genotipler arasından DNA dizi analizi ile konfirme edilmek üzere rastgele olarak homozigot ve heterozigot örnekler seçildi. Dizi analizi yapılacak DNA örnekleri PCR ile çoğaltıldı ve saflaştırıldı. Saflaştırılan PCR örneklerinin kalitesi agaroz jel elektroforezi ile teyid edildikten sonra dizi analizi işleminin gerçekleştirilmesi için Iontek A.Ş.'ye gönderildi. CLCR-F primeri kullanılarak yapılan dizi analizi sonuçları Codoncode Aligner ve Chromas Pro yazılımları ile incelenerek (Şekil 5.4.) restriksiyon sonuçları ile karşılaştırıldı ve PCR işlemi ile çoğalan gen bölgesinin doğruluğu ile restriksiyon sonucu elde edilen genotip bilgisinin doğruluğu kontrol edildi.





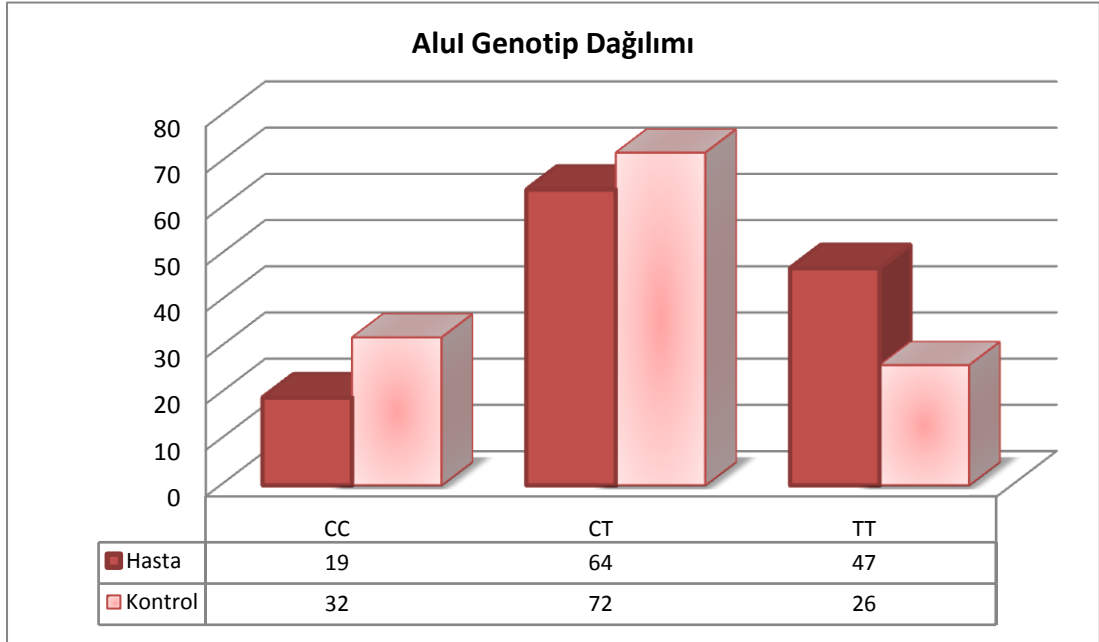
Şekil 5.4. KSP 48, 60 ve 134 numaralı örneklerin dizi analizi görüntüleri

### 5.3.4.Genotip Dağılımının İncelenmesi

Kalsitonin reseptörü geninde yer alan polimorfizmin belirlenmesi amacıyla Hasta ve kontrol grupları için PCR-RFLP yöntemiyle belirlenen genotiplerin dağılımı incelenmiştir (Tablo 5.1, Şekil 5.5.).

Tablo 5.1. Alu I polimorfizmi genotip frekansları (%)

%	CC	CT	TT	TOPLAM
<b>Hasta</b>	14,6	49,2	36,2	100
<b>Kontrol</b>	24,6	55,4	20	100



Şekil 5.5. Alu I polimorfizmi için hasta ve kontrol gruplarına ait genotip dağılımı (n)

### 5.3.5.Verilerin İstatistiksel Analizi

PCR-RFLP yöntemi ile hasta ve kontrol gruplarının genotip dağılımları analiz edilmiş ve genotip ve alel frekansları karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte hastalık oluşumu ile cinsiyet, aile öyküsü, sigara içimi ve yaş ilişkisi incelenmiştir. İstatistiksel analizler plink ve SPSS 13.0 programları ile gerçekleştirilmiştir.

#### 5.3.5.1.Hardy-Weinberg Analizi

Gözlenen genotip frekanslarından yararlanarak alel frekansları (Tablo 5.2.) ve beklenen genotip frekansları hesaplanmıştır. Gözlenen ve beklenen değerler plink programı ile ki-kare testi yapılarak karşılaştırılmış (Tablo 5.3.) ve analize dahil edilen örneklerin Hardy-Weinberg (HW) dengesine uygunlukları incelenmiştir.

