T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HEMODİYALİZ SÜRECİNDE DNA TAMİR ENZİM APE1 ve OGG1 EKSPRESİYONUNUN İNCELENMESİ

MANOUCHEHR ROSTAMİ

DANIŞMAN
PROF.DR .MEHMET GÜVEN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Biyoloji Programı

Haziran, 2022

TEZ KABUL VE ONAYI

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

MANOUCHEHR ROSTAMİ

Bu süreç boyunca beni destekleyen ve en önemlisi sabırla beni ilerlemeye teşvik eden sevgili aileme ithaf ediyorum.

BÜTÇE DESTEKLERİ

HEMODİYALİZ SÜRECİNDE DNA TAMİR ENZİM APE1 ve OGG1 EKSPRESİYONUNUN İNCELENMESİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 35667

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her zaman ve her koşulda desteğini yanımda hissettiğim, değerli bilgi birikimlerini ve deneyimlerini benimle paylaşan tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Mehmet GÜVEN'e,

Eğitimimde ve tezimde bana her türlü konuda yardım eden Anabilim Dalı Başkanımız Sn. Prof. Dr. Turgut ULUTİN'e ve Anabilim Dalı'mızın tüm değerli Öğretim Üyelerine,

Tez çalışmamın gerçekleşmesi için gerekli örneklerin temininde emeği geçen Nefroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sn. Prof.Mehmet Rıza Altıparmak'a,

Çalışma arkadaşım Elif Çitak'a

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve beni her konuda destekleyen canım aileme teşekkür ediyorum,

Haziran 2022 MANOUCHEHR ROSTAMİ

İÇİNDEKİLER

BEYAN .....İ

İTHAF.....İİ

BÜTÇE DESTEKLERİ.....İİİ

TEŞEKKÜR.....İV

İÇİNDEKİLER.....V

TABLOLAR LİSTESİ.....Vİİİ

ŞEKİLLER LİSTESİ.....İX

SEMBÖLLER.....X

ÖZET.....Xİ

ABSTRACT.....Xİİ

1.GİRİŞ.....1

2.KAVRAMSAL ÇERÇEVE.....3

2.1. Böbrek Yapı, Fonksiyonları ve Yetmezliği.....3

2.1.1 Böbrek Yapı ve Fonksiyonları 3

2.1.2..Böbrek yetmezliği.....4

2.1.3..Akut yetmezliği.....4

2.1.4.Kronik böbrek yetmezliği.....4

2.1.4.1. KBY Etiyolojis ve Epidemiyolojisi.....5

2.1.4.2 .KBY Risk Faktörleri…….....5

2.1.4.3. KBY Patogenezi.....6

2.1.4.4. KBY'nin Klinik Özellikleri.....6

2.1.4.5.KBY Progresyonunda Etkili Faktörler.....7

2.1.4.6..KBY Tedavi Yöntemleri.....8

2.1.4.6.1..Diyaliz.....9

2.1.4.6.2...Hemodiyaliz ve Öne Çıkan Yönleri.....9

2.2..Oksidatif stres.....12

2.3.Reaktif oksijen türleri..... 12

2.3.1. Reaktif oksijen türlerinin kaynakları.....13
2.3.2. Reaktif oksijen türlerinin etkileri.....13
2.4. Kronik Böbrek Yetmezliği ve Oksidatif Stres.....15
2.4.1.Diyaliz Membranın Etkileri.....15
2.5.Oksidatif Stres ve DNA Hasarı.....15
2.6.DNA Onarım Mekanizmaları.....16
2.6.1.Direkt Onarım.....16
2.6.2.Nükleotidlerin Kesilip ve Çıkarılma Yöntemi 17
2.6.2.1..BER Mekanizması.....17
2.6.2.2NER Mekanizması.....18
2.6.2.3.Yanlış Eşleşme Mekanizması(MisMatch Repair).....18
2..4.DNA Zincir Kırıklarının Onarımı.....19
2.4.1.Tek Zincir Kırık Onarımı.....19
2.4.2.Çift Zincir Kırıkların Onarımı.....20
2.4.2.1.Hemolog Rekombinasyon.....20
2.4.2.2.Hemolog Olmayan Uç Birleşme Onarımı.....20
2.5. APE1 Geni ve Proteini.....21
2.6. OGG1 Geni ve Proteini.....21
3. YÖNTEM.....23
3.1. Çalışma grubu.....23
3.2. Kullanılan Cihazlar.....23
3.3. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler …….……..……...……24
3.4.Periferik Kandan Lenfosit İzolasyonu…..……..……..…...…24
3.5.RNA İzolasyonu……..……..……..25
3.5.1. Total RNA Konsantrasyonunun ve Saflığının Ölçülmesi……25
3.6. QRT-PCR Yöntemi Kullanılarak APE1 ve OGG1 Gen İfade Düzeylerinin Kantitatif Olarak Saptanması…….…….25
3.6.1.RT-PCR……...……26
3.6.2. QPCR …….27

3.7. İstatistiksel Analiz……28

4.BULGULAR.....29

4.1 Çalışma Hastaların Demografik ve Klinik Verileri.....29

4.2. APE1 ve OGG1 mRNA Ekspresyon Düzeyleri.....30

4.3.Hemodiyaliz Tedavisi Öncesi ve Sonrası APE1 mRNA İfade Düzeyleri İle Labratuar Verilerin Korelasyonu.....33

4.4.Hemodiyaliz Tedavisi Öncesi ve Sonrası OGG1 mRNA İfade Düzeyleri İle Labratuar Verilerin Korelasyonu.....33

5.TARTIŞMA 35

6. SONUÇ VE ÖNERİLER……..37

KAYNAKLAR.....38

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI……42

ETİK KURUL İZİN YAZISI……43

ÖZGEÇMİŞ……..…44

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: cDNA sentezi için gerekli olan karışım içeriği…….....….....…….…….....26

Tablo 3-2: Reaksiyon döngüleri …….....…….…..…….....27

Tablo 3-3: ACTB prob ve primerlerinin özellikleri……...…….……...27

Tablo 3-4: APE1 prob ve primerlerinin özellikleri…….....27

Tablo 3-5: OGG1 prob ve primerlerinin özellikle…….....….…….28

Tablo 3-6: qPCR'ın sıcaklık döngüsü…….…….…..……..28

Tablo 4-1: Kronik böbrek yetmezliği hastalarının demografik ve klinik verileri.....29

Tablo 4-2: Kontrol grubunda ve diyaliz öncesi ve sonrası gruplarda APE1 ve OGG1 mRNA ifade düzeyleri…….....……...…30

Tablo 4-3: APE1 geninin diyaliz öncesi ve kontroldeki ifade değerleri……..…..……31

Tablo 4-4: APE1 geninin diyaliz sonrası ve kontroldeki ifade değerleri…..…….....32

Tablo 4-5: OGG1 geninin diyaliz öncesi ve kontroldeki ifade değerleri…..…..……..32

Tablo 4-6: OGG1 geninin diyaliz sonrası ve kontroldeki ifade değerleri.....32

Tablo 4-7: APE1 mRNA ekspresyonunun hastaların klinik verileri ile korelasyonları…...33

Tablo 4-8: OGG1 mRNA ekspresyonunun hastaların klinik verileri ile korelasyonları…..34

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Böbreğin önemli işlev yapan bölümleri, ...,....3

Şekil 2-2:, diyaliz makinesi ve hasta kanının dolaşım yolakları.....10

Şekil 2-3: ROS nedenlerinden iç ve dış kaynakları.....13

Şekil 2-4:, Oksidatf stres KBY ve kalp arızalarına neden olur-.....15

Şekil 2.5:, BER ve NER onarım mekanizmaları.....17

Şekil 2.6: UV etkisi altında DNA bazlarında oluşan kırık ve enzim aracılığıyla tamir mekanizması oluşur.....18

Şekil 2.7: Yanlış eşleşme onarımı ve ilgili proteinler.....19

Şekil 2.8: Hemolog ve hemolog olmayan rekombinasyon tamiri.....20

Şekil 2.9: *APE1* genini oluşturan bölümler.....21

Şekil 2.10 OGG1 geni ve farklı kısımlarının işlevleri.....22

Şekil-4-1: Çalışma gruplarındaki APE1 ve OGG1 ifade düzeyleri……31

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

KBY	Kronik Böbrek Hastalığı
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
AP	Apürinik/Apirimidinik
APE1	Apürinik/apirimidinik
NO	Nitrik Oksit
BER	Baz Kesip Çıkarma Tamiri
NER	Nökleotid Kesip Çıkarma Tamiri
HNEJ	Homolog olmayan uç birleştirme
HD	Hemodiyaliz
OS	Oksidatif Stres
SDBY	Son Dönem Böbrek Yetmezliği
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
qPCR	Kuantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu
qRT-PCR	Kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
DHY	DNA Hasar Yanıtı
OGG1	8-Oxoguanine glycosylase
GFH	Glomerüler Filtrasyon Hızı ,
PARP1	Poly (ADP-riboz) polimeraz 1

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HEMODİYALİZ SÜRECİNDE DNA TAMİR ENZİM APE1 ve OGG1 EKSPRESİYONUNUN İNCELENMESİ

MANOUCHEHR ROSTAMİ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Biyoloji Programı

Danışman : PROF.DR.MEHMET GÜVEN

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), genel olarak yetişkin popülasyonunda ve özellikle diyabet ve hipertansiyonu olan kişilerde yaygın olarak görülen ilerleyici nitelikte bir hastalıktır. KBY tedavisinde kullanılan diyaliz yöntemi, kreatinin, üre gibi atık ürünlerin ve kandaki serbest suyun uzaklaştırılmasını sağlar. Böbreklerin fonksiyon yetersizliği makrofajları, vasküler hücreleri ve çeşitli glomerüler hücreleri serbest radikaller üretmek için aktive ederek oksidatif stres oluşturur. Ayrıca diyaliz işleminde kullanılan diyaliz membranlarının da oksidatif stres oluşturduğu gösterilmiştir.

Oksidatif stres biyomoleküllere zarar verir. Bu biyomoleküllerden olan DNA'da oluşan hasarlar, spesifik DNA tamir mekanizmaları ile tamir edilmektedir. APE1 ve OGG1 enzimleri, bu tip hasarların tamirinden sorumlu BER (baz kesip-çıkarma tamir) mekanizmasında işlev gören enzimlerdir. Çalışmamızda diyaliz tedavisi gören toplam 35 KBY hastasının diyaliz öncesi ve diyaliz sonrası APE1 ve OGG1 mRNA ifade düzeyleri, 37 sağlıklı kontrol grubunun değerleri ile karşılaştırıldı. Ayrıca APE1 ve OGG1 mRNA ifade düzeyleri ile hastaların laboratuvar değerleri arasındaki ilişkide araştırıldı. APE1 ve OGG1 mRNA ifade düzeyleri, kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR=Real-Time Quantitative Reverse Transcription PCR) yöntemiyle tespit edildi. APE1 mRNA ifade düzeyleri açısından kontrol grubu (0,37 ± 0,08) ile diyaliz öncesi grup (0,24 ± 0,08, p=0.24) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmezken, diyaliz sonrası grupta ifade düzeyleri (0,06± 0,02; p=0.0001) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olarak tespit edilmiştir. OGG1 mRNA ifade düzeyleri açısından kontrol grubu (0,21 ± 0,07) ile diyaliz öncesi (0,0024 ± 0,0005; p=0.0001) ve sonrası gruplar (0,0009 ± 0,0001; p=0.0001) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olarak tespit edilmiştir. KBY olan hastalardaki BER tamir mekanizmasındaki bozukluklar, DNA hasarlarının tamirinde yetersizliğe yol açarak, doku ve organ sistemlerinin yetersizliğe yol açabilir.

Haziran 2022 . 56 sayfa

Anahtar kelimeler: Kronik böbrek yetmezliği, Hemodiyaliz, DNA hasarı, APE1, OGG1

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF DNA REPAIR ENZYME APE1 and OGG1 EXPRESSION IN THE PROCESS OF HEMODIALYSIS

MANOUCHEHR ROSTAMİ

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Medical Biology

Medical Biology Program

Supervisor :PROF.DR.MEHMET GÜVEN

Chronic kidney failure (CKD) is a progressive disease that is common in the adult population in general and especially in people with diabetes and hypertension. The dialysis method used in the treatment of CRF ensures the removal of waste products such as creatinine, urea and free water in the blood. The dysfunction of the kidneys creates oxidative stress by activating macrophages, vascular cells and various glomerular cells to produce free radicals. It has also been shown that dialysis membranes used in the dialysis process also create oxidative stress.

Oxidative stress damages biomolecules. Damages in DNA, which is one of these biomolecules, are repaired by specific DNA repair mechanisms. APE1 and OGG1 enzymes are enzymes that function in the BER (base excision-repair) mechanism responsible for the repair of this type of damage. In our study, pre-dialysis and post-dialysis APE1 and OGG1 mRNA expression levels of 35 CRF patients receiving dialysis treatment were compared with the values of 37 healthy controls. In addition, the relationship between APE1 and OGG1 mRNA expression levels and the laboratory values of the patients was investigated. APE1 and OGG1 mRNA expression levels were determined by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR=Real-Time Quantitative Reverse Transcription PCR) method. When the control group (0.37 ± 0.08) and the pre-dialysis group (0.24 ± 0.08, p=0.24) were compared in terms of APE1 mRNA expression levels, no statistically significant

difference was found, while the expression levels in the post-dialysis group (0.06 ± 0.02; p=0.0001) was found to be statistically significantly lower. When the control group (0.21 ± 0.07) and pre-dialysis (0.0024 ± 0.0005; p=0.0001) and post-dialysis groups (0.0009 ± 0.0001; p=0.0001) were compared with the control group (0.21 ± 0.07) in terms of OGG1 mRNA expression levels, was found to be statistically significantly low. Defects in the BER repair mechanism in patients with CRF may lead to failure in the repair of DNA damage, leading to insufficiency of tissue and organ systems.

Hazian 2022. 56 pages

Keywords: Chronic Renal Failure, Hemodialysis, DNA Damage,APE1,OGG1

1. GİRİŞ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), böbrek yapısını ve işlevini etkileyen heterojen bozukluklar için kullanılan genel bir terimdir. Hastalık süreci ve yönetimi, glomerüler filtrasyon hızı (GFH) ve albüminüri verileri ile değerlendirilen hastalık şiddet evreleri ve klinik tanıya (neden ve patoloji) göre sınıflandırılır (1). Hastalık süreci, aylar içinde böbrek yetmezliğine yol açabilir. Bununla birlikte, hastalık genellikle on yıllar içinde gelişir ve hastalar uzun yıllar süren takiplerle, süreç diyaliz gereksinimi olmadan devam ettirebilir. Diğer yandan, hasta bulguları kötüleştiğinde sadece diyaliz veya transplantasyon ile tedavi edilebilir. Bu şekilde tedavi gereksinimi duyan böbrek yetmezliği, son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olarak adlandırılır.

