

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA OLASI
GENOTOKSİK HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzm. Dr. Yücel YÜZBAŞIOĞLU

**Farmasötik Toksikoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

ANKARA

2024

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA OLASI
GENOTOKSİK HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzm. Dr. Yücel YÜZBAŞIOĞLU

**Farmasötik Toksikoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ**

ANKARA

2024

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA OLASI
GENOTOKSİK HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzm. Dr. Yücel YÜZBAŞIOĞLU

Danışman: Prof. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ

İkinci Danışman: -

Bu tez çalışması 22.02.2024 tarihinde jürimiz tarafından "Farmasötik Toksikoloji Programı"nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: *Prof. Dr. Nurşen BAŞARAN*
(Başkent Üniversitesi)

Üye: *Prof. Dr. Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT*
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: *Prof. Dr. Merve GÜDÜL BACANLI*
(Sağlık Bilimleri Üniversitesi)

Üye: *Prof. Dr. Aylin ÜSTÜNDAĞ*
(Ankara Üniversitesi)

Üye: *Doç. Dr. Gözde GİRGİN*
(Hacettepe Üniversitesi)

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

26 Şubat 2024

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

22 / 02/ 2024

Yücel YÜZBAŞIOĞLU

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığımı beyan ederim.

Yücel YüZBAŞIOğLU

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimde beni destekleyen, deneyimleri ile beni yönlendiren, bilgisi ile bana akademik bir vizyon kazandıran, çalışmalarımda beni cesaretlendiren güler yüzünü hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ'e,

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalında Doktora yapma fırsatını sağlayan ve akademik ve mesleki gelişimim sürecinde bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, yalnızca tez sürecinde değil her türlü sorunumda desteğini esirgemeyip bana içtenlikle yardımcı olan, onun öğrencisi olmaktan her zaman övgüyle bahsedeceğim ilk tez hocam saygıdeğer Prof. Dr. Nurşen BAŞARAN'a,

Bilimsel deneyim kazanmamda emeği geçen Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine,

Tez çalışmam sırasında akademik bilgi ve becerisini hiçbir zaman benden esirgemiyen desteklerini her zaman yanımda hissettiğim Prof.Dr. Yavuz KATIRCI ve Doç.Dr. Çiğdem YÜCEL hocalarıma,

Tez çalışmama gönüllü olarak katılan tüm bireylere,

Beni her zaman destekleyen eşim Dr. Öğr. Üyesi Sema Yüzbaşıoğlu ve çocuklarım Kutay ve Fatma Zehra'ya

Doktora Tez Projesi kapsamında destek veren Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Teşekkür ederim.

ÖZET

Yüzbaşıoğlu, Y. Son Dönem Böbrek Yetmezliği Hastalarında Olası Genotoksik Hasarın değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2024. Kronik böbrek hastalığı, fonksiyonel nefronların kalıcı kaybıyla karakterize, yaygın, ilerleyici bir hastalıktır. Son dönem böbrek yetmezliğinin (SDBY) geri dönüşü olmayan bir hastalık olduğu bilinmektedir. Düzenli diyalize başlamanın genel olarak oksidatif stresi artırıp artırmadığı konusunda bazı tartışmalar vardır. Artan oksidatif stres diyaliz hastalarında mortaliteyi artırır. SDBY'de kronik hastalık seyrinde inflamasyonda artış, oksidatif stres ve buna eşlik eden DNA hasarının gelişmesi beklenmektedir. Ağır metaller de dâhil olmak üzere pek çok faktör hasarı daha da şiddetlendirebilir. SDBY hastalarında bu faktörler arasındaki ilişkinin ortaya konulması da önemlidir. Oksidatif strese bağlı genotoksik olayların SDBY hastalarını nasıl etkilediğini bir arada gösteren çalışmalar dünyada oldukça sınırlı sayıda olup ülkemizde de bulunmamaktadır. Bu çalışma kapsamında hemodiyaliz tedavisi gören ve görmeyen SDBY hastalarında genotoksik hasar Comet yöntemi ve 8-hidroksi-2 deoksiguanosin (8-OHdG) ölçümü ile değerlendirildi. Genotoksik değişiklikler arasındaki ilişki, biyokimyasal değişiklikler, kandaki ağır metal seviyeleri (alüminyum, arsenik, kadmiyum, kurşun ve cıva), süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, malondialdehit (MDA) seviyeleri gibi oksidatif biyobelirteçler ölçülerek değerlendirildi. Genotoksisite, oksidatif stres ve ağır metal düzeyleri tüm hastalarda anlamlı derecede arttı. Diyalize giren hastalarda, diyalize girmeyenlere göre DNA hasarı, 8-OHdG ve MDA anlamlı derecede arttı, glutatyon ise anlamlı derecede azaldı. Hastalık süresi, artan Al düzeyleri ile güçlü pozitif korelasyona sahipken, artan DNA hasarı ve kadmiyum seviyeleri ile orta derecede pozitif korelasyona sahipti. Sonuç olarak, ileri çalışmalar gerekli olmakla birlikte SDBY hastalarında oksidatif strese bağlı DNA hasarının ve ağır metal yükünü azaltılması yönünde yaklaşımlar önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Son dönem böbrek yetmezliği, oksidatif stres, genotoksisite, immünotoksisite