Tablo 5.2. CTR geni Alu I polimorfizmi alel frekansları

%	C	T
<b>Hasta</b>	0,40	0,60
<b>Kontrol</b>	0,52	0,48
Total	0,46	0,54

Tablo 5.3. Örneklerin PLINK ile Hardy-Weinberg uygunluk testi

CHR	SNP	TEST	A1	A2	GENO	O(HET)	E(HET)	p
7	CTR	ALL	T	C	51/136/73	0.5231	0.4964	0.4535
7	CTR	AFF	T	C	19/64/47	0.5538	0.4989	0.2907
7	CTR	UNAFF	T	C	32/72/26	0.4923	0.4768	0.854

Tabloda CTR polimorfizmin bulunduğu kromozom numarasını, SNP polimorfizmin adını, TEST çalışmada konu olan hasta ve kontrol gruplarını, A1 ve A2 sırasıyla minör ve majör aleli, GENO genotip sayılarını, O(HET) gözlenen frekansı, E(HET) beklenen frekansı göstermektedir. Test sonuçlarına göre p değeri hasta ve kontrol grupları için 0,05'ten büyük olduğu için gruplar Hardy-Weinberg dengesinde kabul edilmiştir.

#### 5.3.5.2.Çapraz Tablolar ve Ki kare Bağımsızlık Testi

Hasta ve kontrol grupları ile oluşturulan çapraz tablolar ve SPSS 13.0 programı ile yapılan ki-kare bağımsızlık testi sonuçları Tablo 5.4. ve 5.5'de gösterilmiştir.

Tablo 5.4. Hasta ve kontrol grupları ile Alu I genotipleri çapraz tablosu

	CC	CT	TT	Toplam
<b>Hasta</b>	19	64	47	130
<b>Kontrol</b>	32	72	26	130
<b>Toplam</b>	51	136	73	260

Tablo 5.5. Ki-kare bağımsızlık testi

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
<b>Pearson Chi-Square</b>	9,825*	2	,007
<b>Likelihood Ratio</b>	9,949	2	,007
<b>N of Valid Cases</b>	260		

\*5'ten küçük hiçbir hücre beklenmedi.  
Minimum Tahmin 25,50

$\chi^2$  değeri 9,825 ( $\chi^2 > 5.99$ ) ve  $p=0.007$  ( $p < 0,05$ ) değerleri, hasta ve kontrol popülasyonlarındaki genotip dağılımları arasında anlamlı düzeyde fark olduğunu göstermektedir.

### 5.3.5.3. AluI Polimorfizmi ile Hastalık İlişkisinin Araştırılması

Hasta ve kontrol gruplarının alel frekanslarının karşılaştırılması esasına dayanan asosiyasyon testi ile hastalığın oluşumunda genotipin etkisi olup olmadığı incelenmiştir. Tablo 5.6.'da verilen sonuçlara göre  $\chi^2$  (ki-kare) değeri 5,99'dan büyük ve p değeri 0,05'ten küçüktür. Bu sonuç hastalık ile polimorfizmin ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte hastalık riski için göreceli orantı (OR) değeri 1,699 bulunmuştur. Bu da polimorfizmi taşıyan bireylerin taşımayanlara oranla hasta olma riskinin 1,7 kat fazla olduğunu ifade etmektedir. %95 CI=1,316 – 2,194 arasındadır.

Tablo 5.6. PLINK ile asosiyasyon testi

SNP	BP	A1	F_A	F_U	A2	CHISQ	p	OR	L95	U95
CTR	1	T	0,5231	0,3923	C	8,956	0,002765	1,699	1,316	2,194

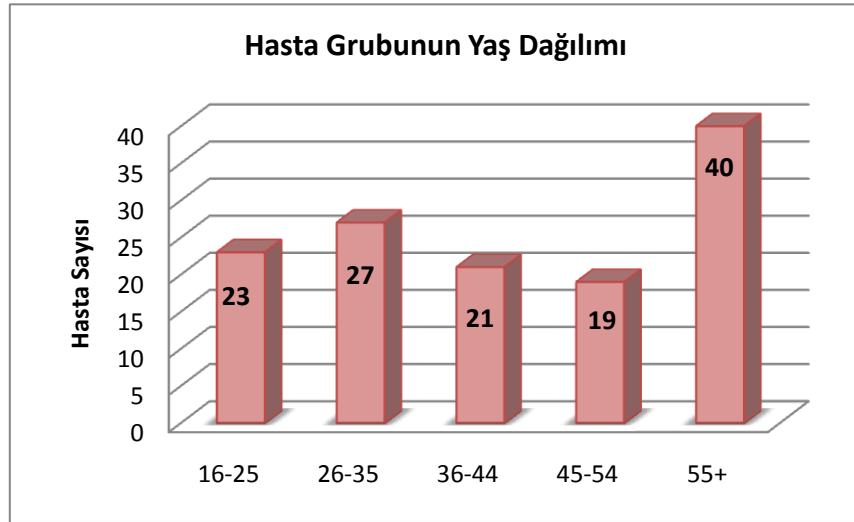
Bu sonuçlar, model asosiyasyon testi ile de doğrulanmış ve genişletilmiştir (Tablo 5.7.). GENO hasta ve kontrollerin genotiplerini karşılaştırmaktadır. TREND, Cochran-Armitage Trend testi; ALLELIC, alelik testi; DOM, dominant gen ve REC, resesif gen testlerini ifade eder. GENO, genotip sayılarını karşılaştırdığı için SPSS 13.0 ile yapılan ki-kare bağımsızlık testi ile aynı sonucu verir. GENO verilerine göre  $\chi^2$  değeri 9,825 ( $\chi^2 > 5.99$ ) ve p değeri 0,0073'tür ( $p < 0,05$ ).