Türkiye'de KBY prevalansı %15,7'dir. Kardiyovasküler risk faktörleri, KBY hastalarında anlamlı olarak daha yaygındır (2). Diğer yandan, KBY'ne neden olan birçok faktör vardır; Hipertansiyon, diyabet, kronik glomerülonefrit, polikistik böbrek hastalığı, insterstiyel nefritler ve Obstriktif Üropati (3).

SDBY olan hastalara uygulanan hemodiyaliz tedavisi, kandaki zararlı maddelerin hemodiyaliz ile temizlenmesidir. Hastanın kanı, hemodiyaliz cihazındaki diyalizör diye adlandırılan filtreden geçerken zararlı maddeler temizlenir, sıvı ve solüt dengesi düzenlenerek hasta vücuduna geri verilir. Bu sırada kan pıhtılaşmasını önlemek için sulandırcı kullanılır.

SDBY hastaları, anöreksi, yetersiz beslenme, malabsorbsiyon ve iltihaplanma gibi çeşitli durumlardan etkilenir (4). Hemodiyaliz alan hastanın antioksidan mekanizması bozulduğu, reaktif oksijen türevlerinde (ROT) artış olduğu ve dolayısıyla, oksidatif stresin arttığı bildirilmiştir. Diyaliz tedavisinin süresi, demir infüzyonu, anemi ve biyouyumsuz diyalizörler, oksidatif stresin gelişimini tetikleyen faktörler arasında sayılabilir (5). Hemodiyaliz prosedürü, güçlü bir prooksidan reaktif oksijen molekülüloluşumunu destekler (6). Oksidatif strese yol açan ROT'lar, proteinler, lipidler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi biyomoleküllerin oksidasyonunu ve müteakip hasarını tetikler. Oksidan moleküller, böbrek iskemisini tetikleyerek glomürel hasara, hücre ölümüne ve apoptoza neden olur ve ayrıca ciddi inflamatuar süreci uyararak ilerleyici böbrek hasarına katkıda bulunur (7).

İnsan vücudundaki hücrelerde, günde on binlerce DNA hasarının meydana geldiği tahmin edilmektedir (8). Hücreler, farklı DNA hasar türlerini tamir etmek için bir DNA onarım mekanizmalar ağı geliştirmiştir. Hasar meydana geldiğinde, DNA hasarını algılayan

ve onaran DNA hasar yanıtı (DHY) olarak bilinen oldukça koordineli bir olaylar dizisi başlatılır.

Oksidatif DNA hasarlarının tamiri, baz kesip çıkarma tamir (BER) mekanizması ile yapılır. OGG1 ve APE1 enzimleri, BER tamir mekanizmasında görev yapan enzimlerdir. BER tamir sürecinde rol oynayan DNA glikozidazlar, hasarlanmış nükleotidteki bazı keserek çıkartır; bazsız bir bölge olan ve AP (apürinik/apirimidinik= bazsız) bölgesi olarak adlandırılan bir bölge oluşur. Hasarlanmış nükleotid tipine göre görev yapan birçok DNA glikozidaz enzimi vardır. OGG1 geni, 3p26.2'de lokalizedir ve reaktif oksijen türlerine maruz kalmanın neden olduğu DNA'daki başlıca mutajenik baz lezyonu olan 8-okso-guanini (8-oxoG) çıkaran bir DNA glikozidaz enzimi olan OGG1'i kodlar.

İnsan APE1 geni, 14q11.2-q12' de lokalizedir ve apürinik/aprimidinik endonükleaz1 (APE1)'ı kodlar. APE1 enzimi DNA glikozidazların işlevlerinden sonra ortaya çıkan AP bölgelerden arta kalan hasarlı bazsız nükleotidin uzaklaştırılmasında rol oynar.

DNA hasarlarına karşı verilen yanıt mekanizmalarının hastalık süreçlerinde anlaşılması için yapılan klinik çalışmalar, hastalık sürecinin takip edilmesi ve tedavi yöntemlerinin geliştirmesi için çok önemlidir. Bu araştırmada, hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda BER mekanizmasında rol oynayan APE1 ve OGG1 genlerinin ifade düzeylerini diyaliz öncesi ve sonrasında tespit edeceğiz ve ayrıca normal değerler ile karşılaştıracağız. Bulgularımızın hemodiyaliz süreci ile DNA hasar ve tamir süreç ilişkilerine ışık tutacağını umuyoruz.

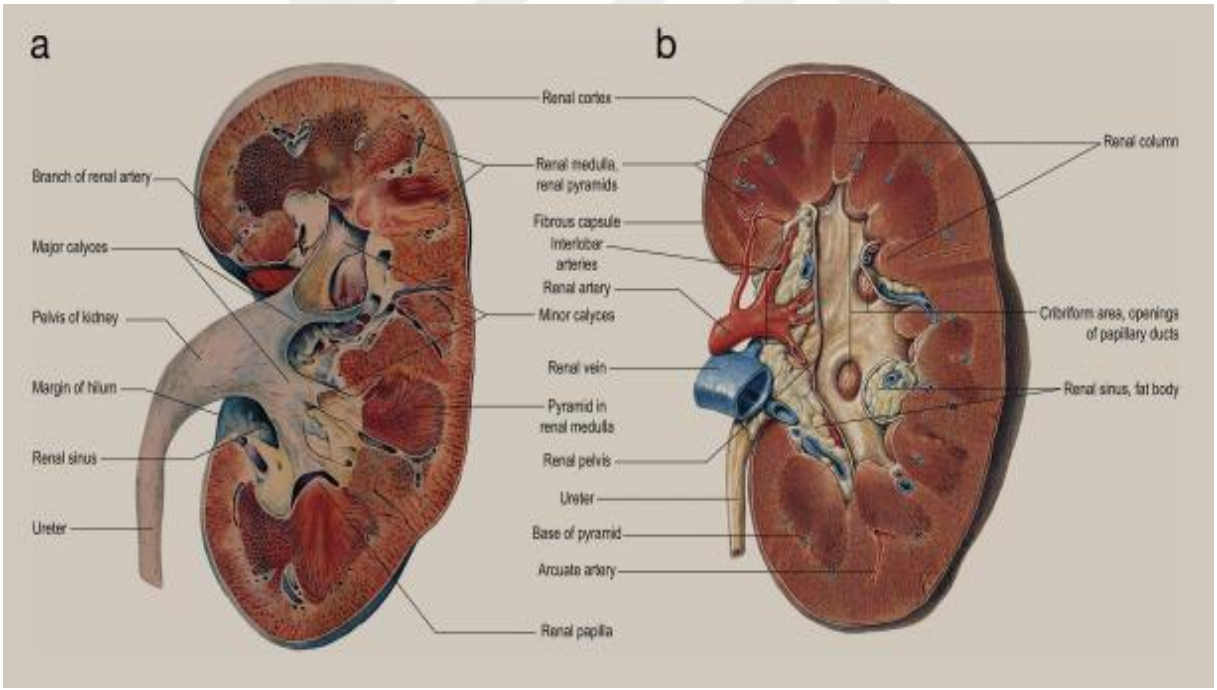
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. Böbrek Yapı, Fonksiyonları ve Yetmezliği

2.1.1. Böbrek Yapı ve Fonksiyonu

Böbrekler, omurgalılarda bulunan kırmızımsı kahverengi renkte, fasulye şeklindeki organımızdır. Retroperitoneal boşlukta solda ve sağda iki tane bulunurlar ve yetişkin insanlarda yaklaşık 12 santimetre uzunluğundadırlar. Eşleştirilmiş renal arterlerden kan alırlar. Böbrek atıkları elimine eder, vücudun sıvı dengesini kontrol eder ve elektrolit dengesini korurlar. Vücuttaki tüm kan günde yaklaşık 40 kez böbreklerden geçer. Her böbreğin nefron adı verilen yaklaşık bir milyon küçük filtresi vardır.

Böbrekler karmaşık ve benzersiz bir yapıya sahiptir. Renal parankimi iki ana alana ayrılabilir - dış korteks ve iç medulla. Korteks medullaya uzanır ve onu üçgen şeklinde böler - bunlar böbrek piramitleri olarak bilinir. Renal piramidin tepesine, renal papilla denir. Her renal papilla, piramitlerden idrar toplayan minör kaliks olarak bilinen bir yapı ile ilişkilidir.



Şekil (2-1) böbreğin önemli işlev yapan bölümleri(9).

Nefron, böbreğin küçük veya mikroskobik yapısal ve fonksiyonel birimidir. Renal korpüskül ve renal tübülden oluşur. Bir nefron iki kısımdan oluşur: ilk filtreleme bileşeni olan bir renal cisimcik, filtrelenmiş sıvıyı işleyen ve uzaklaştıran bir renal tübül. Renal korpüskül, kan plazmasının süzüldüğü yerdir. Renal korpüskül, glomerulus ve glomerüler kapsül veya Bowman kapsülünden oluşur. Nefron kanı idrara dönüştürmek için dört mekanizma kullanır: süzme, yeniden emilim, salgılama ve boşaltım .

2.1.2. Böbrek Yetmezliği

Böbreklerin görevi ilaçlar ve bazi zararlı maddelerin detoksifikasyonu, vitaminler ve yararlı moleküllerin alımı, ekstrasellüler sıvı hacmi kontrolü, hormon salgılama işlevlerdir. Bu işlevlerdeki her türlü bozukluk böbrek yetmezliğine neden olur.

Böbreklerin fonksiyonlarının bozuk olup olmadığını anlamak için glomerüler filtrasyon hızı (GFH) ölçülür. Normal insanlarda bu birimin miktarı 125 ml/dk/1.73 m2' dir. Böbrek yetmezliği durumunda, bu miktar azalmaktadır. GFH değerini etkileyen diğer fakatörlere (yaş, cinsiyet ve vücut kitlesi gibi) göre normal değerler belirlenir.

Böbrek yetmezliği iki şekilde kendini göstere bilir; Akut böbrek yetmezliği ve kronik böbrek yetmezliği.

2.1.3. Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği (ABY), böbreklerin aniden kandaki fazla tuzları, sıvıları ve atık maddeleri atma yeteneğini kaybettiğinde meydana gelir. Birkaç saat içinde hızla gelişebildiği gibi, birkaç gün ila haftalar içinde de gelişebilir. ABY'nde, GFH miktarında belli azalma görülür. Bazı hastalıklar, böbrek kan damarlarında pıhtılaşmaya neden olabilir ve bu da akut böbrek yetmezliğine yol açabilir. Bu hastalıklar; hemolitik üremik sendrom, idiyopatik trombositopenik trombotik purpura (ITTP), malign hipertansiyon, transfüzyon reaksiyonu ve skleroderma.

Bu tür hastalıklardaki böbrek hasarı, böbreği çok etkilemezse, böbrek fonksiyonu ve işlevi normal hale gelebilir. Akut böbrek yetmezliği belirtileri; kanlı dışkı, nefes kokusu, genel şişme, kaburgalar ve kalçalar arasındaki ağrı, el titremesi, özellikle yaşlı erişkinlerde zihinsel durum veya ruh halindeki değişiklikler, iştah azalması.

2.1.4. Kronik Böbrek Yetmezliği

Kronik böbrek yetmezliğinin (KBY) tanımı, böbrek hasarının varlığına veya böbrek fonksiyonunun azalmasına dayanmaktadır. Hastalık, GFH temelinde beş aşamaya ayrılır: 1,73 m2'de 90 mL/dk'dan fazla (aşama 1), 1,73 m2'de 60-89 mL/dk (aşama 2), 1,73 m2'de 30-59 mL/dk (aşama 3), 1.73 m2'de15– 29 mL/dk (aşama 4) ve 1.73 m2'de 15 mL/dk'dan az (aşama 5).

KBY'ndeki ortaya çıkan bozukluklar, böbrek hastalığının ilerlemesi, akut böbrek hasarı, bilişsel gerileme, anemi, mineral ve kemik bozuklukları ve kardiyovasküler mortalitedir (10).

Küresel Hastalık çalışmasına göre, KBY 1990'da küresel ölümlerin listesinde 27. sırada yer alırken, 2010'da 18. sıraya yükselmiştir (yıllık ölüm oranı 100.000'de 16.3).

KBY nefronların işlev kaybı ile başlamakta ve bir süre sonra nefron fonksiyonlarının yetersiz kalmalmasıyla son dönem böbrek yetmezliği ortaya çıkmaktadır (SDBY). İlk tedavi uygulaması, kan basıncını, kan şekerini ve kolesterolü düşüren ilaçları içermektedir. KBY tanısı büyük ölçüde öykü, muayene ve idrarla birlikte serum kreatinin düzeyinin ölçümüne dayanır. KBY'yi AKY'den ayırmaya yardımcı olan tanısal bulgu, serum kreatininindeki ani bir artışın (birkaç gün ila haftalar) aksine serum kreatinininde kademeli bir artıştır (birkaç ay veya yıl boyunca).

2.1.4.1. KBY Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi;

KBY için risk faktörleri başlatıcı ve devam ettirici faktörler olarak ayrılabilir. Bunlar arasında genetik faktörler, etnik köken, sosyoekonomik faktörler ve yaş yer alır. KBY'nin birden fazla nedeni vardır, en yaygın olanı diabetes mellitustur. Diğer nedenler arasında glomerülonefrit, genetik bozukluklar, ilaçlar, kardiyovasküler hastalık, çoklu sistem hastalıkları, idrar yolu tıkanıklığı, enfeksiyonlar ve ABYsayılabilir. En belirgin risk, SDBY'dir ve sonuçta renal replasman tedavisi (RRT) olarak adlandırılan diyalize ve renal transplantasyona neden olur.

2010 yılında, dünya çapında herhangi bir KBY evresine sahip tahmini kişi sayısının 225,7 milyon erkek ve 271,8 milyon kadın olduğu tahmin edilmiştir. KBY prevalansı yaşla birlikte dik bir şekilde artar, öyle ki 70 yaş ve üzeri kişilerin >%23'ü etkilenir (11).

2014 yılında, 60 ülkeden gelen veriler, dünya genelinde SDBY'si olan 2.217.350 kişiyi tanımladı. SDBY'nin en yüksek prevalansı Tayvan'da milyonda 3219 (pmp) ile ve en düşük 113 pmp ile Bangladeş'te rapor edilmiştir. 2016'da Birleşik Krallık'ta SDBY prevalansı 962 pmp idi.

2.1.4.2. KBY Risk Faktörleri

Genetik faktörler; Birinci derece akrabalardan birinin SDBY olması durumunda, SDBY riskinin 1,3 kat ve iki kişi etkilenmişse 10.4 kat arttığı gösterilmiştir.

Etnik Köken; Etnik kökenin, sosyoekonomik durumla ilgili bir dizi kafa karıştırıcı faktörle ilişkisi nedeniyle, izole bir risk faktörü olarak tanımlanması zordur. Epidemiyolojik çalışmalarda etnik köken, sosyoekonomik faktörler dikkate alındıktan sonra bile önemli bir

risk faktörü olmaya devam etmektedir. ABD Böbrek Veri Sistemi, Afrikalı-Amerikalılarda ve Yerli Amerikalılarda yıllık SDBY insidansının beyaz Amerikalılara göre sırasıyla 3.4 ve 1.6 kat daha fazla olduğunu bildirmektedir.