Destekleyen Kurum: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje No: THD-2022-20254)

ABSTRACT

Yüzbaşıoğlu, Y. Evaluation of Possible Genotoxic Damage in Patients with End-Stage Renal Failure, Hacettepe University Graduate School Health Sciences, Doctor of Philosophy Thesis in Pharmaceutical Toxicology, Ankara, 2024. Chronic kidney disease is a common progressive disease characterized by the permanent loss of functional nephrons. End-stage renal failure (ESRD) is known to be an irreversible disease. There is some debate as whether the initiation of regular dialysis in general increases oxidative stress. Increased oxidative stress increases mortality in dialysis patients. Inflammation increased oxidative stress and concomitant DNA damage are expected to develop in the course of chronic disease in ESRD. Many factors, including heavy metals, can further exacerbate the damage. It is also important to reveal the relationship between these factors in ESRD patients. Studies showing how oxidative stress-related genotoxic events affect ESRD patients do not exist in our country and are very limited in the world. Within the scope of this study, genotoxic damage was determined by the Comet method and 8-hydroxy-2 deoxyguanosine (8-OHdG) levels in patients with ESRD who were undergoing hemodialysis or not. The relationship between genotoxic changes were evaluated by measuring the biochemical changes, the levels of heavy metals (aluminum, arsenic, cadmium, lead, and mercury) in the blood, the oxidative biomarkers including superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, malondialdehyde (MDA) levels. Genotoxicity, oxidative stress, and heavy metal levels increased significantly in all patients. DNA damage, 8OHdG and MDA significantly increased, whereas Glutathione significantly decreased in the patients undergoing dialysis compared to those not undergoing dialysis. The duration of disease was strong positively correlated with increased Al levels and moderate positively correlated with increased DNA damage and cadmium levels. In conclusion, although further studies are needed, the approaches to reduce oxidative stress-related DNA damage and heavy metal load in ESRD patients are recommended.

Key Words: End-stage renal failure, oxidaitve stess, genotoxicity, immunotoxicity

Supported by: Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project no: THD-2022-20254)

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kronik Böbrek Hastalığı	4
2.1.1. Kronik Böbrek Hastalığı Tanı Kriterleri ve Evreleri	4
2.1.2. Kronik Böbrek Hastalığının Epidemiyolojisi	7
2.1.3. Kronik Böbrek Hastalığı Etiyolojisi	8
2.1.4. Kronik Böbrek Hastalığının Belirtileri	9
2.1.5. Kronik Böbrek Hastalığının İlerleme Hızına Etki Eden Faktörler	9
2.1.6. Kronik Böbrek Hastalığı Klinik Özellikleri ve Komplikasyonları	14
2.2. Renal Replasman Tedavileri	22
2.3. Renal Transplantasyon	23
2.4. Hemodiyaliz ve Genel İlkeleri	24
2.5. Periton Diyalizi	28
2.6. KBH ve Serbest Radikaller	28
2.7. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	28
2.8. Oksidatif Stres	30
2.9. Antioksidanlar	31
2.10. Ağır metaller	35
2.10.1. Arsenik Toksisitesi	36
2.10.2. Kurşun Toksisitesi	37