Tablo 5.7. PLINK ile model asosiyasyon testi

CHR	SNP	A1	A2	TEST	AFF	UNAFF	CHISQ	DF	p
7	CTR	T	C	GENO	19/64/47	32/72/26	9,825	2	0,007353
7	CTR	T	C	TREND	136/124	102/158	9,465	1	0,002095
7	CTR	T	C	ALLELIC	136/124	102/158	8,956	1	0,002765
7	CTR	T	C	DOM	104/26	83/47	8,399	1	0,003753
7	CTR	T	C	REC	32/98	19/111	4,122	1	0,04232

#### 5.3.5.4.Yaş ve Hastalık İlişkisinin Araştırılması

Hasta grubunun yaş dağılımı incelenmiş ve Şekil 5.6.'da gösterilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarla benzer şekilde, hastalığın daha çok 55 yaş üstü bireylerde rastlandığı gözlenmiştir.



Şekil 5.6. Hasta grubunun yaş dağılımı

#### 5.3.5.5.Cinsiyet ve Hastalık İlişkisinin Araştırılması

Böbrek taşı hastalığının cinsiyetle olası ilişkisi, hasta ve kontrol gruplarındaki kadın ve erkek oranlarının (Tablo 5.8.) SPSS 13.0 programında ki-kare bağımsızlık testi ile karşılaştırılması yoluyla araştırılmıştır (Tablo 5.9.).  $\chi^2$  değeri 2,067 ( $\chi^2 < 3.84$ ) ve  $p=0.151$  ( $p > 0.05$ ) değerleri, cinsiyet ile hastalık arasında bir ilişki olmadığını göstermektedir.

Tablo 5.8. Cinsiyet ve hastalık çapraz tablosu



	Erkek	Kadın	Toplam
<b>Hasta</b>	91	39	130
<b>Kontrol</b>	80	50	130
<b>Toplam</b>	171	89	260

Tablo 5.9. Cinsiyet ve hastalık ki-kare bağımsızlık testi

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
<b>Pearson Chi-Square</b>	2,067	1	,151		
<b>Continuity Correction</b>	1,708	1	,191		
<b>Likelihood Ratio</b>	2,071	1	,150		
<b>Fisher's Exact Test</b>				,191	,096
<b>N of Valid Cases</b>	260				

\*5'ten küçük hiçbir hücre beklenmedi.  
Minimum Tahmin 44,50

### 5.3.5.6. Aile Öyküsü ve Hastalık İlişkisinin Araştırılması

Aile öyküsü ile böbrek taşı oluşumu arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla hasta bireylerden aile öyküsü olanlar ve olmayanlar gruplandırılmış (Tablo 5.10.) ve genotip dağılımı incelenmiştir (Tablo 5.11.). Sonuçlar ki-kare testi ile değerlendirilmiştir (Tablo 5.12). Beklenen ve gözlenen frekans değerleri birbirine uygundur. Ki kare değeri 3,862 bulunmuştur ve p değeri 0,145'tir. Bu sonuçlar aile öyküsü ile hastalığın ilişkili bulunamadığını göstermektedir.

Tablo 5.10. Aile öyküsü-genotip dağılımı

	Aile Öyküsü		Toplam
	Yok	Var	
CC Gözlenen	7	12	19
Beklenen	6,7	13,7	20,4
CT Gözlenen	26	38	64
Beklenen	26,7	34,5	61,2
TT Gözlenen	27	20	47
Beklenen	26,7	21,7	48,4

Tablo 5.11. Hastalık ve aile öyküsü çapraz tablosu

Aile Öyküsü	Genotip			Toplam
	CC	CT	TT	
var	12	38	20	70
yok	7	26	27	60
<b>Toplam</b>	19	64	47	130

Tablo 5.12. Polimorfizm aile öyküsü ki-kare testi

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
<b>Pearson Chi-Square</b>	3,862	2	,145
<b>Likelihood Ratio</b>	3,871	2	,144
<b>Linear-by-Linear Association</b>	3,335	1	,068
<b>N of Valid Cases</b>	130		

\*5'ten küçük hiçbir hücre beklenmedi.  
Minimum Tahmin 8,77

### 5.3.5.7. Sigara Kullanımı ve Hastalık İlişkisinin Araştırılması

Hasta ve kontrol grupları sigara içip içmediklerine göre kategorilere ayrılmışlardır (Tablo 5.13.). Sigara kullanımının böbrek taşı oluşumuna katkısı ki-kare testi ile araştırılmıştır (Tablo 5.14.).  $\chi^2$  değeri 0,016 ( $\chi^2 < 3.84$ ) ve  $p=0.9$  ( $p>0.05$ ) değerleri, sigara kullanımının hastalık oluşumuna etkisi olmadığını göstermektedir

Tablo 5.13. Sigara kullanımı ve hastalık oluşumu çapraz tablosu

	İçiyor	İçmiyor	Toplam
<b>Hasta</b>	55	75	130
<b>Kontrol</b>	54	76	130
<b>Toplam</b>	109	151	260