Yaş; KBY'nin prevalansı ve insidansı artan yaşla birlikte keskin bir şekilde artar, bu da nefron kaybının yaşlanmanın "normal" bir parçası olabileceğini göstermektedir. Bir çalışmada, yılda 6207 glomerülün kaybolduğu bildirilmektedir. Bazı çalışmalarda, artan yaşla birlikte GFH düşüş hızının daha fazla olduğu bildirilmektedir.

Cinsiyet; Çalışmalar arasında bazı farklılıklar olmasına rağmen, en tutarlı bulgu SDBY insidansının erkeklerde kadınlara göre daha fazla olmasıdır.

Hipertansiyon; Hipertansiyon, KBY'nin neredeyse evrensel bir sonucudur, ancak aynı zamanda ilerlemesine de katkıda bulunur. Nüfusa dayalı çalışmalar, hipertansiyonu SDBY için bağımsız bir risk faktörü olarak tanımlamıştır, ancak hipertansiyonun tek başına böbrek hastalığına neden olup olmadığı tartışmalıdır.

2.1.4.3. KBY Patojenezi

KBY'ne yol açan patojenik mekanizmalar, ilerleyici interstisyel fibroz, hipoksi ile peritübüler kapiller kayıp ve tübüler atrofi nedeniyle nefron kayıplarıdır. Böbreklerin fonksiyonel olarak değişmeleri Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) kılavuzuna dayanarak 5 evreye ayrılmaktadır.

Birinci evrede, böbrek durumu normal veya çok az hasara uğramış ve GFH 90-100 arasındadır. İkinci evrede GFH'de hafif azalma gözükmektedir (GFH=60-89). Üçüncü evre ikiye ayrılmaktadır; hafif-orta azalma (GFH: 45-60) ve orta-ciddi azalma (GFH=30-45). Dördüncü evre de böbreklerin GFH'da ciddi bir azalma olmaktadır (GFH: 15-29). Beşinci son evrede ise artık böbrek fonksiyonunu %90 kaybetmiş olup GFH miktarı 15'ten az olabilir.

2.1.4.4 .KBY'nin Klinik Özellikleri

KBY'ği olan hastalar, birçok diğer ağır hastalıklar için yüksek risk altında olduklarından, ikincil korunma stratejilerinin uygulanması için aday olarak kabul edilmelidirler. Kronik böbrek hastalığı vücudun hemen hemen her bölümünü etkileyebilir. Potansiyel komplikasyonlar;

Kollar ve bacaklar da şişme, yüksek tansiyon, akciğerlerde ödeme yol açabilecek sıvı tutulması.

Kandaki potasyum düzeylerindeki ani yükselme (hiperkalemi) kalbin işlevini bozup yaşamı tehdit edebilir.

Anemi, kalp hastalığı, zayıf kemikler ve artmış kemik kırılma riski.

Konsantrasyon zorluğuna neden olabilecek merkezi sinir sisteminde hasar ve Enfeksiyona karşı daha savunmasız hale getiren azalmış bağışıklık.

Anne ve gelişmekte olan fetüs için risk taşıyan gebelik komplikasyonlarıda söz konusudur.

2.1.4.5. KBY Progresyonunda Etkili Faktörler

Yetişkinlerde KBY'nin baskın nedenleri diyabetik nefropati ve hipertansiyon iken, KBY'den etkilenen çocukların yaklaşık %60-70'inde doğuştan veya kalıtsal böbrek bozuklukları vardır (12). Konjenital soliter böbreklere sahip olanlar da dahil olmak üzere böbrek ve idrar yollarında konjenital anomalileri olan hastalar, genç erişkinlik döneminde son dönem böbrek hastalığı için artmış risk taşırlar (13).

Amerika Birleşik Devletleri'nde KBY'li yaklaşık 5500 yetişkin üzerinde yapılan bir çalışma (14), KBY ilerlemesi ile ilişkili faktörlerin anlaşılmasına önemli katkılarda bulunmuştur.

Sosyodemografik Etkinleri

ABD'i Böbrek Veri Sistemine göre, böbrek yetmezliği prevalansı erkeklerde kadınlara göre daha yüksektir, bu da kadınların erkeklere kıyasla böbrek fonksiyonu açısından daha yavaş düşüşüne sahip olabileceğini veya kadınların KBY ortaya çıkmadan veya daha ileri evrelere geçmeden başka sebeplerle ölme olasılığının daha yüksek olduğunu düşündürmektedir.

Irksal faktörlerle ilgili yapılan bir çalışmada, 6.6 yıllık medyan takip süresi boyunca, Hispanik ve Hispanik olmayan siyahi bireyler, Hispanik olmayan beyaz bireylere kıyasla neredeyse iki kat daha yüksek KBY'ne sahip oldukları bulgusu tespit edilmiştir.

Davranışsal Faktörler

Değiştirile bilinecek faktörlerdir. Sigara içme, sağlıklı beslenme, düzenli fiziksel aktivite, kilo durumu gibi davranışsal faktörlerin KBY'nde etkili olduğu gösterilmiştir. Fiziksel aktivitenin, daha düşük KBY progresyonu ile ilişkili olmadığı ifade edilse de, fiziksel aktivite kılavuzlarına uyan kişilerde ölüm riski daha düşüktü.

Gözlemsel çalışmalar ve klinik deneyler, diyet durumu ile ilişkili yüksek sodyum ve düşük potasyum alınımının KBY ile ilişkili riski arttırdığı bildirilmiştir.

Uyku durumuda etkili bir faktördür. Ricardo ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, 431 kişide uyku durumu değerlendirildiğinde, daha yüksek uyku fragmentasyonunun böbrek yetmezliği için daha yüksek risk ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Genetik Faktörler

Değiştirilemeyecek bir faktördür. Afrika kökenli Amerikalı bireyler arasında gözlenen daha yüksek KBY progresyonu riskinden APOL1 geninin sorumlu tutulmuştur.

Kardiyovasküler Faktörler

Atriyal fibrilasyon, kronik böbrek hastalığı olan yetişkinler arasında oldukça yaygındır ve olumsuz kardiyovasküler sonuçlarla ilişkilidir. Diğer bir faktör de, hipertansiyondur.

Metabolik Faktörler

Mineral ve kemik bozukluğu, KBY'nin iyi bilinen bir komplikasyonudur, ancak KBY'nin doğal seyri üzerindeki etkisi hakkında daha az şey bilinmektedir. FGF23 (Fibroblast growth factor 23), proksimal tübülde fosfat geri emilimini azaltarak fosfatüriyi indükler. Yükselmiş FGF23'ün, serum fosfat veya paratiroid hormonundaki artışlarından daha önce gelişen KBY'nin yaygın bir belirtisi oldu tespit edilmiştir.

2.1.4.6. KBY'nin Tedavi Yöntemleri

Kronik böbrek hastalığının tedavisi yoktur. Uygulanan tedavi yöntemleri hastalık ile ilgili semptomları hafifletmeye ve kötüleşmesini durdurmaya yardımcı olabilir. Başlıca tedaviler yöntemleri:

Yaşam tarzı değişiklikleri: Mümkün olduğunca sağlıklı kalmaya yardımcı olur.

İlaç tedavisi: Yüksek tansiyon ve yüksek kolesterol gibi hastalıkla ilişkili faktörleri kontrol altına almaya yöneliktir.

Diyaliz: İleri evre (evre 5) KBY'de, yetersiz böbrek fonksiyonlarından kaynaklanan durumu düzeltmek için uygulanır.

Böbrek nakli: İleri evre (evre 5) KBY'de gerekli olabilir.

2.1.4.6.1.Diyaliz

Diyaliz, böbrek fonksiyonunda hızlı bir kayıp veya KBY olan uzun süreli, kademeli bir kayıp yaşayan kişilerde homeostazın (kararlı bir iç ortam) korunmasını sağlar. Kandaki atık ve fazla suyun uzaklaştırılması işlemine diyaliz denir. Özellikle böbrek yetmezliği vakalarında böbrek fonksiyonlarının yapay olarak sağlanmasıdır. Diyaliz tedavisi, kaybedilen böbrek fonksiyonunu tamamen yerine getiremez, ancak bir dereceye kadar difüzyon ve ultrafiltrasyon yoluyla düzelme sağlanaır. Üremik sendrom, hiperkalemi, asidoz, medikal tedaviye yanıt vermeme ve kanama diyatezi (pıhtılaşma bozukluklarına bağlı kanamaya yatkınlık) diyaliz kriterleridir.

İki tür diyaliz uygulaması vardır; Hemodiyaliz (makine kullanılır) veya periton diyalizi (filtre olarak periton zarı kullanılarak) olabilir. Periton diyalizi esnekliği nedeniyle daha genç hastalarda tavsiye edilir ve evde yapılabilir. Rezidüel böbrek fonksiyonu olmayan hastalar için hemodiyaliz yapılır.

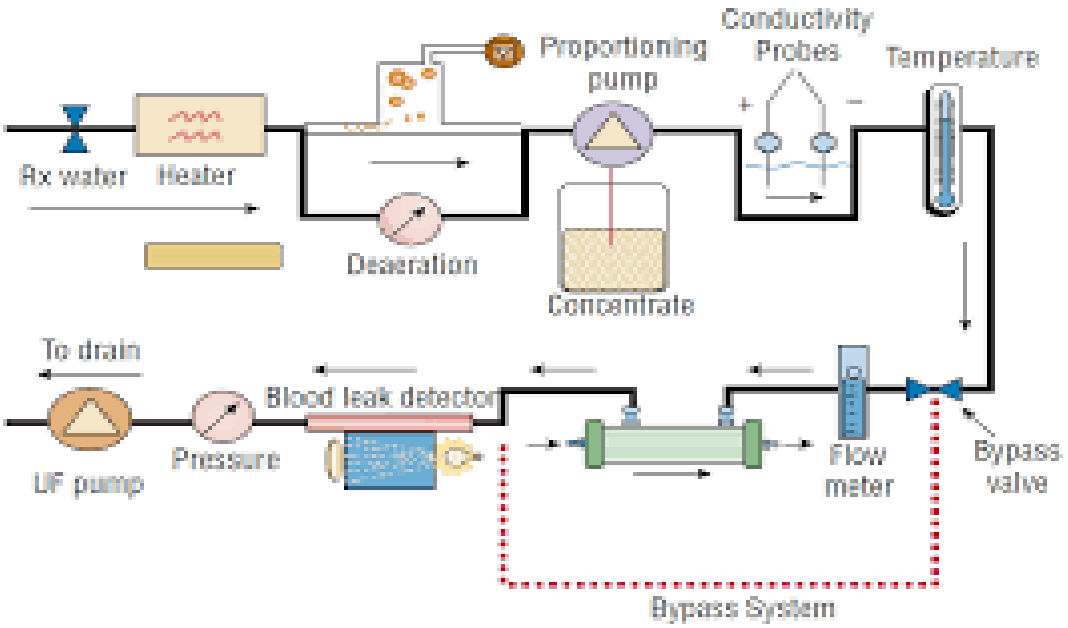
Periton diyalizi, peritonu doğal bir yarı geçirgen zar olarak kullanır ve atık ve suyu diyalizata (diyaliz zarından geçen malzeme veya sıvı) çıkarır. Diyalizat içine difüzyonları sırasında, partiküllerin boyutu da membran boyunca difüzyon hızını belirler. Çözünen partikülün boyutu ne kadar büyük olursa, zar boyunca difüzyon hızı o kadar yavaş olur.

2.1.4.6.2. Hemodiyaliz ve Öne Çıkan Yönleri

Bu tür diyaliz, böbrekler böbrek yetmezliği durumundayken kreatinin ve üre gibi atık ürünlerin ve kandaki serbest suyun ekstrakorporeal (vücut harici) olarak uzaklaştırılmasını sağlar. Hemodiyaliz, akut diyalize ihtiyacı olan hastalarda ve birçok hasta için idame tedavisi olarak renal replasman tedavisinin seçimidir. Solütlerin mükemmel ve hızlı bir şekilde

temizlenmesini sağlar. Kan akışının bir yönde, diyalizör sıvısının zıt yönde olduğu bir karşı akım ile akış gradyanı oluşturularak atıkların ayrılması yapılır.

Hemodiyalizin üç ana bileşeni: diyalizat dağıtım sistemi, ekstrakorporeal kan verme devresi ve diyalizör. Kan ekstrakorporeal devre yoluyla alınır, çözünen ve sıvının uzaklaştırılması için bir diyalizörden geçirilir ve hastaya geri verilir. Dağıtım sistemi diyalizatı (kana benzer bir elektrolit bileşimine sahip saflaştırılmış su çözeltisi) hazırlar ve diyalizöre iletir. Harici kan verme sistemi (ekstrakorporeal kan devresi), hastanın kanının bir kısmını diyalizörde dolaştırır ve hastaya geri verir. Diyalizör, içinde çözünen değişiminin veya klirensinin gerçekleştiği tek kullanımlık bir bileşendir.



Şekil (2-2) Diyaliz makinesi ve hasta kanının dolaşım yolakları(15).

Hemodiyalizin Diğer Tedavilere Göre Avantajları

Daha yüksek çözünen klirensli ve aralıklı tedaviye izin verir.

Diyalizin yeterlilik parametreleri daha iyi tanımlanmış olup, negatif yönleri tespit edilebilir.

Teknik başarısızlık yüzdesi düşüktür.

Aralıklı heparinizasyon gerekli olsa da hemostaz parametreleri HD ile daha iyidir.

Hemodiyalizde pıhtılaşmayı önleyici süre sınırlıdır.

HD Dezavantajları

Hastaların belirli haftalık periyotlarda kliniğe gitmesi ve her seansta 3-4 saat orada kalması gerkir.

Hemodiyaliz programı sıkı bir şekilde tutulmalıdır.

Diyet ve sıvı kısıtlamalarına kesinlikle uyulmalıdır.

Hastaya takılan fistül çirkin görünebilir.

Evde hemodiyaliz yapılıyorsa, bir eş evde olmalı ve hemşirelikle ilgilenmelidir.

Evde yapılırsa, elektrik ve sıhhi tesisat ihtiyaçları göz önünde bulundurulmalıdır.

Olası yan etkiler arasında düşük tansiyon, nefes darlığı ve mide bulantısı sayılabilir.

HD hastalarındaki enfeksiyonlar membran seçimi ile ilişkili olabilir.

Hemodiyaliz Komplikasiyonları

Hemodiyaliz, böbrekler çalışmadığında hayat kurtaran bir tedavi yöntemidir. Ancak önemli yan etkilere ve komplikasyonlara neden olabilir.

Hipotansiyon: Hemodiyaliz işleminin dozu ve hızı nedeniyle sıvıların kandan çok hızlı bir şekilde çıkarılmasının neden olabileceği, hemodiyaliz sırasında yaygın bir durumdur. Buna bağlı olarak; Karın rahatsızlığı, esneme veya iç çekme, bulantı, kusma, kas krampları, huzursuzluk ve endişe, baş dönmesi veya bayılma, nemli cilt, bulanık görme.

Elektrolit Anormallikleri: Hemodiyaliz sadece vücuttaki toksinleri ve fazla sıvıyı değil, aynı zamanda vücudun çalışması için ihtiyaç duyduğu elektrolitlerin çoğunu da etkiler.