2.10.3. Kadmiyum Toksisitesi	39
2.10.4. Civa Toksisitesi	42
2.10.5. Alüminyum Toksisitesi	44
2.11. Son Dönem Böbrek Yetmezliğinde ve Diyaliz hastalarında Ağır Metal Toksisitesi ve Önemi	46
2.12. Tek Hücre Jel Elektroforez (Comet) Yöntemi	48
3. GEREÇ ve YÖNTEM	49
3.1. Kimyasal Maddeler	49
3.2. Araç ve Gereçler	50
3.3. Çözeltilerin Hazırlanması	51
3.3.1. Oksidatif Hasar Göstergelerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Çözeltiler	51
3.3.2. Tek Hücre Jel Elektroforez Yönteminde Kullanılan Çözeltiler	54
3.3.3. ICP-MS ile Ağır Metal Analizinde Kullanılan Çözeltiler	56
3.4. Çalışma Grubunun Seçimi	57
3.5. Çalışma Grubundan Biyolojik Örneklerin Alınması	58
3.6. Hemogram Parametrelerinin Değerlendirilmesi	58
3.7. Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi	59
3.8. Böbrek Fonksiyon Parametrelerinin Değerlendirilmesi	59
3.9. Protein Miktar Tayini	59
3.10. Oksidatif Stres Parametrelerinin Değerlendirilmesi	60
3.10.1. SOD Enzim Düzeyinin Ölçümü	61
3.10.2. CAT Düzeyini Ölçümü	62
3.10.3. GPx Düzeyini Ölçümü	64
3.10.4. GSH Düzeyini Ölçümü	66
3.10.5. MDA Düzeyini Ölçümü	67
3.10.6. 8-OHdG Düzeyinin Ölçümü	69
3.10. Tek Hücre Jel Elektroforez Yöntemi ile DNA Hasarının Belirlenmesi	71
3.11. ICP-MS Yöntemi	72
3.12. İstatistiksel Yöntemler	73
4. BULGULAR	75
4.1. Demografik Bulgular	75

4.2. Hemogram ve Biyokimyasal Sonuçlara İlişkin Bulgular	77
4.3. Böbrek Fonksiyon Parametrelerine İlişkin Bulgular	79
4.4. Ağır Metal Düzeylerine İlişkin Bulgular	80
4.5. Oksidatif Stres Parametrelere İlişkin Bulgular	83
4.6. Tek Hücre Jel Elektroforez Yöntemine İlişkin Bulgular	85
4.7. Böbrek Hastalığı ve Diyaliz Süresine İlişkin Bulgular	86
5. TARTIŞMA	88
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	96
7. KAYNAKLAR	97
8. EKLER	
EK-1: Orjinallik Raporu	
EK-2: Etik Kurul İzin Belgesi	
EK-3: Anket Formu	
EK-4: Tez Çalışması ile İlgili Yayın	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

8-OHdG	8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
CAT	Katalaz
Comet	Tek hücre jel elektroforezi
CRP	C reaktif protein
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> , Çevre Koruma Ajansı
EtBr	Etidyum bromür
GPx	Glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
GSH	Redükte glutatyon
GSSG	Okside glutatyon, glutatyon disülfid
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HCT	<i>Hematocrit</i> , Hematokrit
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i> , Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HG	Hemoglobin
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i> , Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
IL	İnterlökin
LD₅₀	Hayvan popülasyonunun %50'inde ölüm meydana getiren doz
LMPA	Düşük erime noktalı agar
MDA	Malondialdehit
mRNA	Messenger (Haberci) ribonükleik asit
NaCl	Sodyum klorür
NADP⁺	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NaOH	Sodyum hidroksit

NMPA	Normal erime noktalı agar
NO₂	Nitrik oksit
NRBC	<i>Nucleated RBC</i> , Çekirdekli kırmızı kan hücresi
O₂	Moleküler oksijen
O₂⁻	Süperoksit
OH⁻	Hidroksil
ONOOH	Peroksinitrit
PBMC	<i>Peripheral Blood Mononuclear</i> , Periferik kan mononükleer hücre
PBS	Fosfat tamponlu serum fizyolojik
PCT	<i>Procalcitonin</i> , Prokalsitonin
PDW	<i>Platelet Distribution Width</i> , Trombosit dağılım genişliği
PEL	<i>Permissible Exposure Limit</i> , İzin verilen maruz kalma sınırı
PLT	<i>Platelet</i> , Trombosit
RBC	<i>Red Blood Cell</i> , Kırmızı kan hücresi
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARs	Tiyobarbitürik asit reaktif türleri
TK	Toplam kolesterol
TNB	5-tiyo-2-nitrobenzoik asit
TNF	Tümör nekroz faktör
WBC	<i>White Blood Cell</i> , Beyaz kan hücresi

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.	Ağır metallerin hücre içi etkileri	35
2.2.	Kuyruklu yıldız görünümü	49
4.1.	Çalışma gruplarının lenfositlerindeki DNA hasarı	85