Tablo 5.14. Sigara Kullanımı ve Hastalık Oluşumu Ki-kare Testi

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
<b>Pearson Chi-Square</b>	,016	1	,900		
<b>Continuity Correction</b>	,000	1	1,000		
<b>Likelihood Ratio</b>	,016	1	,900		
<b>Fisher's Exact Test</b>				1,000	,500
<b>N of Valid Cases</b>	260				

## 6. TARTIŞMA

İnsan Genomu Projesi'nin başlatılmasının onuncu yılı olan 1997'ye kadar Microsoft Word programı, "Genom" kelimesi yazıldığında yazım hatası yapıldığını kabul ederek otomatik olarak "İnsan Genomu Projesi" olarak değiştiriyordu ve bu kelime insanlar arasında yeni kullanılmaya başlanmıştı. 1999 yılında, Pennsylvania Üniversitesi'nden biyoetik kuramcısı Arthur Caplan, insan kopyalama konusunda kafaları karışmış meclis üyelerine bir konuşma yapma daveti aldı. Caplan, kanun yapıcılara genomlarının nerede konumlandığını bilip bilmediklerini sordu. Katılımcıların kabaca üçte biri bu soruyu beyin diyerek cevapladı, diğer üçte birin yanıtı erbezi oldu, geri kalanlar ise emin değillerdi. Tüm bunlardan sadece 11 yıl sonra günümüzde bireylerin genomları arasındaki varyasyonlar ortaya çıkarılarak genomun ve bu varyasyonların sebep olduğu hastalıkların sırları hızla çözülmektedir.

İnsan genomunda bireyler arası varyasyon gösteren polimorfik bölgelerin incelenmesi, özellikle genetik ve çevresel faktörlerin birlikte şekillendirdiği hastalıkların sebeplerinin araştırılmasında kullanılmaktadır. Genetik polimorfizm, popülasyonun en az %1'inde belli bir gen bölgesi dizisinin bireyler arasında farklılık göstermesidir. Genlerin intronik bölgelerindeki polimorfizmler protein ürününe yansımazken, düzenleyici bölgelerdeki varyasyonlar gen ifadesinde değişimlere yol açabilirler. Eksonik değişimler ise amino asit değişimine sebep oldukları sürece protein yapısını değiştirirler. Son yıllarda gen dizilerinde sadece tek bir bazın değişimi ile tanımlanan tek nükleotid polimorfizmleri çeşitli kompleks hastalıkların mekanizmalarının aydınlatılmasında kullanılmaya başlanmıştır. Hastalıklara yatkınlıkta rol oynayan SNP'lerin ortaya çıkarılması ile uzun vadede hastalıkların önlenmesi ve yeni tedavi seçenekleri oluşturulması mümkün olabilecektir. SNP'ler genellikle restriksiyon endonükleaz enzimlerinin DNA'daki kesim dizilerini değiştirirler. Bazı polimorfizmler mevcut kesim dizisinde değişime yol açarak kesimin engellenmesi ile sonuçlanır, diğer bazı polimorfizmler ise yeni enzim kesim bölgeleri oluşturabilirler. Dolayısıyla, aynı gen bölgesinde polimorfik bazlar taşıyan bireylerin DNA'ları restriksiyon enzimleri ile kesildiğinde farklı uzunlukta

fragmentler oluşturabilirler. Bu sayede, DNA'nın restriksiyon enzimlerine tabi tutulmasıyla bireyler arasındaki nükleotid farkları ortaya çıkarılabilir ve çeşitli hastalıklarla olan ilişkileri araştırılabilir.

Üriner sistem taş hastalığı toplumda morbidite ve mortaliteye yol açan dünya çapında bir problemdir. Taş oluşumunda genetik faktörler ile birlikte çevresel etkenlerin de böbrek taşı oluşumu için oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Çevresel faktörler olarak coğrafya ve iklim şartları, beslenme alışkanlıkları, sosyo-ekonomik faktörler ve meslek grupları sayılabilir. Örneğin Avrupa'da böbrek taşı hastalığının prevalansı %5-9 iken, Kanada'da %12 ve Amerika'da %13-15'tir. Protein ağırlıklı beslenme tarzı olan Suudi Arabistan'da ise bu oran %20,1'dir (Lopez ve Hoppe, 2008). Ülkemizde de bölgesel olarak iklim ve beslenme tarzı değişmektedir ve taş hastalığının Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde daha sık görüldüğü bildirilmiştir (Adayener ve diğ., 2002). Üriner sistem taş hastalığının cinsiyete, yaşa ve en önemlisi ailesel yatkınlığa bağlı olarak da ortaya çıktığı son zamanlarda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Adayener ve diğ., 2002; Mutlu ve diğ., 2004; Mittal ve diğ., 2008; Demirel ve Adanur, 2009). Taş öyküsü bulunan ailelerde otozomal dominant kalıtım modeli önerisini destekleyen pek çok aday gen bulunmaktadır. Bu genlerden bazıları VDR, E-kaderin, interlökin, ürokinaz, p21 ve CTR genleridir. Bu genlerdeki polimorfizmlerin küçük katkıları belirlenmeye başlandıysa da, böbrek taşı oluşumuna ilişkin başlıca genetik belirteçler henüz kesinlik kazanmamıştır (Mittal ve diğ., 2008).