Hipokalemi: Hipokalemi, kanda anormal derecede düşük potasyum durumudur. Potasyum, vücudun sıvı dengesinde, kas kasılmasında ve sinir sinyallerinin düzenlenmesinde etkili önemli elektrolitlerden biridir. Potasyum seviyesi aşırı derecede düştüğünde, önemli işlevleri etkileneceğinden farklı semptomlar ortaya çıkabilir; Tükenmişlik, zayıflık, kabızlık, kas krampları, kalp çarpıntısı.

Enfeksiyon: Enfeksiyon, hemodiyaliz uygulanan kişilerde her zaman karşılaşabilecek bir durumdur. Enfeksiyon semptomlarI tipik olarak; Lokal şişlik, kızarıklık, sıcaklık ve ağrıdır.

Diğer komplikasyonlar; Flatulans (cilt altında irin birikmesi) ve Ateş ve/veya titremedir.

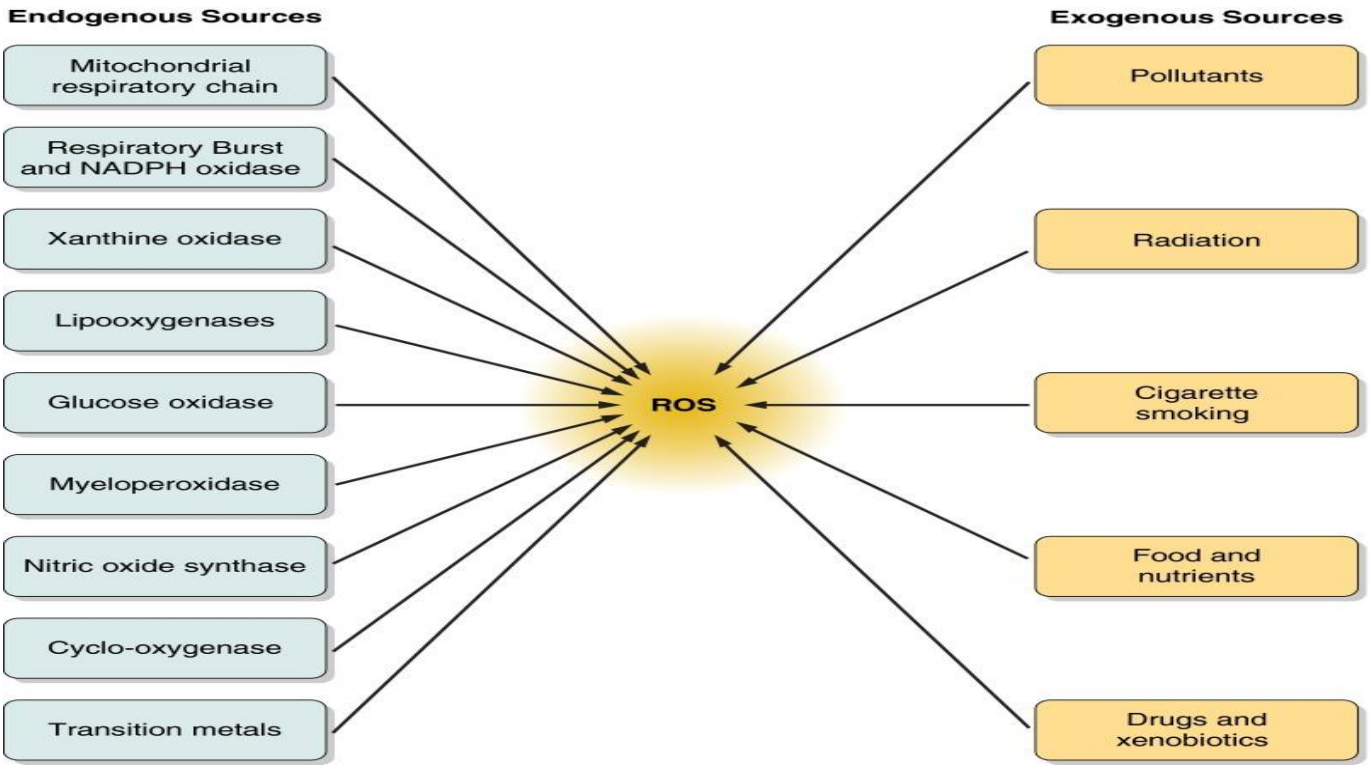
2.2..Oksidati Stress

Oksidatif stres, hücreler ve dokularda oksijene reaktif türlerin (ROS) üretimi ve birikimi arasındaki dengesizliğin neden olduğu bir durumdur. ROS fizyolojik olarak normalde oksijen metabolizmasının yan ürünleri olarak üretilir. Diğer yandan, çevresel stres faktörleri (UV, iyonlaştırıcı radyasyon, kirleticiler ve ağır metaller) ve ksenobiyotikler, ROS miktarını arttırıcı yönde teki ektiklerinden hücre ve doku hasarına yol açan dengesizliğe neden olurlar. Süperoksit radikalleri (O2•−), hidrojen peroksit (H2O2), hidroksil radikalleri (•OH) ve tekli oksijen (1O2) yaygın olarak tanımlanan reaktif oksijen türleridir (ROS). Yapımının arması veya antioksidan sistemlerdeki yetersizlikten dolayı, ROS miktarı arttığında proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi önemli hücresel yapılar üzerinde zararlı etkiler görülmeye başlar.

2.3. Reaktif Oksijen Türleri

ROS üretimi temel olarak enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlara dayanır. ROS oluşturabilen enzimatik reaksiyonlar, solunum zinciri, prostaglandin sentezi, fagositoz ve sitokrom P450 sistemi ile ilgili olanlardır. Süperoksit radikali (O2•−) NADPH oksidaz, ksantin oksidaz ve peroksidazlar tarafından üretilir. Süperoksit radikali oluştuktan sonra, sırayla hidrojen peroksit (H2O2), hidroksil radikali (OH•), peroksinitrit (ONOO−), hipokloröz asit (HOCl) gibi moleküllerin oluşumuna neden olan çeşitli reaksiyonlara katılır. H2O2, çoklu oksidaz enzimleri (amino asit oksidaz ve ksantin oksidaz) tarafından üretilir. Tüm serbest radikal türleri arasında in vivo en reaktif olan hidroksil radikali (OH•), bir reaksiyon katalizörü olarak Fe2+ veya Cu+ ile O2•−'nin H2O2 ile reaksiyonuyla üretilir. Bazı önemli fizyolojik roller oynayan nitrik oksit radikali (NO•), nitrik oksit sentaz (NOS) ile arginin-sitrülin oksidasyonundan sentezlenir.

2.3.1. Reaktigf Oksijen Türlerinin Kaynakları



Şekil (2-3) ROS nedenlerinden iç ve dış kaynakları(16).

Mitokondri, endoplazmik retikulum, peroksizomlar, çekirdek, sitozol, plazma membranı ve hücre içi yapılar ROS üretiminin endojen kaynaklarıdır. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri, çoğu memeli hücresinde ROS üretiminin ana bölgesidir.

Hava kirleticiler, tütün dumanı, iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon, gıdalar ve ilaçlar ile ksenobiyotikler endojen olmayan oksidatif stres kaynaklarıdır.

2.3.2. Reaktif Oksijen Türlerinin Etkileri

Serbest radikaller ve oksidanlar, oksidatif strese yol açarak lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi biyomoleküllere zarar veren olaylara neden olurlar. Bu durum kontrol edilemezse, kronik ve dejeneratif tipte çeşitli hastalıklara yol açabilir.

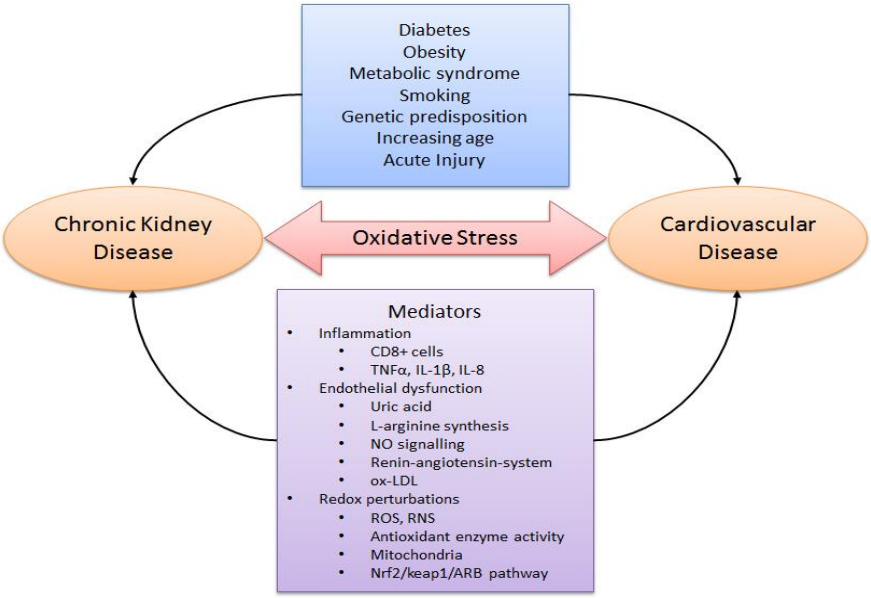
Kanser ve Oksidatif Stres: Oksidatif DNA hasarının kanser gelişiminden sorumlu etkenlerden biri olduğu iyi bilinmektedir (17). Hidrolize olmuş DNA bazları, DNA oksidasyonunun yaygın yan ürünleri olup kimyasal karsinogenezde rol oynadıkları gösterilmiştir. Bu tür eklentiler, fizyolojik transkriptomik profili değiştirerek ve gen mutasyonlarına neden olarak normal hücre büyümesini bozarlar. Oksidatif stres ayrıca, nükloetid yapısal lezyonlarına, DNA-protein çapraz bağlarına, iplik kopmalarına neden olabilir.

Kardiyovasküler Hastalık ve Oksidatif Stres: Kardiyovasküler hastalıklar (KVH'lar), çok faktörlü etiyolojiye sahip hastalıklardır. Son yıllarda yapılan araştırma verileri, oksidatif stresin birçok KVH için birincil veya ikincil bir neden olarak düşünülmesi gerektiğine işaret etmiştir (18). Oksidatif stres, aterosklerozun nedenlerinden biridir. Hem in vivo hem de ex vivo çalışmalar ateroskleroz, iskemi, hipertansiyon, kardiyomiyopati, kardiyak hipertrofi ve konjestif kalp yetmezliğinde oksidatif stresin rolünü destekleyen kanıtlar sağlamıştır (19).

Nörolojik Hastalıklar ve Oksidatif Stres: Oksidatif stresin neden olduğu durumların çeşitli nörolojik hastalıklar (Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı (AD), amyotrofik lateral skleroz (ALS), multipl skleroz, depresyon ve hafıza kaybı) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. AD'da yapılan çeşitli deneysel ve klinik araştırmalar, oksidatif stresin nöron kaybında önemli rol oynadığını göstermiştir.

Solunum Hastalıkları ve Oksidatif Stres: Araştırmalar, sistemik ve lokal kronik inflamasyonun neden olduğu astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi akciğer hastalıklarının oksidatif stres ile bağlantılı olduğunu göstermiştir.

Böbrek Hastalıkları ve Oksidatif Stres: Oksidatif stresin, glomerülo- ve tübül-interstisyel nefrit, böbrek yetmezliği, proteinüri ve üremi gibi böbrek sistemini etkileyen bozukluklar ile ilişkisini gösteren çok sayıda araştırma mevcuttur. ROS'lerinin proinflamatuar sitokin üretimini indüklemesi ve inflamasyona yol açması nedeniyle, böbrekler oksidatif stresten olumsuz etkilenir.



Şekil (2-4) oksidatf stres KBY ve kalp arızalarına neden olur(20).

2.4.Kronik Böbrek Yetmezliği ve Oksidatif Stres

Hem antioksidan sistemdeki yetersizlik hem de artan ROS üretiminin neden olduğu oksidatif stresin böbrek patolojileri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Böbrekler, mitokondriyal oksidasyon reaksiyonları açısından yoğun organlar olduklarından, oksidatif stresin neden olduğu hasara daha fazla maruz kalırlar. Yapılan çalışmalar, oksidatif stresin böbrek hastalığının ilerlemesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir.

2.4.1. Diyaliz Mebranın Etkileri

Hemodiyaliz membranları, üremik toksinleri, fazla iyonları ve suyu hastalardan diyalizat yoluyla uzaklaştırmak için kullanılır. Diyaliz hortumu, genellikle selüloz asetattan yapılmış yarı geçirgen bir zardır. Hemodiyaliz esnasında kullanılan membranlar ve diyalizatlar lenfösitleri tetikleyerek NADPH oksidaz, SOD, NOS ve myeloperoksidaz (MPO) gibi enzimler; H2O2, hidroklorik asit (HCL), nitrit oksit (NO2) ve süper oksit anyonu (·O2-) gibi ürünlerin oluşumuna yol açar.

2.5. Oksidatif Stres ve DNA Hasarı

Doku ve organları oluşturan hücrelerin biyomolekülleri, sürekli olarak oksidatif strese ve serbest radikallere maruz kalırlar. Organizma, bu duruma karşılık glutatyon (GSH), vitamin C ve E gibi serbest radikal süpürücüleri ile katalaz, süperoksit dismutaz ve çeşitli

peroksidazlar gibi antioksidan enzimler ile karşılık verir. Diğer yandan DNA'da oluşabilecek hasarlar, DNA onarım mekanizmaları ile onarılır. Hatalı veya yetersiz onarım, DNA hasarlarının birikmesine bağlı genomik dengesizlik, apopitoz ile hücrelerin azalması gibi olumsuz durumlara yol açarak, çeşitli hastalıkların oluşmasına zemin oluşturur.

2.6. DNA Onarım Mekanizmaları

DNA hasarının onarılması için çeşitli onarım stratejileri geliştirilmiştir.