TABLolar

Tablo		Sayfa
2.1.	KBH tanı kriterleri	5
2.2.	Kronik böbrek hastalığında GFR ve albüminüri kriterleri	7
2.3.	Kronik böbrek hastalığının ilerlemesinden sorumlu risk faktörleri	10
2.4.	Rehberlere göre KBH hedef kan basıncı değerleri ve tedavi seçenekler	13
2.5.	İleri evre KBH nın (üremik sendrom) klinik özellikleri	15
2.6.	Metabolizma sırasında oluşan ROS ve RNS'lerin listesi	29
3.1	Metal analizinde operasyonel parametreler	71
4.1.	Çalışma gruplarının özellikleri	76
4.2.	Çalışma gruplarının hemogram sonuçları	78
4.3.	Çalışma gruplarının biyokimyasal parametreleri	79
4.4.	Çalışma gruplarının böbrek fonksiyon parametreleri	80
4.5.	Çalışma gruplarının ağır metal düzeyleri	81
4.6.	Çalışma gruplarının oksidatif stres parametreleri	84
4.7.	Böbrek hastalığının süresine bağlı olarak ağır metal, oksidatif stres ve DNA hasarı parametrelerindeki değişiklikler	87

1. GİRİŞ

Kronik Böbrek Hastalığı (KBH), dünya çapında genel nüfusun %10'undan fazlasını, yani 800 milyondan fazla kişiyi etkileyen; 21. yüzyın en önemli ölüm nedenlerinden biri olarak sayılmaktadır. KBH böbreğin yapısını ve fonksiyonunu etkileyen heterojen hastalıklar için kullanılan genel bir terimdir. KBH'nin tanımı, sınıflandırılması ve değerlendirilmesi, 2012'den bu yana Böbrek Hastalığını İyileştiren Küresel Sonuçlar (*Kidney Disease Improving Global Outcomes: KDIGO*) kılavuzlarına dayanmaktadır. KBH tanısı, çoğunlukla bir filtrasyon belirtecinden glomerüler filtrasyon hızının (*Glomerular Filtration Rate: GFR*) tahmin edilmesiyle laboratuvar testleriyle konur. KDIGO raporunda KBH tanımı, klinik tanı olmaksızın 3 ay veya daha uzun süre boyunca böbrek hasarının (albüminüri) veya böbrek fonksiyonunda azalmanın ($GFR < 60 \text{ mL/dak/1,73 m}^2$) varlığı olarak verilmektedir (1,2). KBH ilerledikçe GFR düşer ve geri kalan nefronlar metabolik atıkları ve çevresel toksik maddeleri etkili bir şekilde vücuttan uzaklaştıramaz. Sonuç olarak, renal tübüler epitel hücrelerinin luminal ve bazolateral yüzeyleri potansiyel olarak daha yüksek seviyelerde ksenobiyotiklere, metabolik atıklara ve nefrotoksik maddelere maruz kalır. Son dönem böbrek yetmezliğinde (SDBY) inflamasyona ve kronik hastalığa sekonder deoksiribonükleik asit (DNA) hasarının gelişmesi beklenmektedir (3,4).

Oksidatif stres, aşırı oksidan bileşik üretimi ile yetersiz antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır ve bu da doku hasarına yol açar. Hücresel düzeyde etkili olan ve vücudun antioksidan savunmasını oluşturan en önemli bileşenler; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) enzimleri ve glutatyon (GSH). Artan oksidan aktiviteye katkıda bulunan faktörler arasında ileri yaş ve örneğin diyabet ve üremi gibi böbrek hastalığından muzdarip hastaların özellikleri yer alır. Hemodiyaliz (HD), öncelikle membran biyouyumsuzluğu ve endotoksin tehdidi yoluyla oksidatif strete tekrarlayan artışlara neden olabilir. Prooksidan ve antioksidan kapasitedeki değişiklikler böbrek hasarının erken evrelerinde başlar ve diyaliz hastalarında çok belirgindir (5-7). Akut veya kronik böbrek hasarı sırasında üretilen serbest radikaller ve pro-oksidanlar, hastalığın seyrini daha da kötüleştirebilir ve daha sonraki komplikasyonların patogeneğinde rol oynayabilir. SOD gibi antioksidan enzimler, bu serbest radikali oksijene (O_2) ve hidrojen peroksite (H_2O_2) dönüştürerek süperoksit anyonunu temizler, böylece

peroksinitrit üretimini ve daha fazla hasarı önler; CAT, H₂O₂'nin su ve oksijene ayrıştırıldığı reaksiyonu katalize eder ve GPx, indirgenmiş GSH'nin disülfid formuna (GSSG) oksidasyonu yoluyla çeşitli hidroperoksitlerin (örn., H₂O₂) H₂O'ya indirgenmesini katalize eder (8).