Hiperkalsiüri, kalsiyum içerikli taş oluşumunda en belirgin biyokimyasal belirteçtir. İdrardaki kalsiyum tuzlarının konsantrasyonunun artışıyla kalsiyum taşı oluşumu tetiklenebilir. Taş oluşumunun tekrarlandığı hastaların en az üçte birinde hiperkalsiüriye rastlanır. Bu nedenle, kalsiyum metabolizmasında görev alan genlerdeki değişimlerin incelenmesi, CaOx taşı oluşumunun genetik altyapısına dair bilgileri ortaya koyabilir. Anti-hiperkalsemik özellikleri olan ve 32 amino asitten oluşan kalsitonin, bir peptid hormondur ve kalsitonin reseptörlerini aktive eder. Kalsitonin reseptörü geni 7-geçişli transmembran G proteine bağlı reseptördür ve kalsiyum metabolizmasında rol oynayan kalsitonine cevap verir (Menon M., Bharathi, 2008). Bu nedenlerden dolayı CTR genindeki polimorfizmlerin CaOx böbrek taşı oluşumu ile ilişkisinin araştırılması anlamlı olacaktır.

Kalsitonin reseptörü geninde 11 tane polimorfizm tanımlanmasına rağmen (Wolfe ve diğ., 2003), sadece C/T polimorfizmi amino asit değişimine yol açmaktadır. Sitozin (C) – timin (T) baz değişimine yol açan bu polimorfizm, proteinde lösin amino asiti yerine prolin gelmesine neden olur. Proteinin karboksi ucundan 28 amino asit uzaklıktaki bu değişim sitoplazmik domainde meydana gelir ve G-protein bağlanmasında ve sinyal aktarımında aksaklıklara yol açarak biyolojik fonksiyonu etkileyebilir. Bu nedenle CTR polimorfizmi, kalsiyum metabolizmasını içine alan hastalıklar ile kalsitonin reseptörü geni ilişkisini ortaya çıkarmak amacıyla çalışılmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu gendeki polimorfizmin böbrek taşı oluşumu, kemik erimesi (osteoporoz) ve göğüs kanseri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. (Kang B., Kim J., Lee K., 2007)

Bu tez çalışmasında CTR genindeki AluI polimorfizminin CaOx böbrek taşı oluşumuyla bağlantısı incelenmiştir. Bu amaçla 130 CaOx böbrek taşı hastası ile 130 sağlıklı bireyin genotipleri belirlenerek karşılaştırılmıştır. Kontrol grubundaki genotip dağılımı HW dengesine uygun bulunmuştur. Hem hasta, hem de kontrol grubunda tüm genotipler (CC, CT, TT) gözlenmiştir. CaOx böbrek taşı oluşumu ile çalışılan polimorfizm arasındaki ilişki asosiyasyon testi ile araştırıldığında, Alu I polimorfizminin hastalık ile ilişkilendirilebileceği sonucu çıkarılmıştır ( $p < 0.05$ ). Görelî orantı değeri 1.699 olarak bulunmuştur (%95 C.I. = 1,316-2,194). Bu da C/T polimorfizmi varlığında bireylerin taş oluşturma olasılığının 1,7 kat fazla olduğunu ifade etmektedir.

Daha önce CTR geni polimorfizmi ile CaOx böbrek taşı ilişkisinin incelenmesi sadece üç araştırma ile sınırlı kalmış ve Türk böbrek taşı hastalarında hiç incelenmemiştir. (Tablo 7.1).

Tablo 7.1. CTR geni ve böbrek taşı hastalığı ile ilgili yapılan çalışmalar

Çalışmanın Yılı	Çalışmayı Yapan Araştırmacı	Çalışmanın Yapıldığı Ülke	Çalışmadaki Hasta/Kontrol Sayısı	P değeri
2001	Chen ve diğ.	Tayvan	102/105	< 0,05
2004	Mittal R. ve diğ.	Kuzey Hindistan	100 / 105	0,185
2005	Bid H., Chaudhary ve Mittal	Kuzey Hindistan	50/60 pediatrik grup	0,048

İlk kez 2001 yılında 105 sağlıklı ve 102 tekrarlayan taş oluşumu gözlenen Tayvan'lı hasta ile yapılan çalışmada CaOx taşı oluşumu ile Alu I polimorfizmi arasındaki ilişki gösterilmiş ( $p < 0.05$ ) ve lösin aleli için hesaplanan görelî orantı

değeri 5,6 (%95 C.I.: 2.286-13.885) olarak bulunmuştur (Chen ve diğ. 2001). İncelenen kontrol popülasyonunda TT (lösün) homozigotlarına rastlanmamış, hasta popülasyonunda ise bu oran %2 olarak bulunmuştur. Ancak bu popülasyondaki CT heterozigotlarının oranı %5,7 iken TT homozigotlarının hiç görülmemesi alışılmadık dışındadır. Bu durumda popülasyondaki heterozigotların varlığı sorgulanmalıdır. Olası sebepler kontrol popülasyonuna dahil edilen birey sayısının yeterli olmayışı ya da restriksiyon alellerinin jel üzerinde doğru yorumlanmaması olabilir.