1-Direkt onarım

2-Nükleotidlerin kesilme ve çıkarılması onarım mekanizmaları

a-Baz kesilme ve çıkarılma onarımı (BER)

b-Nükleotid kesilme ve çıkarılma onarımı (NER)

c-Yanlış eşleşme onarımı (mismatch repair)

3-DNA zincir kırıklarının onarım mekanizmaları

a-Tek zincir kırıklarının onarımı

b-Çift zincir kırıklarının tamiri (Homolog rekombinasyon ve Nonhomolog uç birleştirme)

2.6.1.Direkt Onarım

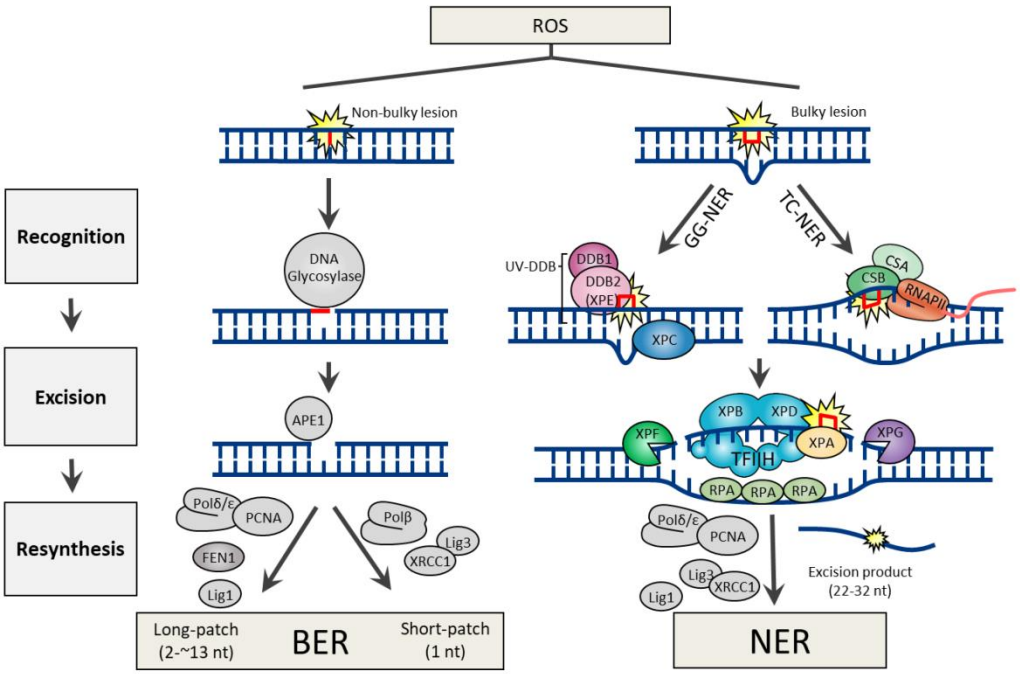
Direkt onarım, DNA sentezini gerektirmeyen hasarların tamir mekanizmasıdır. Direkt onarım süreci tamamen hatasız olup, genetik bilginin korunmasında büyük avantaj sağlar. Memeli hücrelerinde, alkilleyici ajanların neden olduğu hasarların tamiri, direkt tamir mekanizması ile yapılır. Nükleotidin pürin halkasının O6 pozisyonuna metil veya etil gruplarının eklenmesiyle oluşan modifiye nükleotidlerin tamiri, O6-metilguanin-DNA metiltransferaz tarafından gerçekleştirilir. E. Colide ultraviyolenin etkisiyle oluşan pirimidin dimerleri de bu tamir mekanizması ile tamir edilir.

2.6.2..Nükleotidlerin Kesilme ve Çıkarılması Tamiri

DNA çift zincirinin sadece bir zincirindeki hasarlar, diğer sağlam zincir kalıp olarak kullanılarak tamir edilir. Hasarlı nükleotid/nükleotidler uzaklaştıran ve yeni sentez edilen bu tamir mekanizmasının üç tipi vardır.

2.6.2.1.BER mekanizması

BER, DNA sarmal yapısını önemli ölçüde bozmayan, küçük baz lezyonlarının tamirinde kullanılır. Bu tür hasarlar; deaminasyon, oksidasyon veya metilasyondan kaynaklanır. Bir ile beş nükleotidlik DNA hasarlarının tamiri, hasarlı nükleotidin/nükleotidlerin çıkarılması ve ardından hasarsız zincir kalıp olarak kullanılarak doğru nükleotidlerin sentezi ile onarılır. BER onarımında bir glikosilaz enzimi, baz ile deoksiriboz arasındaki bağı keserek hasarlı bazı nükleotidten uzaklaştırır. Böylece burada, apurinik veya apirimidinik (AP bölgesi) bir bölge oluşur. AP endonükleazlar adı verilen enzimler, AP bölgesindeki bazsız nükleotidleri keserek uzaklaştırılır ve burada bir boşluk (gap) oluşur. DNA polimeraz, tamamlayıcı zinciri kalıp olarak kullanır ve yeni ipliği doğru şekilde sentezler. Boşluk daha sonra enzim DNA ligaz ile kapatılır.

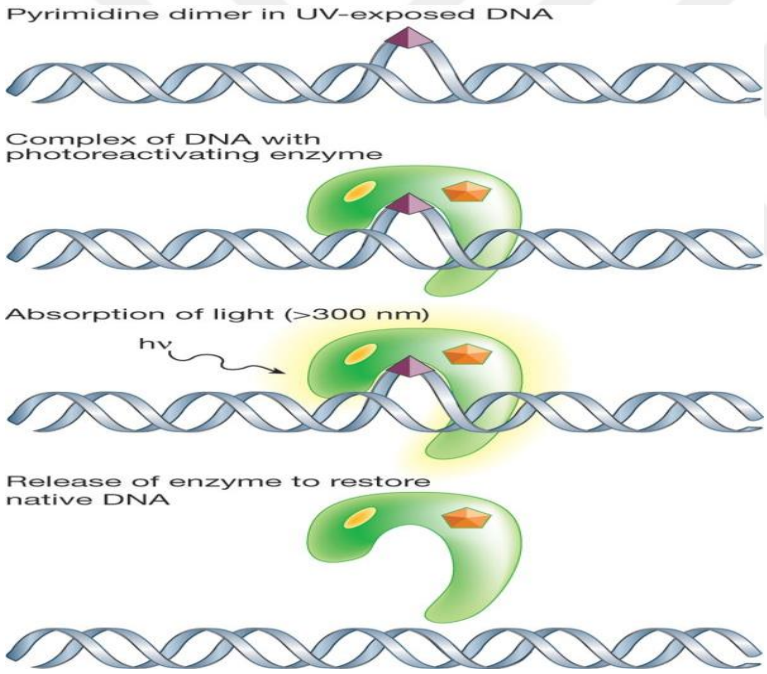


Şekil (2.5) BER ve NER onarım mekanizmaları (21).

OGG1 ve APE1 proteinleri BER mekanizmasında rol oynamaktadır.

2.6.2.2.NER mekanizması

NER, evrimsel olarak korunmuş bir onarım mekanizmasıdır ve neredeyse tüm ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde mevcuttur. Ultraviyole ışığın neden olduğu büyük kimyasal grupların eklenmiş olduğu nükleotidlerin ve DNA zincirleri arasında oluşan çapraz bağların, güneş ışığının neden olduğu siklobütil dimerlerinin tamiri NER mekanizması ile gerçekleştirilir. Bu tamir mekanizmasında, hasarlı bölgeyi içine alan 10-30 nükleotid uzunluğundaki DNA zinciri endonükleazlar tarafından kesilerek çıkarılır ve çıkarılan DNA bölgesi daha sonra yeniden sentezlenir. NER'in bir diğer önemi, NER proteinlerini kodlayan genlerin mutasyonlu formlarını kalıtsal olarak taşıyan hastalıklardan kaynaklanır; Xeroderma pigmentosum ve Cockayne sendromu, NER ile ilişkili hastalıkların iki örneğidir.

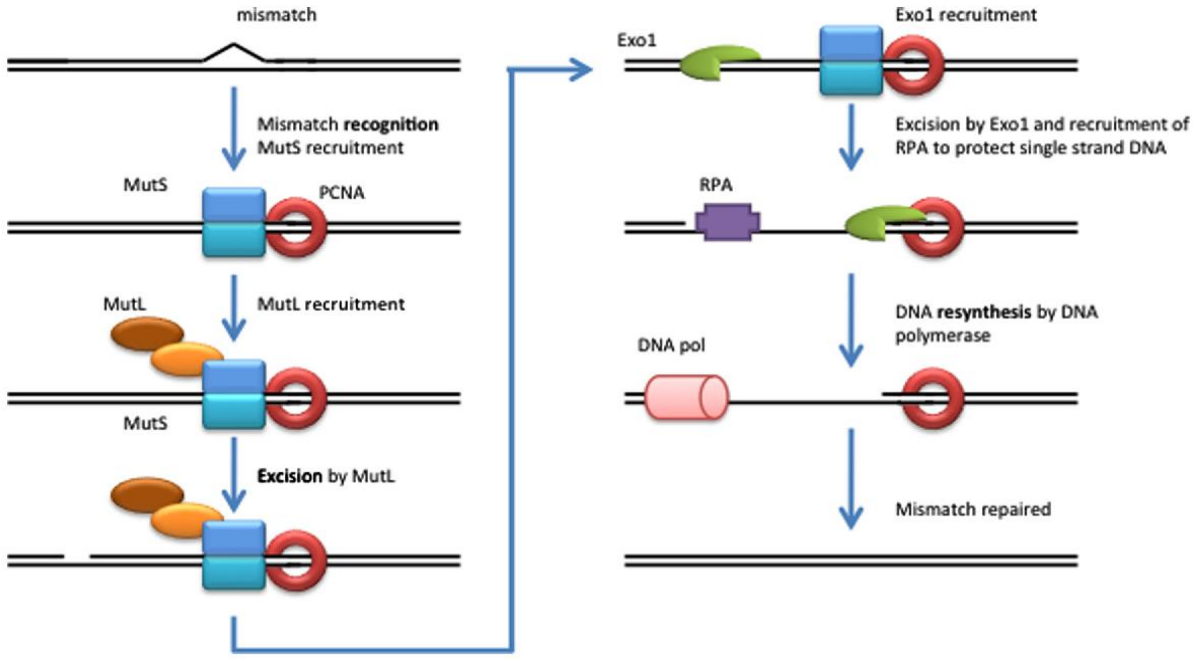


Şekil(2.6) UV etkisi altında DNA bazlarında oluşan kırık ve enzim aracılığıyla tamir mekanizması oluşur(22).

2.6.2.3. Yanlış Eşleşme Onarımı (Mismatch Repair)

DNA replikasyonu sırasında, DNA polimeraz tarafından hatalı nükleotid eklenmesinin düzeltilmesi ve genomun tekrar dizilerini içeren bölgelerin replikasyonu sırasında oluşan insersiyon/delesyon loop'larını tamir edilmesi en bir mekanizmadır. Yeni sentezlenmiş ve hatalı olan DNA'nın kısa bir bölümü çıkarılır ve sağlam zincir kalıp olarak kullanılarak

burada oluşan gap doldurulur. MMR'deki kusurların, genom stabilliğinin bozulmasına, kalıtsal polipoz olmayan kolorektal kansere, çeşitli kanserlere yatkınlığa, belirli kemoterapötik ajanlara dirence ve kısırlık anormalliklerine yol açtığı gösterilmiştir. İnsan MMR ile E. coli MMR'si arasında işleyiş ve bazı proteinler (MutS ve MutL) açısından benzerlik vardır. İnsan MMR mekanizmasınra rol oynayan proteinler; MutS, MutL, EXO1, tek iplikli DNA bağlayıcı protein RPA, proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA), DNA polimeraz δ (pol δ) ve DNA ligaz'dır.



Şekil (2.7) Yanlış eşleşme onarımı ve ilgili proteinler(23).

2.4. DNA Zincir Kırıklarının Oonarımı

2.4.1.Tek Zincir Kırık Onarımı

DNA'nın tek zincirinde meydana gelen kırıklar (SSB), hızlı veya uygun şekilde tamir edilmezse genetik dengesizliğe yola açabilir. Bu nedenle öncelikle, sağlam zincir PARP1 proteini ile kapatılarak sağlam zincirin yıkılması veya istenmeyen bir rekombinasyona maruz kalması önlenir. Daha sonraki tamir süreci gap'in doldurulması aömaçlı replikasyon ile devam eder.

2.4.2. Çift Zincir Kırıklarının Onarımı

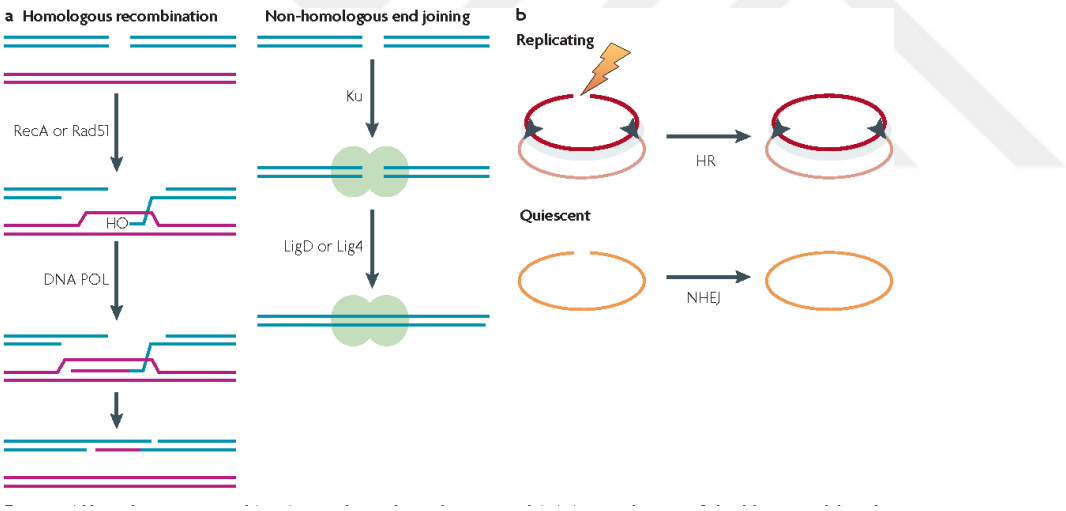
DNA çift zincir kırıkları iki mekanizma aracılığıyla onarılır; homolog olmayan uç birleştirme ve homolog rekombinasyon.

2.4.2.1.Homolog Rekombinasyon

Bakteriden insana incelenen tüm organizmalarda homolog rekombinasyon onarımı mevcuttur. Hasar görmemiş kardeş kromatidler kalıp olarak kullanılarak kırık bölgesinin replikasyonu şeklinde işleyen onarım mekanizmasıdır.

2.4.2..2.Homolog Olmayan Uç Birleştirme Onarımı

Homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ) onarım mekanizması, DNA'daki çift zincir kırıklarını onaran ve hataya yol açabilen bir tamir mekanizmasıdır. Bu tamir mekanizmasında, tamir sürecine katılan proteinler vasıtasıyla kırık uçlar bir araya getirilerek birleştirilir. Genellikle birleşme yerinde bir veya birkaç nükleotid kaybı meydana gelmektedir.

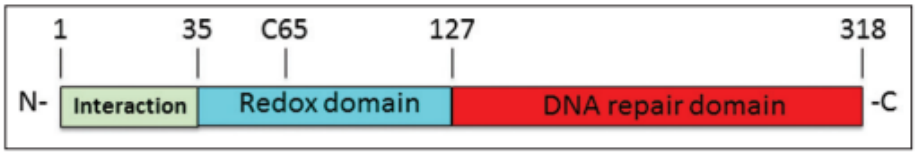


Şekil (2.8) Hemolog ve hemolog olmayan rekombinasyon tamiri(24).