Ağır metallere maruz kalma, kalan işlevsel nefronların işlevini olumsuz yönde değiştirebilir. Yüksek maruz kalma düzeylerinde, arsenik (As), kadmiyum (Cd), kurşun (Pb) ve cıva (Hg) gibi çevresel ağır metaller nefrotoksisiteyi artırır. Deneysel kanıtlar, ağır metallere maruz kalmanın organlarda oksidatif strese, inflamasyona ve lipid peroksidasyonuna neden olabileceğini göstermektedir. Cd, Pb ve Hg'ye düşük düzeyde kronik maruz kalma, hem renal proksimal tübüler hasara hem de GFR'de azalmaya neden olabilir (9-12). As, Cd, Pb ve Hg gibi ağır metaller hücrelerin başlıca antioksidanlarını, özellikle de tiyol içeren antioksidanları ve enzimleri tüketerek reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminde artışa neden olabilir. Sonuç olarak, ağır metallerin böbrek hastalığındaki toksik etkilerinden metal kaynaklı oksidatif stresin kısmen sorumlu olabileceği öne sürülmektedir (13,14).

Tedavi sırasında, HD hastaları tipik olarak haftada iki veya üç kez çok büyük miktarda suya, yani seans başına 90 ila 192 L'den fazla suya maruz kalırlar. Bu nedenle diyaliz sıvısının hazırlanmasında kullanılan suyun kalitesi, kirleticilerin hastanın kan dolaşımına yayılmasını önlemek açısından çok önemlidir (15). Diyaliz sıvısı ve kan örneklerinde Cu, Zn ve Al arasında önemsiz korelasyonlar bulunurken, Pb konsantrasyonu yalnızca erkeklerden alınan kan örneklerinde anlamlı bir korelasyon göstermiştir (16). Hemodiyaliz hastalarında görülen serum/kan kurşun seviyelerindeki artış, kısmen böbrek fonksiyonunun neredeyse tamamen kaybolmasına ve HD sırasında kurşunun uzaklaştırılmasındaki zorluğa bağlı olabilir. Bu nedenle çevresel kurşun maruziyeti, düşük seviyelerde bile, HD hastalarında kan kurşun düzeylerini artırabilir. Kronik böbrek diyalizi alan hastalarda kan kurşun seviyeleri yükselmiştir (17, 18).

Pek çok çalışma, düşük maruziyet düzeylerinde bile kadmiyum (Cd) kaynaklı akut ve kronik böbrek hastalığını rapor etmektedir. Cd toksisitesinin ana moleküler mekanizmaları oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğudur. Cd özellikle böbrek sorunu olan kişilerde birikebilir. Diyaliz bazı maddelerin kandan uzaklaştırılmasına yardımcı olsa da Cd'yi ortadan kaldırmadaki etkinliği sınırlıdır. Cd

birikimi diyalize giren kişiler için bir endişe kaynağıdır çünkü böbrekler, kemikler ve diğer organların hasar görmesi de dâhil olmak üzere çeşitli sağlık riskleriyle ilişkilidir (19,20). Uygulanabilirlik, hızlılık, hassasiyet ve ekonomik verimlilik avantajlarıyla iyi bilinen bir teknik olan tek hücre jel elektroforez (Comet) yöntemi, DNA hasarını ölçmek için sıklıkla kullanılır ve insan biyoizleme çalışmalarında erken biyolojik etkileri gösteren en güvenilir biyobelirteçlerden biridir; bu nedenle çeşitli resmi düzenleyici kurumlar tarafından kabul edilmektedir (21). ROS'ların neden olduğu 20'den fazla oksidatif baz hasarı ürününden biri olan 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), hidroksil radikalının sekizinci karbon atomuna saldırısı sonucu oluşur. Bu baz, oksidatif DNA hasarının doğrudan bir ölçüsü olarak kabul edilmektedir (22,23).