Mittal ve diğ.'nin 105 sağlıklı ve 100 tekrarlayan taş oluşumu gözlenen Kuzey Hintli hasta ile yaptıkları asosiyasyon çalışmasında ise polimorfizm ile taş oluşumu arasında bir ilişki kurulamamıştır ( $p>0.05$ ). İncelenen Kuzey Hintli taş hastalarında TT genotipi %13 oranında görülürken sağlıklı popülasyonda bu oran %6'dır; ancak bu fark istatistiki önem için yeterli olmamıştır (Mittal ve diğ.,2004)

C/T polimorfizmi ile taş oluşumu ilişkisini araştıran üçüncü çalışma ise 50 Kuzey Hintli pediatrik CaOx taşı hastası ile aynı yaşlardaki 60 sağlıklı birey ile gerçekleştirilmiştir (Bid ve diğ, 2005). Bu çalışmada polimorfizm ile taş oluşumu ilişkisi bulunmuş ve lösün aleli için göreceli orantı değeri 1.99 olarak hesaplanmıştır (%95 C.I.:0.9-4.39). Ancak elde edilen p değerinin 0.048 olması bu sonuca temkinli yaklaşılması gerekliliğini ortaya koyar. İncelenen bu Kuzey Hintli popülasyonunda TT homozigotları hastalarda %10, sağlıklı bireylerde ise %4 oranındadır.

Nakamura ve diğ.'nin 117 sağlıklı birey ile yaptıkları genotipleme çalışmasında sadece 1 adet TT homozigot bireye rastlamışlardır, CC ve CT genotipleri sırasıyla %80 ve %18,9 oranlarında görülmüştür. Japonya'da C alelinin majör alel olduğu tespit edilmiştir (Nakamura ve diğ., 2007).

Yapılan çalışmalardan anlaşılacağı gibi, CTR genotip dağılımı farklı etnik gruplarda değişiklik gösterebilmektedir. Bu çalışmaya dahil edilen kontrol grubu genotipleri, SNP veritabanında bildirilen genotiplerle karşılaştırılmış ve Tablo 7.2.'de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre çalışmamızda elde edilen genotip dağılımı en fazla Japonlar ile benzerlik göstermiştir.

Tablo 7.2. C/T polimorfizminin popülasyon dağılımı

Polimorfizm	Genotip Frekans			Alelik Frekans		
	Populasyon	CC	CT	TT	C	T
CTR geni C/T Polimorfizmi	Kontrol	0,250	0,550	0,200	0,52	0,48
	Avrupa	0,800	0,183	0,017	0,89	0,11
	Asya (Pekin/Çin)	0,356	0,444	0,2	0,58	0,42
	Asya (Japonya)	0,295	0,523	0,182	0,56	0,44
	Afrika	0,932	0,068		0,97	0,03

Yapılan çalışmalarda böbrek taşı hastalığının prevalansının 50 yaş üstünde arttığı gösterilmiştir (Demirel ve Adanur, 2009, Curhan, 2007). Çalışmamızda da hasta grubunun yaş dağılımı incelendiğinde 55 yaş üstü bireylerin diğer sonuçlar ile uyumlu olarak daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Böbrek taşı oluşturmanın cinsiyet ile ilişkisi pek çok çalışmada araştırılmıştır (Demirel ve Adanur, 2009; Adayener ve diğ., 2007; Akıncı, Esen ve Tellaloğlu, 1991; Adayener ve diğ., 2002; Curhan, 2007). Bu çalışmada CaOx taş oluşumunun cinsiyetle ilişkisi bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Erkek/kadın oranı popülasyonlara göre değişiklik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda Almanya'da bu oran 1,4 iken, İran'da 1,9 ve Hindistan'da 2,1'dir. Türkiye'de bu oran 1,5 olarak belirtilmiştir (Demirel ve Adanur, 2009). Bu çalışmada ise erkek/kadın oranı 2,3 olarak tespit edilmiştir.

Böbrek taşı hastalığının oluşumunda çevresel faktörlerin, özellikle de sigara kullanımının oldukça etkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Tefekli ve diğ., 2005). Bu doğrultuda, hastaların ve sağlıklı bireylerin sigara içme alışkanlığı sorgulanmış ve veriler istatistiksel olarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çalışmaya dahil edilen popülasyonda böbrek taşı oluşumu ile sigara kullanımı arasında bir ilişki bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). VDR polimorfizmleri ile taş oluşumu ilişkisinin araştırıldığı diğer bir tez çalışmasında da sigara içimi ile hastalık ilişkilendirilememiştir (Çakır, 2008: 86). Buna ek olarak, aile öyküsü de taş oluşumu ile ilişkili bulunmamıştır. Bu sonuç da, yukarıda belirtilen ve 98 böbrek taşı hastası ile yapılan tez çalışması sonuçları ile uyumludur.