2.5.APE1 Geni ve Proteini

APE1, oksidatif strese hücresel yanıtta merkezi bir rol oynayan, çok İşlevli bir proteindir. APE1'in iki ana fonksiyonu; DNA onarımı ve transkripsiyonel faktörlerin redoks düzenlemesidir. Oksidatif ve alkilleyici ajanların neden olduğu DNA hasarlarının tamirinde kullanılan BER tamir mekanizmasında apurinik/apirimidinik (AP) endodeoksiribonükleaz olarak işlev görür. AP endonükleaz enzimi, AP bölgesinin 5' yönündeki fosfodiester bağını keserek DNA zincirinde gap oluşturur. Bazı AP endonükleazlar, hasarlı nükleotitten geriye kalan ribozu AP bölgesinden çıkarabilirken, diğerlerinin bu yeteneği yoktur ve bu nedenle bu işi yapabilen ayrı bir fosfodiesteraz enzimi ile birlikte çalışır. APE1'in 'REF1' işlevi aracılığıyla bir dizi transkripsiyon faktörünün DNA bağlama aktivitesini uyardığı ve böylece gen ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir.

APE1 geni insanlarda 14. Kromozomun uzun kolunda (14q11.2) haritalanmış olup, 4 küçük intron ve 5 ekzondan oluşur. APE1 geni, 37 kDa ağırlığında ve 318 aminoasitten oluşan APE1 proteinini kodlar. Monomer olarak işlev gören ve üç bağımsız işlevsel alandan oluşan APE1 proteini, hücrelerde bol miktarda bulunur (hücre başına 100.000–1.000.000 molekül). Proteinin N-terminalinde yer alan 35 amino asitlik protein-protein etkileşimlerinde işlev gören ilk alan, proteinin abazik DNA üzerindeki katalitik aktivitesini modüle eden ve RNA'yı metabolize eden bir bölgedir. 35 ve 127 kalıntıları arasındaki bölgeyi kapsayan proteinin ikinci alanı redoks aktivitesinden sorumludur. 127. amino asitten sonrasına uzanan üçüncü alan, DNA onarım fonksiyon gören endonülkleaz aktivite bölgesidir.

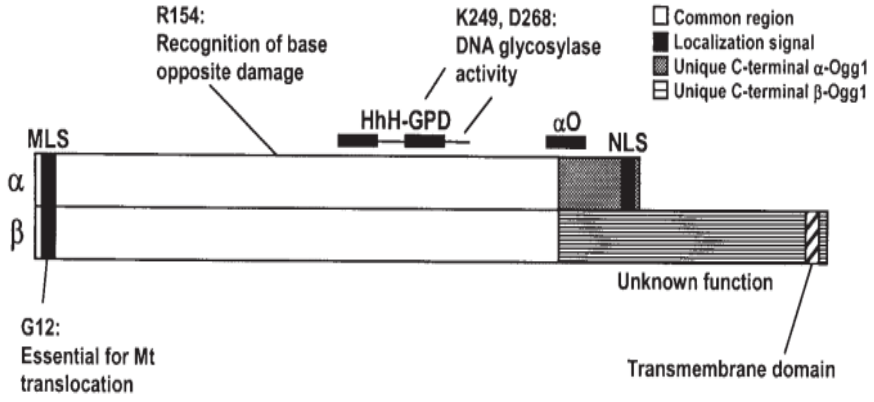


Şekil (2.9) APE1 genini oluşturan bölümler(25).

2.6..OGG1 Geni ve Proteini

OGG1 olarak da bilinen 8-oksoguanin glikosilaz, insanlarda OGG1 geni tarafından kodlanan bir DNA glikosilaz enzimidir. BER onarımında rol oynar. İnsan hücrelerinde, OGG1 geni 3p25 kromozomu üzerinde lokalizedir ve tek bir haberci RNA'nın son ekzonunun

alternatif kesiminden kaynaklanan iki hOGG1 protein formunu kodlar. Alpha-hOGG1 proteini nükleer bir lokalizasyona sahipken beta- hOGG1 mitokondride fonksiyoneldir. AlFa-hOgg1 proteini 345 aminoasitten (38 kDa) oluşurken, beta-hOgg1 424 (47 kDa) aminoasitten oluşur. 316 aminoasitlik kısım birbirine benzerdir. C-terminalleri ise oldukça farklıdır. Beta-OGG1, C-terminalinin işlevi bilinmemektedir. Mitokondriyal konum sinyali (MLS), 9-26 amino asitler arasında, nükleer lokalizasyon sinyali 335-342 amino asitler arasındadır. DNA glikosilaz aktivitesi için aktif bölge ortadadır.



Şekil (2.10) OGG1 geni ve farklı kısımlarının işlevleri.(26).

3. YÖNTEM

3.1. Çalışma grubu

Kronik böbrek yetmezliği evre 5 olan ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nefroloji Polikliniğinde takip edilmekte olan 18 yaş üstü toplam 50 hasta ve 50 herhangi bir kronik rahatsızlığı olmayan sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edilmiştir. Diğer yandan, çalışmanın dışlanma kriterleri ve diğer laboratuvar değerlendirmeleri nedeniyle 35 hasta ve 37 kontrolde sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmaya katılan hastalara haftada 3 gün ve 4 saat süreyle bikarbonatlı hemodiyaliz uygulandı. Hemodiyaliz damar erişim yolu tüm hastalar için arterio-venöz fistüldür. HD işleminde Fresenius 4008 B tipi makinalar kullanılmıştır. Bütün hastalarda vücut kitlesine uygun (1.4 – 2.1) MCO (medium cut-off) diyaliz membran kullanıldı.

Hastalardan HD seansının öncesinde ve sonrasında 10 ml kan örneği alındı. Kan örneğinin alınacağı seans haftanın ilk seansı olarak düzenlendi.

Hastaların, demografik ve klinik veriler (yaş, cinsiyet, böbrek yetmezliği etiyolojisi, hemodiyaliz süresi, sigara kullanımı, rezidüel böbrek fonksiyonu (günde >100 ml idrar), eşlik eden hastalıklar (diyabet, dislipidemi, kardiyovasküler hastalıklar, inme), ortalama arter basıncı ve vücut kitle indeksi), kronik böbrek hastalığı ile ilgili laboratuvar verileri (diyaliz yeterliliği (Kt/V üre), serum albümin, ürik asit, LDL-kolesterol, HDL- kolesterol, CRP, kalsiyum-fosfor (Ca x P) ürünü, parathormon ve ferritin düzeyleri, hemoglobin düzeyi, lökosit sayısı, hepatit B ve C virüs serolojisi) not edildi. Ayrıca hastaların eritropoetin, aktif D vitamini, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri veya anjiyotensin II reseptör blokerleri ve statinleri kullanımları kaydedildi.

Çalışma grubundan dışlanma kriterleri; Aktif enfeksiyonu veya aktif malignitesi olan, son 12 ay içinde herhangi bir immünsüpresif tedavi almış olan hastalar çalışmadan çıkarıldı.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Mikropipetler, (Socorex ve Eppendorf)

Vorteks, (Velp)

Hassas Terazi, (CHYO)

Santrifüj, (Hettich)

Soğutmalı Santrifüj, (Hettich)

Ph Metre, (WTW)

Buzdolabı ve Derin Dondurucu (+4 ºC ve -20 ºC), (Arçelik)

-80 ºC Ultra Derin Dondurucu, (New Brunswick Scientific, Sanyo)

Çalkalamalı Su Banyosu, (Kottermann)

Otoklav, (Hirayama)

Termal Döngü Cihazı,

Saf su cihazı, (Millipore Elix 3)

3.3. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Lenfosit İzolasyonunda Kullanilan Tampon Ve Çözeltiler;

1X Fosfat Tuz Tamponu (PBS) (1000 ml, pH 7,4)

KCl	0,2 gr
NaCl -	8 gr
KH_2PO_4	0,24 gr
$Na_2HPO_4.2H_2O$	1,81 gr

3.4.Periferik Kandan Lenfosit İzolasyonu

EDTA'lı kan örnekleri PBS tamponu ile 1:1 oranında seyreltildi. PBS ile seyreltilmiş kan örnekleri Histopak (1077 g/ml, BioChrom AG, Berlin, AD) üzerine yavaşca tabakalandırıldıktan sonra 600xg'de 35 dakika santrifüjleme ile lenfositler izole edidi. Lenfositlerin yıkanması için Histopak üzerine lenfosit hacmi ile eşit hacimde PBS eklendi ve 600xg'de 10 dakika santrifüj yapıldı. Üst sıvı dikkatlice uzaklaştırıldı. Eritrosit kontaminasyonunu gidermek için lenfositler 3 ml "lizis tamponu" (Roche Applied Science, Mannheim, AD) ile muamele edildi ve karışım 10 dakika elde çalkalandıktan sonra 500xg'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi ve üst sıvı uzaklaştırıldı. Canlı lenfosit sayısı tripan mavisi kullanılarak hemositometre ile saptandı. Lenfositler %60 fetal bovine serum (BioChrom AG, Berlin, AD), %10 dimethyl sulphoxide (Applichem GmBH, Darmstadt, AD) ve %30 RPMI

1640 medyum (L-glutaminsiz, 2g/l $NaHCO_3$'li, BioChrom KG, Berlin, AD) içeren saklama medyumunda, hücre sayısı yaklaşık $2X10^6$ hücre/ml olacak şekilde süspanse edilerek cryo tüplere aktarıldı. Her bir örnek, deneysel aşamaya kadar -80°C'de saklandı.

3.5.RNA İzolasyonu

APE1 ve OGG1 gen ifade düzeylerinin tespiti için izole ettiğimiz lenfositlerden (~$2X10^6$ hücre) RNA izolasyonu yapıldı. İzolasyon için EXTRACT ME (Blirt, Cat No EM12 Version 1.2018 Polonya) kiti kullanıldı.

1. Lenfositler -80°C'den çıkarılarak 37°C'de çözüldü ve 400 x g'de 5 dk santrifüj edilerek üst sıvı atıldı.
2. Lenffositlerin üzerine 400 µl "miRLys Buffer" eklendi ve 30 sn vortekslendi ve 2 dakika 18.000xg'de santrifüj edildi.
3. Üst sıvı "DNA Purification Column"a aktarılarak, 2dk 18.000xg'de santrifüj edildi.
4. Filtratlar, steril 1.5 ml ependorflara aktarılarak üzerlerine 0,5 hacimde %96-100 saflıkta etanol ilave edildi ve 5 sn vortekslendi.
5. Karışım "Large RNA Purification Column"a aktarıldı ve 2dk 18.000xg'de sentrefüj edildi.
6. Üzerlerine 70 µl miREB ilave edilerek 2 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve 2 dk 11.000xg'de santrifüj edildi.
7. Filtreler uzaklaştırıldı.
8. RNA örnekleri -80°C kaldırıldı.

3.5.1.Total RNA Konsantrasyonunun ve Saflığının Ölçülmesi

İzole edilen mRNA örneklerinin saflık ve konsantrasyonu, NanoDrop ScientificTM 1000 (Thermo Fisher, Delavare, ABD) cihazı ile ölçüldü. RNA konsantrasyonu 260 nm'deki optik yoğunlunluğundan (OD) saptandı. RNA konsantrasyonunun ve saflığının hesaplanmasında kullanılan formüller aşağıda belirtilmiştir.

RNA konsantrasyonu (ng µl): OD 260 nm x Seyreltme faktörü x 40

RNA safllığı: OD 260 / OD 280 > 2,0

3.6. QRT-PCR Yöntemi Kullanılarak APE1 ve OGG1 Gen İfade Düzeylerinin Kantitatif Olarak Saptanması

mRNA ifade düzeylerinin kantitatif olarak saptanmasını ve ölçülmesini sağlayan kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) tekniği, oldukça hassas fleurosan tabanlı bir PCR teknolojisidir. Bu teknik, RT-PCR tekniği içerisine kantitatif PCR (qPCR) tekniğinin dahil edilerek RT-PCR tekniğinin mRNA kantitasyonunda kullanılmasına olanak sağlar. İlk aşama, revers transkriptaz enzimi kullanılarak mRNA kalıplarının cDNA'ya dönüştürülmesi (RT-PCR) reaksiyonundan oluşur. İkinci aşama, PCR amplifikasyonu (qPCR) ile ilgili reaksiyonları içerir. Çalışmamızda, APE1 ve OGG1 gen ifade düzeylerini iki basamaklı qRT-PCR reaksiyonunu kullanarak saptadık.

3.6.1.RT-PCR

RT-PCR aşamasında, ters transkriptaz enzimi kullanılarak RNA kalıpları cDNA'ya dönüştürüldü. cDNA sentezi WizScript™ cDNA Synthesis Kit protokolüne göre yapıldı.

Tablo 3-1:cDNA sentezi için gerekli olan karışım içeriği

Bileşenler	**Hacim**
10x reaksiyon tampon	2 µl
20x dNTP karışımı	1 µl
WizScript RTase	1 µl
RNase İnhibitör	0.5 µl
RNase free su	3.5 µl
Random Hexamer	2 µl
Son konsantrasyon	10 µl

-Her bir RNA örneğinden 400 ng alınıp, PCR tüpüne aktarıldı ve saf su ile 10 µl'ye tamamlandı ve üzerine 10 µl Tablo 3-1'deki karışım ilave edildi.

-Buz üzerinde yavaşça 2 kez pipetajlandı ve üzerindeki köpükler hafifçe döndürülerek giderildi.

- RT-PCR gerçekleştirilene kadar buz üzerinde tutuldu.

- Reaksiyon karışımı dikkatli bir şekilde karıştırıldı ve aşağıda belirtilen sıcaklık döngüleri (Tablo-3-2) kullanılarak cDNA reaksiyonları BioRad cihazında gerçekleştirildi. Reaksiyon sonrasında elde edilen cDNA'lar -20^{o}C'de saklandı.

Tablo 3-2:Reaksiyon döngüleri

	1.adım	**2.adım**	**3.adım**	**4.adım**
Derece	25	37	85	4
Zaman	10 dk	120dk	5 dk	∞

3.6.2. QPCR

Çalışılan her bir hedef genin ifade düzeyleri, housekeeping geni olarak kullanılan aktin beta (ACTB) ile karşılaştırılarak belirlendi.

Reaksiyonlarda kullanılan qPCR primerleri ve probları

Tablo 3-3:ACTB prob ve primerlerinin özellikleri.

Primer/Prob	**Dizi**	**Uzunluk (bç)**
İleri Primer	CCAACCGCGAGAAGATGA	18
Geri Primer	CCAGAGGCGTACAGGGATAG	20

Tablo 3-4:APE1 prob ve primerlerinin özellikleri.

Primer/Prob	**Dizi**	**Uzunluk (bç)**
İleri Primer	GCCAAGGCTTCGGGGAATTA	20
Geri Primer	GGTGTGTTGGGGTAGAGGTG	20

Tablo 3-5: OGG1 prob ve primerlerinin özellikleri.

Primer/Prob	Dizi	Uzunluk (bç)
İleri Primer	GTCACCTACCATGGCTTCCC	20
Geri Primer	CCCAGCTTCCTGAGATGAGC	20

Gerçek zamanlı qPCR protokolü

- 0,6 µM APE1, OGG1, ACTB ileri ve geri primerleri
- 6,4 µM nükleaz içermeyen su
- 10 µM qPCR master
- 0,4 µM 50x High ROX

Tablo 3-6:qPCR'ın sıcaklık döngüsü.