Oksidatif strese bağlı genotoksik olayların SDBY hastalarını nasıl etkilediğini bir arada gösteren çalışmalar dünyada oldukça sınırlı sayıda olup ülkemizde de bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışma kapsamında HD alan ve almayan SDBY hastalarında genotoksisite ve oksidatif stres parametrelerindeki değişiklikler ayrıntılı olarak değerlendirilerek sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldı. Deneklerin periferik lenfositlerindeki DNA hasarı Comet yöntemi ile belirlendi. ELISA kitleri kullanılarak plazma örneklerinde SOD, CAT, GPx, malondialdehit (MDA) seviyeleri ve 8-OHdG (oksidatif strese bağlı DNA hasarını gösterir) gibi oksidatif stres parametreleri ölçüldü. Alüminyum (Al), As, Cd, Pb ve Hg gibi ağır metallerin seviyeleri de indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) kullanılarak belirlendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Böbrek Hastalığı

2.1.1. Kronik Böbrek Hastalığı Tanı Kriterleri ve Evreleri

Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) dünyada ve ülkemizde en önemli sağlık sorunlarından biridir. Hastalığın ilerlemesi erken tanı ile geciktirilebilir fakat erken tanı oranının düşük olması birçok olguda buna olanak vermemektedir. KBH’de glomerüler filtrasyonun azalmasının sonucu böbreğin solüt yükünün ayarlanmasında, metabolik ve endokrin fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma hali olarak tanımlanabilir (24,25).

Kronik böbrek hastalığı ile ilgili 2002 ile ilgili tanımlamalar 2012 yıllarında Ulusal Böbrek Vakfı (*National Kidney Foundation: NKF*), Böbrek Hastalığı Sonuçları Kalite Giriimi (*Kidney Disease Outcomes Quality Initiative: KDOQI*) ve KDIGO tarafından yayınlanmış iki rehber ile büyük oranda standart hale getirilmiştir. KBH nedene bakılmaksızın üç veya daha fazla ay boyunca böbrek hasarının veya azalmış GFR varlığı ile tanımlanır. KBH tanı ve sınıflama kriterleri Tablo 2.1 de özetlenmiştir (2).

Glomerüler filtrasyon hızı nefronlardan birim zamanda filtre edilen sıvı miktarını göstermektedir. KBH’nin hem tanımlama hem de sınıflamasında kullanılmaktadır. GFR’nın belirlenmesi için güncel rehberlerde ilk aşamada kreatinin temelli formülden yararlanılması önerilmektedir ancak kas atrofisi /hipertrofisi, vejetaryen diyet gibi bazı durumlarda bu öngörü formüllerinin güvenilirliği azalmaktadır, bu durumlarda Sistatin C ölçümü veya klirens çalışması yapılması önerilir (2).

Literatürde 2012 yılında yayınlanan KDIGO rehberinde KBH evrelemesi GFR ve albuminüriye göre 5 evreye, albuminüriye göre 3 evreye ayrılmıştır (Tablo 2.2.) (2).

Tablo 2. 1. KBH tanı kriterleri.