Böbrek taşı hastalığının prevalansı son yıllarda çeşitli çevresel faktörlerin etkisiyle artmaktadır. Taş oluşumunda genetik yatkınlığa yol açan polimorfik gen lokuslarının ortaya çıkarılması sonucunda bu polimorfizmlerin genetik belirteç olarak kullanılması ve popülasyon taramaları yapılarak yüksek risk gruplarının belirlenmesi mümkün olabilir. Bu yüksek risk grubuna dahil olan bireylerde beslenme, meslek grubu, yaşanılan çevre gibi koşullar da düzelterek bireylerde taş oluşumu engellenebilir. Dolayısıyla taş oluşumuna katkıda bulunan genetik altyapıların belirlenmesi, toplum sağlığının daha iyiye ulaştırılmasında, hastalığın önlenmesi ve tedavisi için doğru yöntem ve tedavilerin belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Ülkemizde de prevalansı oldukça yüksek olan taş hastalığı ile ilgili

olarak bu yönde yapılacak çalışmalar ileriki nesillerin daha sağlıklı ve bilinçli olması yolunda verilerin ortaya konmasını sağlayacaktır.



## 7.KAYNAKLAR

### 7.1.Kitap

Müslümanoğlu A., Esen T. ve Tefekli A. (2007). *Üriner Sistem Taş Hastalığı*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Macfarlane T. (2006). *Üroloji*. (3. Baskı). Güneş Kitabevi.

Özdemir O. (2006). *Medikal İstatistik*, İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık.

Turner P., McLennan A., Bates A., White M. (2004). *Moleküler Biyoloji Önemli Notlar*, Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.

Temizkan G., Yılmaz S., Öztürk M., Arı Ş., Ertan H., Sarıkaya A., Arda N. (2004) *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Demirel A. (Ed). (2009). *Üroloji*, Türkiye Klinikleri Üriner Sistem Taş Hastalığı Özel Sayısı

### 7.2.Makaleler

Adayener C., İşeri C., Şenkul T., Kardemir K., Baykal K., Erden D., (2002) Tekrarlayan Taş Hastalığı: Epidemiyolojik Bir Araştırma Türk Üroloji Dergisi 28 (4): 428-436

Ali S., Mahnaz S., Mahmood T., (2008) RGDE Method Forensic Science International: Genetics Supplement Series 1 63–65

Becherini L., Gennari L., Colli E., Mansani R., Falchetti A., Cepollaro C., Gonnelli S., Tanini A., Brandi M., (1998) Allelic Variants of Human Calcitonin Receptor: Distribution and Association with Bone Mass in Postmenopausal Italian Women Biochemical and Biophysical Research Communications 245, 622–626

Bellizzi V, De Nicola L, Minutolo R, Russo D, Cianciaruso B, Andreucci M, Conte G, Andreucci V (1999). Effects of water hardness on urinary risk factors for kidney stones in patients with idiopathic nephrolithiasis Nephron.81 Suppl 1:66-70

Bid H., Chaudhary H., Mittal R., (2005) Association of vitamin-D and calcitonin receptor gene polymorphism in paediatric nephrolithiasis Pediatr Nephrol 20:773–776

Cappuccio F., Strazzullo., Mancini M. (2005)Kidney stones and hypertension population based study of an independent clinical association 1990;300:1234

Coe F., Evan A., Worcester E., Kidney stone disease The Journal of Clinical Investigation Volume 115 Number 10

Curhan G.,(2007) Epidemiology of Stone Disease (2009) Urol Clin North Am. August ; 34(3): 287–293

Curhan G., Willett W., Rimm E., Speizer F., Stampfer M., (1998) Body Size and Risk of Kidney Stones, Journal of American Society Nephrol 9: 1645-1652,

Curhan G., Willett W., Rimm E., Stampfer M., (1997) Family History and Risk of Kidney Stones Journal of the American Society of Nephrology

Çiçek M., Liu X., Schuacher F., Casey G., Witte J., (2006) Vitamin D receptor genotypes/haplotypes and prostate cancer risk, Cancer Epidemiol Biomarkers 15(12).

Demirel A. ve Adanur Ş.,(2005) Üriner Sistem Taş Hastalığı Epidemiyolojisi; 2(3):1-5

Elaine M. Worcester MD., Fredric L. Coe MD. (2008) Nephrolithiasis Prim Care. 35(2): 369–vii.

Embon OM, Rose GA, Rosenbaum T. (1990) Chronic dehydration stone disease Br J Urol. Oct;66(4):357-62.

Erden D., Karaduman A., Yurter H., (2007) Polymorphisms of vitamin D receptor gene in Turkish familial psoriasis patients Arch Dermatol Res.

Hiatt R., Ettinger B., Caan B., Quesenberry C., Duncan D., Citron J. (1996) Randomized Controlled Trial of a Low Animal Protein, High Fiber Diet in the Prevention of Recurrent Calcium Oxalate Kidney Stones American Journal of Epidemiology 144:25-33,

Fromberg M.(1992) Diet and calcium stones, Can Med Assoc Journal; 146 (11)

Menon M.ve Bharath, (2008) Single Nucleotide Polymorphism of Calcitonin Receptor Gene in South Indians Int J Hum Genet, 8(3): 273-276

Mittal R., Bid H., Kumar R., Kumar A., Bhandari M., (2004) Is Calcitonin Receptor Gene (CTR) Polymorphism an Appropriate Marker for Calcium Oxalate Urolithiasis? Int J Hum Genet, 4(1): 57-60

Mittal R., Bid H., Manchanda P., Kapoor R., (2008) Predisposition of genetic polymorphism with the risk of urolithiasis Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2008 / 23 (2) 106-116