Adım	Sıcaklık	Süre (sn)	Döngü
Aktivasyon ve denaturasyon	**95**	**180**	**40**
Denaturasyon	**95**	**5**	
Bağlanma/uzama	**60**	**30**	

3-7-İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenler, Ortalama±Standart sapma (SD) ve Ortalama +- Standart hata (SE)olarak sunuldu. Gen ifade düzeylerinin analizi için, Student-t testi veya Mann-Whitney U testi testi kullanıldı. İki sürekli değişken arasındaki korelasyon analizi için "Pearson

korelasyon" kullanıldı. Tüm analizler istatistiksel yazılım paketi (SPSS, 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL)programı kullanılarak gerçekleştirildi.

4.Bulgular

4.1 Çalışma Hastaların Demografik ve Klinik Verileri

Çalışmanın sonuçları 35 hasta ve 37 sağlıklı kontrolden elde edilmiştir. 35 KBY hastasnın demografik ve klinik özelliklerinin dağılımları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4-1: Kronik böbrek yetmezliği hastalarının demografik ve klinik verileri

Yaş	57±14
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	33/12
Sigara kullanımı, n (%)	12(%34)
Diyabet n (%)	7 (%20)
Ek Hastalık n (%)	16 (%46)
Hemadiyaliz süresi (Ay)	72±11
Rezidual renal fonksiyon varlığı n (%)	10 (%29)
Üre (mg/dL)	10.1±0.3
Kreatinin (mg/dL)	8.4±2.9
Ürik asit (g/dl)	5.9±1.7
Kalsiyum	50.8±10.6
Serum Albumin (g/dl)	3.7±0.8
CRP (mg/L)	15.7±1.7
Hemoglobin (g/dl)	9.9±1.8

Ortalama±Standart sapma

4.2. APE1 ve OGG1 mRNA Ekspresyon Düzeyleri

APE1 ve OGG1 mRNA ifade düzeylerinin çalışma gruplarındaki değerleri $2^{-\Delta CT}$ olarak hesaplanmış ve Tablo 4.2'de verilmiştir. APE1 mRNA ifade düzeyleri açısından

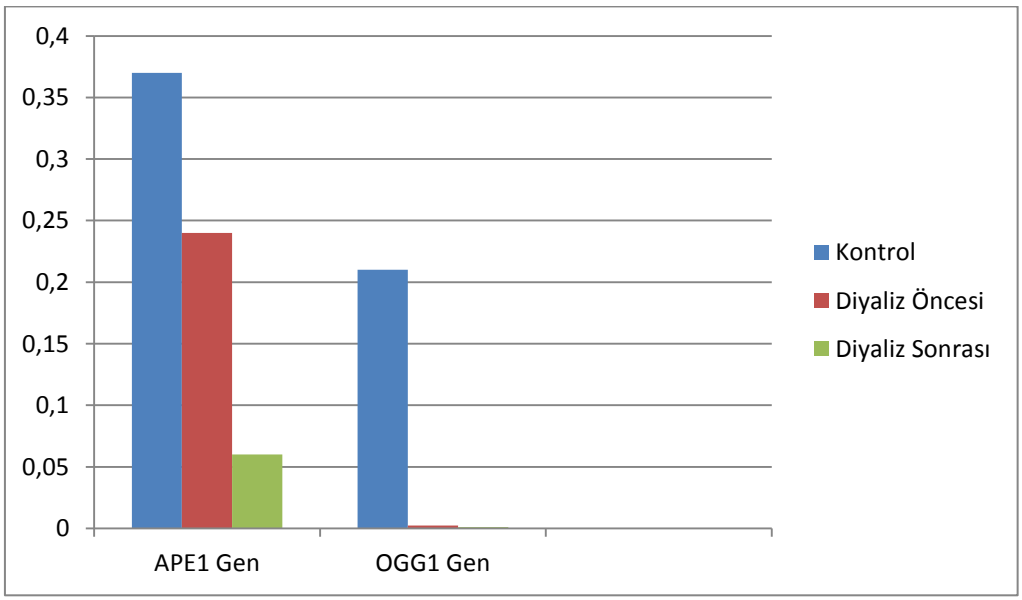
kontrol grubu ile diyaliz öncesi grup karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmezken, diyaliz sonrası grupta APE1 mRNA ifade düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir. Ayrıca diyaliz sonrası gruptaki değerler de, diyaliz öncesi gruba göre anlamlı derecede düşük olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1).. OGG1 mRNA ifade düzeyleri açısından kontrol grubu ile diyaliz öncesi ve sonrası gruplar karşılaştırıldığında, OGG1 mRNA ifade düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tespit edilmiştir. Ayrıca, diyaliz öncesi gruptaki OGG1 mRNA ifade düzeyleri, diyaliz sonrası gruptaki değerlerden istatiksel olarak anlamlı olarak yüksektir .

Tablo 4-2 Kontrol grubunda ve diyaliz öncesi ve sonrası gruplarda APE1 ve OGG1 mRNA ifade düzeyleri.

İfade Düzeyleri	Kontrol (n=45)	Diyaliz Öncesi (n=35)	*P	Diyaliz Sonrası (n=37)	*P	**P
APE1	0,37 ± 0,08	0,24 ± 0,08	0.24°	0,06± 0,02	0.0001▯	0.0001▯
OGG1	0,21 ± 0,07	0,0024 ± 0,0005	0.0001▯	0,0009 ± 0,0001	0.0001▯	0,003▯

Sonuçlar Ortalama ±SE olarak verilmiştir.; *Kontrol vs DÖ veya DS ; ** DÖ vs DS

Student t test ° veya Man Whitney U test ▯



Şekil-4-1: Çalışma gruplarındaki APE1 ve OGG1 ifade düzeyleri

Çalışma sonuçlarımızın değerlendirilmesinde ΔCT değerleri kullanılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerlerinin hesaplaması yapıldı. $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri Schmittgen ve Livak'ın 2008'de önerdiği denkleme göre her grup için $2^{-\Delta\Delta CT}$ değeri tespit edildi. Bunun için, hasta grubuna ait ΔCT grup ortalamalarından kontrol grubu ΔCt grup ortalamaları çıkarılarak, hasta grubuna ait ΔΔCT (ΔΔCt) elde edildi. Elde edilen değerler ΔΔCt değerleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülüne uygulanarak kat değişimleri hesaplandı.

Diyaliz öncesi grupta, APE1 ifade düzeyinin kontrol grubuna göre 0,17 kat oranında azaldığı görülmektedir (Tablo 4-3).

Tablo 4-3:APE1 geninin diyaliz öncesi ve kontroldeki ifade değerleri.

	ΔC_T(Ort)	$\Delta\Delta C_T$ (Ort)	$-2^{\Delta\Delta CT}$
HASTA	**4.84**	**2.58**	**0.17**
KONTROL	**2.26**	**0**	**1**

Diyaliz sonrası grupta, APE1 ifade düzeyinin kontrol grubuna göre 0,061 kat oranında azaldığı görülmektedir (Tablo 4-4).

Tablo 4-4:APE1 geninin diyaliz sonrası ve kontroldeki ifade değerleri.

	ΔC_T(Ort)	$\Delta\Delta C_T$ (Ort)	$-2^{\Delta\Delta CT}$
HASTA	**6.29**	**4.03**	**0.061**
KONTROL	**2.26**	**0**	**1**

Diyaliz öncesi grupta, OGG1 ifade düzeyinin kontrol grubuna göre 0,028 kat oranında azaldığı görülmektedir (Tablo 4-5).

Tablo 4-5:OGG1 geninin diyaliz öncesi ve kontroldeki ifade değerleri.

	ΔC_T(Ort)	$\Delta\Delta C_T$ (Ort)	$-2^{\Delta\Delta CT}$
HASTA	**9.85**	**5.13**	**0.028**
KONTROL	**4,72**	**0**	**1**

Diyaliz sonrası grupta, OGG1 ifade düzeyinin kontrol grubuna göre 0,022 kat oranında azaldığı görülmektedir (Tablo 4-5).

Tablo 4-6:OGG1 geninin diyaliz sonrası ve kontroldeki ifade değerleri.

	ΔC_T(Ort)	$\Delta\Delta C_T$ (Ort)	$-2^{\Delta\Delta CT}$
HASTA	**10,22**	**5.50**	**0.022**
KONTROL	**4,72**	**0**	**1**

Çalışmamızda diyaliz öncesi ve sonrası gruplarda APE1 ile OGG1 mRNA ifade düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceledik. Karşılaştırma Spearman's Rho testine göre yapıldı. Hem diyaliz öncesi grupta (r=--0.177. p=0.22) hem de diyaliz sonrası grupta (r=0.207 p=0.27) APE1 ile OGG1 ifade düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir.

4.3.Hemodiyaliz Tedavisi Öncesi ve Sonrası APE1 mRNA İfade Düzeyleri İle Labratuar Verilerin Korelasyonu

APE1 mRNA ifade düzeyleri ile hastaların laboratuvar verileri arasındaki ilişki araştırılmıştır (Tablo 4.7). Hemodiyaliz öncesi ve hemodiyaliz sonrası durumlarda üre hariç, herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. Üre değerleri açısından, diyaliz sonrası grupta APE1 mRNA ifade düzeyleri ile üre değerleri arasında pozitif yönde sınırda bir anlamlılık tespit edilmiştir (r=0.332, p=0.05).

Tablo 4-7: APE1 mRNA ekspresyonunun hastaların klinik verileri ile korelasyonları.

	Diyaliz Öncesi		Diyaliz Sonrası	
	r	**p**	**r**	**p**
ÜRE	0.144	0.40	0,332	0.05
KREATİNİN	0.114	0.51	0.20	0.23
KALSİYUM	0.021	0.90	-0.017	0.92
ALBUMİN	-0.029	0.86	0.23	0.18
CRP	0.018	0.92	0.030	0.86
ÜRİK ASİT	0.315	0.06	0.086	0.62
HEMOGLOBİN	-0.215	0.21	0.137	0.43

4.4.Hemodiyaliz Tedavisi Öncesi ve Sonrası OGG1 mRNA İfade Düzeyleri İle Labratuar Verilerin Korelasyonu

OGG1 mRNA ifade düzeyleri ile hastaların laboratuvar verileri arasındaki ilişki araştırılmıştır (Tablo 4.8). Hemodiyaliz öncesi ve hemodiyaliz sonrası durumlarda herhangi bir korelasyon saptanmamıştır.

Tablo4-8: OGG1 mRNA ekspresyonunun hastaların klinik verileri ile korelasyonları.

	Diyaliz Öncesi		Diyaliz Sonrası	
	r	**p**	**r**	**p**
ÜRE	0.048	0.78	0.061	0.72
KREATİNİN	-0.013	0.94	0.003	0.98
KALSİYUM	-0.047	0.78	-0.045	0.80
ALBUMİN	-0.115	0.504	0.225	0.188
CRP	0.077	0.656	0.071	0.68
ÜRİK ASİT	-0.157	0.361	0.064	0.71
HEMOGLOBİN	0.157	0.36	0.140	0.41

5. TARTIŞMA

Mikronukleus, comet assay, kardeş kromatid değişimleri, kromozom anormallikleri ve mitokondriyal DNA delesyonu gibi DNA hasarlarını gösteren analizler kullanılarak KBY hastalarında yapılan çalışmalar, hastalardaki genomik hasar düzeyinin yüksek olduğunu göstermiştir (27-29). Bu durum, DNA tamir mekanizmalarındaki yetersizlikten veya antioksidan sistem yetersizliği gibi sebeplerden kaynaklanabilir. Çalışmamızda SDBY hastalarında DNA'da oluşan hasarların tamirinden sorumlu BER mekanizmasında rol oynayan APE1 ve OGG1 genlerin ifade düzeylerini hemodiyalizden önce ve sonra tespit edip, kontrol grubundaki değerler ve hastaların klinik verileri ile karşılaştırdık.

Hastaların APE1 gen ifade düzeylerini kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, diyaliz öncesi grupla anlamlı bir fark yokken, diyaliz sonrası grupta anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu durum, SDBY hastalarındaki APE1 tamir enzim ifade düzeyinin bazal şartlarda normal düzeyde olduğunu fakat diyaliz sürecinin, gen ifade düzeyini değiştirdiğini göstermektedir. Diğer yandan OGG1 gen ifade düzeyinin bazal durumda kontrol grubundaki değerlerden düşük olduğunu, aynı zamanda diyaliz sürecinin de gen ifade düzeyini düşürdüğünü tespit ettik.

Bagatini ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hemodiyalizden hemen sonra lökosit DNA hasarlarının arttığı, 48 saat sonra düştüğü ve 72 saatte tekrar arttığı tespit edilmiştir (30). Diyalizden hemen sonraki artış sebebinin, kullanılan selüloz membranların etkisi olarak ifade edilmiştir. Diğer yandan, Bagatini 48. saatte azalan DNA hasarının, DNA tamir mekanizmasının devreye girmesinden veya hasarlanmış hücrelerin ortadan kaldırılmasından kaynaklanmış olabileceğini ifade etmiştir. Bagatini, DNA tamir mekanizmasının 48 saaten sonra devreye girmiş olabileceği şeklinde bir yorumda bulunurken, bizim bulgularımız, hastaların hemodiyaliz sürecinde gelişen DNA hasarına bir yanıt olarak DNA tamir sisteminin devreye girmesi ve mevcut mRNA'ların proteine dönüşmesi sonucu gen ifade düzeylerinin azalması yönünde olabilir.

Diyaliz sürecinin DNA hasarlarına yol açtığı başka çalışmalarda da gösterilmiştir. Müller ve arkadaşları 3 farklı membran tipi ile yaptıkları DNA hasar analizlerinde, kullanılan 3 membran tipininde de farklı oranlarda DNA hasarları tespit edilmiştir (31). Bu çalışmalarda, diyaliz süreçlerinde kullanılan membranlar ile kan hücrelerinin temasının biyouyumsuzluk gösterdiği ve bu durumunda DNA hasarlarına yol açtığı ifade edilmiştir. Bu süreçte aktive olan granülositlerde oksijen metabolizması artmakta ve ROS üretiminin artmasına bağlı olarak artmış oksidatif stres yoluyla DNA hasarları artmaktadır (31).

Bizim çalışmamızda ise günümüzde yaygın olarak kullanılan MCO (medium cut-off) diyaliz membran kullanılmıştır. Bu mebran tipi, yeni bir membran tipi olup bu konuda yapılmış çok fazla sayıda çalışma yoktur. Comoğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, oksidatif stres markırları açısından bu membran çeşidi ile diğer membran çeşitleri arasında bir fark tespit edilmemiş olması, bu mebran tipinin da benzer şekilde oksdatif stres yoluyla DNA hasarlarına yol açmış olabileceğini göstermektedir (34). Dolayısı ile hemodiyaliz sonrası APE1 ve OGG1'in ifade düzeylerindeki düşme, artmış DNA hasarına verilen yanıt sonucu olabilir.