Kriterler	Yorum
Süre ≥3 ay, belgelere veya çıkarıma dayalı	Kronik böbrek hastalıklarını akut böbrek hastalıklarından ayırmak için süre gereklidir. <ul style="list-style-type: none"> ● Klinik değerlendirme sıklıkla süreyi önerebilir ● Epidemiyolojik çalışmalarda sürenin belgelenmesi genellikle mevcut değildir.
GFR <60 mL/dak/1,73 m²	GFR, sağlık ve hastalıkta böbrek fonksiyonunun en iyi genel indeksidir. <ul style="list-style-type: none"> ● Genç yetişkinlerde normal GFR yaklaşık 125 mL/dak/1,73 m²'dir ; GFR <15 mL/dak/1,73 m² böbrek yetmezliği olarak tanımlanır ● Azalan GFR, serum kreatininine (tahmini GFR) dayalı GFR için mevcut tahmin denklemleriyle tespit edilebilir, ancak tek başına serum kreatinin ile tespit edilemez. Azalan tahmini GFR, ölçülen GFR, ölçülen kreatinin klirensi veya sustain C kullanılarak tahmin edilen GFR ile doğrulanabilir.
GFR azalması dışındaki yapısal anormallikler veya fonksiyonel anormallikler ile tanımlanan böbrek hasarı	
Patolojik anormallikler nedeni altında yatan hastalık ve patolojiye dayanmaktadır. Böbrek hasarının belirteçleri patolojiyi yansıtabilir. <ul style="list-style-type: none"> ● Glomerüler hastalıklar (diyabet, otoimmün hastalıklar, sistemik enfeksiyonlar, ilaçlar, neoplazi) ● Damar hastalıkları (ateroskleroz, hipertansiyon, iskemi, vaskülit, trombotik mikroanjyopati) ● Tubulointerstiyel hastalıklar (idrar yolu enfeksiyonları, taşlar, tıkanıklıklar, ilaç toksisitesi) Kistik hastalık (polikistik böbrek hastalığı)	
<ul style="list-style-type: none"> ● Transplant geçmişi var ise; Böbreklerde gözlenen doğal patolojik anormalliklere ek olarak yaygın patolojik anormallikler şunları içerir: ● Kronik allograft nefropatisi (tübül atrofisi, interstisyel fibroz, vasküler ve glomerüler sklerozun spesifik olmayan bulguları) ● Rejeksiyon ● İlaç toksisitesi (kalsinörin inhibitörleri) ● BK Polyoma virüsü nefropatisi ● Tekrarlayan hastalık (glomerüler hastalık, oksaloze, Fabry hastalığı) 	
Böbrek hasarının bir belirteci olarak albüminüri (glomerüler geçirgenliğin artması, idrar albümin-kreatinin oranı [AKO] >30 mg/g).* <ul style="list-style-type: none"> ● Genç yetişkinlerde normal idrar AKO'si <10 mg/g'dır. İdrar AKO kategorileri 10-29, 30-300 ve >300 mg sırasıyla "hafif artış, orta düzeyde artış ve ciddi düzeyde artış" olarak adlandırılır. İdrar AKO'si >2200 mg/g olduğunda nefrotik sendromun belirti ve semptomları (düşük serum albümini, ödem ve yüksek serum kolesterolü) eşlik eder. ● Eşik değeri, idrar konsantrasyonuna bağlı olarak yaklaşık olarak eser veya 1+ idrar ölçüm çubuğu değerlerine karşılık gelir Yüksek idrar AKO'si, zamanlı idrar toplama işleminde idrar albümin atılımı ile doğrulanabilir	
Böbrek hasarının belirteçleri olarak idrar sedimenti anormallikleri, örneğin: <ul style="list-style-type: none"> ● Proliferatif glomerülofritte RBC dökümleri ● Piyelonefrit veya interstisyel nefritte WBC döküntüleri ● Proteinüri ile seyreden hastalıklarda oval yağ cisimcikleri veya yağlı silindirler Birçok parankimal hastalıkta granüler silindirler ve renal tübül epitel hücreleri (spesifik olmayan)	
Böbrek hasarının belirteçleri olarak anormalliklerin görüntülenmesi (ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve kontrastlı veya kontrastsız manyetik rezonans görüntüleme, izotop taramaları, anjiyografi). <ul style="list-style-type: none"> ● Polikistik böbrekler ● Tıkanıklığa bağlı hidronefroz ● Enfarktüs, piyelonefrit veya vezikoüreteral reflü nedeniyle kortikal skar oluşumu ● İnfiltratif hastalıklara bağlı böbrek kitleleri veya genişlemiş böbrekler ● Renal arter stenozu Küçük ve ekojenik böbrekler (birçok parankimal hastalık nedeniyle KBH'nin sonraki aşamalarında yaygındır)	
Tanım: KBH, nedene bakılmaksızın üç veya daha fazla ay boyunca böbrek hasarının veya böbrek fonksiyonunda azalmanın varlığına göre tanımlanır.	

Tablo 2.2. Kronik böbrek hastalığında GFR ve albüminüri kriterleri.

GFR evreleri	GFR (ml/dk/1.73 m²)	Kategori
G1	≥90	Normal veya yüksek
G2	60-89	Hafif azalmış
G3a	45-59	Hafif ile orta derece azalmış
G3b	30-44	Orta ila çok azalmış
G4	15-29	Şiddetli azalmış
G5	<15	Böbrek yetmezliği veya diyaliz ile tedavi
Albuminüri evreleri	AAO (mg/gün)	
A1	<30	Normal/yüksek normal
A2	30-300	Yüksek
A3	>300	Çok yüksek

AAO: Albümin Atılım Oranı, GFR: Glomerular Filtration Rate

2.1.2. Kronik Böbrek Hastalığının Epidemiyolojisi

Kronik Böbrek Hastalığının erken evrelerinin sessiz seyretmesi prevalans ve insidansının belirlenmesini zorlaştırmaktadır. KBH 2017 yılında Çin ve Hindistan'da, sırasıyla 132,3 (121,8 ila 143,7) ve 115,1 (106,8 ila 124,1) milyon vakayla küresel KBH yükünün üçte birini oluşturmuştur. Bangladeş, Brezilya, Endonezya, Japonya, Meksika, Nijerya, Pakistan, Rusya, Amerika Birleşik Devletleri ve Vietnam'da 10 milyondan fazla KBH vakası vardı. Global Hastalık Yüğü çalışmasına dâhil edilen 195 ülkenin 79'unda 1 milyondan fazla yaygın KBH vakası vardı (26).