Mutlu N., Özkan L., Duman C., Eralp M., Meral H., Gökalp A., (2004) Tekrarlayıcı Taş Hastalığı Olanlarda Metabolik Değerlendirme Sonuçları

Türk Üroloji Dergisi: 30 (2): 230-234

Nakamura M., Zhang Z., Shan L., Hsai T., Sasaki M., Tsukino Z., Yokoi T., Kerame A. ve Kakudo K., (1997) Allelic Variants of Human Calcitonin Receptor in Japanese population, *Human Genet.* 99: 38-41

Öztürk M., Kordan Y., Cangül H., Doğan H., Kılıçarslan H., Vuruşkan H., Oktay B., (2008) Association of urokinase gene 3'-UTR T/C polymorphism with calcium oxalate urolithiasis in children *Int Urol Nephrol* 40:563–568

Parry ES, Lister IS (2006) Sunlight and hypercalciuria

Review Article Renal stone disease: Causes, evaluation and medical treatment *Endocrinol Metabolism* 2006;50/4:823-831

Renkema K., Lee K., Topala C., Goossens M., Houillier P.,(2009) TRPV5 gene polymorphisms in renal hypercalciuria *Nephrol Dial Transplan*24: 1919-1924

Sarıdoğan M. Ve Özkul İ. (2003) Statinlerin Kemik Üzerine Etkileri, Osteoporoz Dünyasından9 (3): 114-119

Serio A, Fraioli A. (1999) Epidemiology of nephrolithiasis *Nephron.*; 81 Suppl 1: 26-30

Soucle M., Coates R., McClellan W., Austin H., Thun M., (2008) Relation between Geographic Variability in Kidney Stones Prevalence and Risk Factors for Stones, *American Journal of Epidemiolog*, Vol. 143, No. 5

Strazzullo P, Cappuccio FP.(1995) Hypertension and kidney stones: hypotheses and implications *Semin Nephrol.* Nov;15(6):519-25.

Taylor E., Stampfer M., Curhan G., (2004) Dietary Factors and the Risk of Incident Kidney Stones in Men: New Insights after 14 Years of Follow-up *Journal American Society Nephrol* 15: 3225–3232

Tefekli A., Tok A., Altunrende F., Barut M., Berberoğlu Y., Müslümanoğlu A., (2005) Üriner sistem taş hastalarında yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıkları *Türk Üroloji Dergisi*: 31 (1): 113-118

Thorleifsson, G. ve diğ., (2009). Sequence variants in the CLDN14 gene associate with kidney stones and bone mineral density., *Nat. Genet.* 41, 926–930

Toit P., Aswegen V., Steinmann C., Klue L., Plessis D., (2003) Does urokinase play a role in renal stone formation? Volume 49, Issue 1, Pages 57-59

Taboulet J., Frenkian M., Frenco J., Feingold N., Jullien A., ve Vernejoul M., Calcitonin Receptor Polymorphism is associated with a decreased fracture

risk in post-menopausal women Human Mol. Genetics, 1998, Vol. 7, No: 13, 2129-2133

Tripputi P., Blasi F., Verde P., Cannizzaro L., Emanuel B., Croce C., (1985) Human urokinase gene is located on the long arm of chromosome 10 Proc. Nati. Acad. Sci. USA Vol. 82, pp. 4448-4452,

Tsai F., Lin C., Lu H., Chen H., Chen W., (2002) Urokinase Gene 3'-UTR T/C Polymorphism is Associated with Urolithiasis Urology 59: 458-461, Elsevier Science Inc.

Uitterlinden A. ve diğ., (2006) The Association between Common Vitamin Receptor Gene Variations and Osteoporosis: A Participant-Level Meta-Analysis, Ann Intern Med. 145:255-264.

Uitterlinden A., Fang Y., Meurs J., Pols H., Leewen J. (2004) Genetics and biology of Vitamin D receptor polymorphism, Gene 338 143-156

Wabner CL, Pak CY. (1993) Effect of orange juice consumption on urinary stone risk factors J Urol. Jun;149(6):1405-8.

Wu ve diğ., (2009) Genetic variation in the prostate stem cell antigen gene PSCA confers susceptibility to urinary bladder cancer, Nat. Genet. 41, 991-995

Yapanoğlu T., ve Okyar G. (2009) Kalsiyum Oksalat Taş Hastalığı; 2(3):20-5

Zajickoa K. ve Zofkova I., (2003) Osteoporosis: Genetic analysis of multifactorial disease. Endocrine regulations Vol 37, 31-44

### 7.3. İnternet

Purcell, S., Plink: Whole genome data analysis toolset. Haziran, 2010  
Erişim: <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink>

Wikipedia. Haziran, 2010  
[www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)

National Center for Biotechnology Information. Haziran, 2010  
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>)

### 7.4. Yararlanılan Tezler

Çakır Ö., 2008, *Türk Kalsiyum oksalat Böbrek Taşı Hastalarında Vitamin D reseptörü polimorfizmlerinin analizi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü .

## **8. ÖZGEÇMİŞ**

1980 yılında İstanbul'da doğan Özlem Üliç Çatar, 1998 yılında Kabataş Erkek Lisesi'nden mezun oldu. Lisans eğitimini Uludağ Üniversitesi Biyoloji Bölümünde tamamladı. Yüksek Lisans eğitimine Haliç Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde devam etti.