Himmelfarb ve arkadaşlarının çalışmalarında, hemodiyaliz sürecinin antioksidan düzeylerinde yaygın bir azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir (32). Diğer yandan Vamvakas ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, DNA tamir mekanizmasının diyaliz tedavisi ile etkilenmediği veya hafif artış gösterdiği ifade edilmiştir (33). Diğer çalışmalarda, hemodiyaliz tedavisi gören hastalardaki DNA tamir aktivitesinin düşük olduğu tespit edilmiştir (35, 36).

KBY hastalarının kanser, kardiyovasküler hastalıklarda artmış eğilimli olma sebebinin, DNA tamir yetersizliğinden kaynaklı tamir edilemeyen DNA hasarları olduğu ifade edilmektedir (37).

APE1, DNA onarım işlevlerine sahip olmasının yanı sıra oksidatif strese karşı hücresel tepkileri kontrol eden çok işlevli bir proteindir (38). APE1'in çeşitli hastalıkların ilerleme ve sonuçlarında önemli rolleri vardır. Yaşla birlikte artan DNA hasar durumlarında, DNA onarım aktivitelerinin azalması doğal bir süreçtir (39). Bu duruma bağlı olarak, birçok dokuda yaşa bağlı APE1 aktivitesinin azaldığı gösterilmiş (40) olmasına rağmen böbreklerde azalmadığı tespit edilmiştir (41). Bu durum bizim sonuçlarımızı da desteklemektedir. Çalışmamızda, APE1'in gen ifade düzenin kontrol grubunda değişmediğini tespit ettik. Bu konuda yapılmış başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Diğer yandan APE1 aktivitesinin böbrek hasarlarında etkili rol oynadığı gösterilmiştir (42). Böbrek hasarlarında yanıt olarak devreye giren APE1 aktivitesinin, sadece antioksidan ve DNA onarım sistemleri yoluyla değil, aynı zamanda bağışıklık sistemi ve apoptotik süreçler vasıtasıyla da etkin rol oynadığı gösterilmiştir.

8-Okso-deoksiguanin (8-okso-dG), oksidatif DNA hasarının önemli bir şeklidir. 8-Oxo-dG, karsinojenez, yaşlanma ve yaşa bağlı çeşitli dejeneratif hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadır (43). Ayrıca, 8-okso-dG KBY hastalarında da oksidatif stres ve inflamasyonun önemli biyomarkırı olarak yer almaktadır (44). Diyaliz hastalarının serumlarında da yüksek düzeyde 8-okso-dG tespit edilmiştir (45). 8-Oxo-dG, esas olarak BER onarım yolu yoluyla onarılır. 8-okso-dG'yi tanıyan ve onaran enzimini kodlayan gen, 8-oksoG-DNA glikozilazdır (46). OGG1'deki eksikliğin önemli fonksiyonel sonuçları vardır ve

hücrelerin DNA'yı tamir etme yeteneğini tehlikeye atar (47). Bu genin mutant formları akciğer ve böbrek tümörlerinde bulunmuştur (48). Bizim çalışmamızda bulduğumuz düşük OGG1 gen ifade düzeyi yukarıdaki bulguları desteklemektedir

OGG1 gen varyantlarının, enzim aktivitesini etkileyerek DNA hasar düzeylerine ve hastalıklara yatkınlıkta etkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (48, 49). SDBY, hastalarında yapılan bir çalışmada OGG1 c.977C > G (Ser326Cys) polimorfizmi ile 8-Oxo-dG düzeyleri arasında ilişki tespit edilmiştir (50). Başka bir çalışmada ise OGG1 1245C-->G polimorfizmi ile hem hastalığa risk açısından hem de ile 8-Oxo-dG düzeyleri arasında ilişki tespit edilmiştir (51). Bu sonuçlar OGG1'in SDBY hastalarındaki önemini göstermektedir.

APE1 ve OGG1 gen ifade düzeyleri ile hastaların klinik verileri arasındaki ilişki incelememizde sadece APE1 ile diyaliz sonrası üre düzeyleri arasında sınırda bir anlamlılık tespit edilmiştir. Bu durum hem örnek sayısının çok fazla olmaması hem de sınırda anlamlılık olması açısından, konunun aydınlatılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç göstermektedir. Bu konuda yapılmış literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır (52).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

KBY'li hastalar, sağlıklı insanlara kıyasla yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir. ROS ve antioksidatif mekanizmalar arasındaki bir dengesizlikten kaynaklanan aşırı oksidatif stres SDBY hastalarında gösterilmiş olup, bu durumun mutasyonlar gibi genetik etkilerinin de olabileceği ifade edilmiştir ki, bu hastaların kanser ve kardiyovasküler hastalıklarda eğilimlerinin olması bu durumu desteklemektedir. Çalışmamızda DNA onarımında rol oynayan enzimlerin gen ifade düzeylerindeki bozukluklar gösterilmiş olup, hemodiyaliz sürecinin bu bozuklukları daha da arttırmış olması, bu hastalardaki oksidatif nükleik asit hasarını azaltmak için farklı stratejiler ve biyobelirteçlerin geliştirilmesini gerekli kılmaktadır. KBH hastalarında oksidatif stresi önlemede antioksidanların kullanımı ve yeni diyalitik tekniklerin etkinliğine ile ilgili çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızın sınırlı örnek sayısı ile elde edilmiş verilerinin, bu konuda yapılacak olan yeni çalışmalara ışık tutacağını ümit etmekteyiz.

KAYNAKLAR

1-Coresh J, Stevens L, Zhang Y, Lente F, Greene T, 2009. A new equation to stimate glomerular filtration rate, 4819-150-9

2-Cottone S, Riccobene R, Mule G, Nardi E,Arsena R, 2008, Oxidative stress, inflammation and cardiovascular disease in chronic renal failure. 21: 175-179

3-Michelle P, Gandy S, Nadir M, Houston G, 2011, Allopurinol Benefits Left Ventricular Mass and Endothelial Dysfunction in Chronic Kidney Disease, 22 (7) 1382-1389.

4-Lin Y, Chen H, Chen T, Hsu T, Peng C, Wu M, 2016. Different effect of hypercholesterolemia on mortality in hemodialysis patients based on coronary artery disease or myocardial infarction, 12944-016-0380-7.

5- Liakopoulos S, Roumeliotis S, Dounousi E, Mertens P, 2017, Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature, 10.1155

6-chen Y, Gibson s, 2007, Is mitochondrial generation of reactive oxygen species a trigger for autophagy**?, 4**-246-248.

7-Modlinger P.S, Wilcox S, Aslam S, 2004, Nitric oxide, oxidative stress, and progression of chronic renal failure,24(4)- 354-365.

8-Lindahl T, Barnes D, 2000, Repair of Endogenous DNA Damage, 65: 127-134.

9-Mahadevan V, 2019, Anatomy of the kidney and ureter, 37(7) 359:364

10- Lozano R, Naghavi M, Foreman,K , 2015, Changes in health in England, with analysis by English regions and areas of deprivation, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. 386:5-11.

11- Mills KT, Xu Y, Zhang W, 2015, A systematic analysis of worldwide population-based data on the global burden of chronic kidney disease in 2010, 88(5): 950-957.

12-Staples A, Wong C, 2011, Risk Factors for Progression of Chronic Kidney Disease, 22(2): 161–169.

13- Sanna-Cherchi S, Ravani P, Mattioli G,2009, Renal outcome in patients with congenital anomalies of the kidney and urinary tract, 76(5):528-33.

14-Hannan M, Ansari S, Meza N,Waikar S, 2021, Risk Factors for CKD Progression, 16 (4) 648-659.

15- Valko M, Izakovic M, 2004, Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. 266(1-2):37-56.

16-Allen R. Nissenson and Richard N, 2015, Hemodialysis machine, 978-1-4160.

17- Bhattacharyya A,, Chattopadhyay R,r Mitra S, 2014, Oxidative Stress: An Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases

18- Pacher P, Beckman JS, 2007, Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease, 87(1):315-424.

19- Bahorun T., Soobrattee M. A,2019, ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN BIOLOGICAL SYSTEMS, 5(2)- 155 – 162.

20-David M. Small and Glenda C. Gobe, 2012, Oxidative Stress and Antioxidant Therapy in Chronic Kidney and Cardiovascular Disease, 10.5772/51923.

21-Freidberg E, 2003,DNA damage repair, 421, 436–440.

22-Lee T, KAng T, 2019, DNA Oxidation and Excision Repair Pathways, *20*(23), 6092.

23-Guillotin D, Martin S, 2014, Exploiting DNA mismatch repair deficiency as a therapeutic strategy.

24-Suman S,Glickman M, 2007, DNA repair by non-homolog endjoining, , 852–861 (2007).

25-Ramotar D, Nepveu A, Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 performs multiple roles in controlling the outcome of cancer cells toward radiation and chemotherapeutic agents, 2018, 9(2)-67:78.

26-Hashiguchi K, Stuart J, Bohr V, 2004, 32(18):5596-608.

27-Guven GS, Altiparmak MR, Trabulus S, Yalin AS, Batar B, Tunckale A, Guven M. 2013.Relationship Between Genomic Damage and Clinical Features in Dialysis Patients. Genet Test Mol Biomarkers,17(3):202-6.

28- Schupp N, Stopper H, Rutkowski P, Kobras K, Nebel M, Bahner U, Vienken J, Heidland A,2006, Effect of different hemodialysis regimens on genomic damage in end-stage renal failure, Semin. Nephrol**. 26 (2) 28–32.**

29- Stopper H, Boullay F, Heidland A, Vienken J, Bahner U,2001, Comet-assay analysis identifies genomic damage in lymphocytes of uremic patients, Am. J. Kidney Dis. 38 (1) 296–301.

30-Bagatini PB, Palazzo RP, Rodrigues MTet al.,2008 Induction and removal of DNA damage in blood leukocytes of patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. Mutat Res; 657: 111–115

31- Müller C, Eisenbrand G, Gradinger M, Rath T, Albert F.W, Vienken J., Singh R, Farmer P.B, Stockis J.P, Janzowski C,2004, Effects of hemodialysis, dialyser type and iron infusion on oxidative stress in uremic patients, Free Radic. Res. 38 (2) 1093–1100.

32- Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler T.A, Hakim R.M, 2002, The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia, Kidney Int. 62 (2)1524–1538.

33- Vamvakas S, Bahner U, Becker P, Steinle A, Götz R, Heidland A,1996, Impairment of DNA repair in the course of long-term hemodialysis and under cyclosporine immunosuppression after renal transplantation, Transplant Proc. 28 (1996) 3468–3473.

34-Comoglu M, Dede F, Yenigun EC, Topcuoglu C, Inan O, Sahiner ES, Ates I, 2021.Effects of Medium Cutoff Membranes on Pro-Inflammatory Cytokine and Oxidative Marker Levels in Patients with Sepsis Who Developed Acute Kidney Injury Blood Purif. 2021 (11) 23:1-8.

35- Zevin D, Malachi T, Gafter U, Friedman J, Levi J, 1991"Impaired DNA repair in patients with end-stage renal disease and its improvement with hemodialysis," Mineral and Electrolyte Metabolism. 17, (5), 303–306, 1991.

36- Vamvakas S, Bahner U, Becker P. Steinle A, Gotz R, Heidland A, 1996, "Impairment of DNA repair in the course of longtermhemodialysis and under cyclosporine immunosuppression after renal transplantation," Transplantation Proceedings, 28,(6), 3468–3473, 1996.

37-Schupp N, Stopper H, Heidland A. 2016, DNA Damage in Chronic Kidney Disease: Evaluation of Clinical Biomarkers Oxid Med Cell Longev.;2016:3592042.

38-Thakur, S. et al. (2014). APE1/Ref-1 as an emerging therapeutic target for various human diseases: phytochemical modulation of its functions. Exp Med. 46, e106.

39-Xu G, Herzig M, Rotrekl V, Walter CA, 2008. Base excision repair, aging and health span. Mech Ageing Dev;129: 366–382.

40-Chen D, Cao G, Hastings T, Feng Y, Pei W. O'Horo C, Chen J. 2002,Age-dependent decline of DNA repair activity for oxidative lesions in rat brain mitochondria. J Neurochem; 81:1273–1284.

41-Szczesny B, Tann AW, Mitra S. 2010, Age- and tissue specific changes in mitochondrial and nuclear DNA base excision repair activity in mice: susceptibility of skeletal muscles to oxidative injury. Mech Ageing Dev;131: 330–337.

42-Maruyama K, Nakagawa N, Aonuma T, Saito Y, Hayasaka T, Kano K, Horiuchi K, Takehara N, Kawabe JI, Hasebe N. 2019, The antioxidant and DNA-repair enzyme apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 limits the development of tubulointerstitial fibrosis partly by modulating the immune system. Sci Rep. 24;9(1):7823.

43-Fortini P, Pascucci B, Parlanti E, D'Errico M, Simonelli V, Dogliotti E. 8-Oxoguanine DNA damage, 2003: at the crossroad of alternative repair pathways. Mutat Res. ;531:127–139.

44-P. S. Tucker, V. J. Dalbo, T. Han, and M. I. Kingsley, 2013, "Clinical and research markers of oxidative stress in chronic kidney disease," Biomarkers, 18,(3)–115.

45-Haghdoost S, Maruyama Y, Pecoits-Filho R, Heimburger O, Seeberger A, Anderstam B, Suliman ME, Czene S, Lindholm B, Stenvinkel P, Harms-Ringdahl M. 2006; Elevated serum 8-oxo-dG in hemodialysis patients: a marker of systemic inflammation? Antioxid Redox Signal. 8(11-12):2169-73

46- Boiteux S, Radicella JP. 2000,The human OGG1 gene: structure, functions, and its implication in the process of carcinogenesis. Arch Biochem Biophys.;377:1–8.

47-Dhenaut A, Boiteux S, Radicella JP. 2000, Characterization of the hOGG1 promoter and its expression during the cell cycle. Mutat Res. ;461:109–118

48- Chevillard S, Radicella JP, Levalois C, Lebeau J, Poupon MF, Oudard S, Dutrillaux B, Boiteux S. (1998), Mutations in OGG1, a gene involved in the repair of oxidative DNA damage, are found in human lung and kidney tumours. Oncogene, 16 pp. 3083-3086

49-Smart DJ, Chipman JK, Hodges NJ. 2006, Activity of OGG1 variants in the repair of pro-oxidant-induced 8-oxo-2'-deoxyguanosine. DNA Repair (Amst). 8;5(11):1337-45

50- Miglani K, Kumar S, Yadav A, Aggarwal N, Gupta R. 2021 Jan, OGG1 DNA Repair Gene Polymorphism As a Biomarker of Oxidative and Genotoxic DNA Damage. Iran Biomed J.;25(1):47-53.

51-Cai Z, Chen H, Tao J, Guo W, Liu X, Zheng B, Sun W, Wang Y. 2012;Association of Base Excision Repair Gene Polymorphisms with ESRD Risk in a Chinese Population Oxid Med Cell Longev. 2012:928421.

52- Tarng D. C.,. Tsai T. J,. Chen W. T,. Liu T. Wei Y. H, , 2001. "Effect of human OGG1 1245 C -- >G polymorphism on 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels of leukocyte DNA among among patients undergoing chronic hemodialysis," Journal of the American Society of Nephrology,. 12, (11),. 2338–2347.