Literatürde 2016 yılında yapılan 13 Avrupa ülkesini kapsayan Avrupa KBH Yüğü Konsorsiyumu, yetişkin popülasyonda KBH prevalansında (G1 ila G5) Norveç'te % 3,31 oranında (Trondelag Sağlık Çalışması [HUNT] çalışması) Almanya'da ise %17,3 oranında (Pomeranya'da Sağlık Çalışması [SHIP]) önemli coğrafi farklılıklar bildirmiştir. Diyabetli hastalar arasında bu tahminler Hollanda'da %14,1'e; (LifeLines çalışması) ve Almanya'da % 39,7'ye (SHIP çalışması)

yükselmiştir. Ayrıca, 45 ila 74 yaş arası genel nüfusta G1 ila G5 fazındaki KBH'nin düzeltilmiş yaygınlığı Norveç'te % 6,3'ten Almanya'da % 25,6'ya kadar değişmektedir. Genel popülasyonda diyabet, hipertansiyon ve obezite prevalansındaki farklılıklar, farklı ülkeler arasındaki KBH prevalansındaki bu değişkenliği tam olarak açıklamamaktadır (27-29).

Ülkemizde ise Türk Nefroloji Derneği tarafından yapılan Türkiye Kronik Böbrek Hastalığı Prevalans Çalışmasına (CREDIT) göre Türkiye'de genel erişkin popülasyonda KBH prevalansı %15.7 bulunmuş ve %5.43 evre 1, %5.15 evre 2, %4.67 evre 3, %0.27 evre 4 ve %0.15 evre 5 KBH olarak tespit edilmiştir (26). Bu oranlara göre KBH'nin 2018-2023 verilerine göre ülkemizde 9.2 milyon erişkini etkilediği ve 60 ml/dk/1.73m²'nin altında GFR'a (evre 3- 5) sahip yaklaşık 3 milyon kişinin olduğu tahmin edilmektedir (30,31).

Türkiye'de 2018 yılında Renal Replasman Tedavisi (RRT) gerektiren son dönem böbrek hastalığı insidansı milyon nüfus başına 149, nokta prevalansı milyon nüfus başına 988 olarak hesaplanmıştır (32).

2.1.3. Kronik Böbrek Hastalığı Etiyolojisi

Kronik Böbrek Hastalığının etiyolojisi (nedenleri) karmaşık ve genellikle birden fazla faktörün birleşimi sonucunda ortaya çıkar. Böbrek hastalığının nedeninin (örn. diyabet, ilaç toksisitesi, otoimmün hastalıklar, idrar yolu tıkanıklığı, böbrek nakli vb.) belirlenmesi, daha fazla hasarı önlemeye yönelik spesifik tedaviye olanak sağlar. Ayrıca böbrek hastalığının nedenlerinin, ilerleme hızı ve komplikasyon riski üzerinde etkileri vardır. KBH çok çeşitli etiyojik nedene bağlı ortaya çıkmakla birlikte gelişmiş ülkelerde en sık diabetes mellitus (DM), 2.en sık neden ise hipertansiyondur. Diğer nedenler arasında ileri yaş, kardiyovasküler hastalıklar, Genetik Faktörler, Otoimmün Hastalıklar, Enfeksiyonlar, Üriner Sistem Tıkanıklığı, Uzun Süreli İlaç Kullanımı sayılabılır (2,33).

2.1.4. Kronik Böbrek Hastalığının Belirtileri

Kronik böbrek hastalığı, böbrek fonksiyonlarının zamanla azalmasıyla karakterize edilen bir durumdur. KBH'nin progresyonu altta yatan hastalığın

aktivitesi ve doğal ilerleme mekanizmaları ile oluşmaktadır. Doğal ilerleme mekanizmaları genellikle nefron kaybı %50'yi geçtikten sonra ortaya çıkar ve KBH duyarlılığını arttıran faktörlerin varlığında ilerleme görülebilir. KBH'de ilerlemenin takibi GFR veya proteinüri gibi fonksiyonel değişikliklerin izlenmesi ve böbrek biyopsisi ve ultrasonografi gibi yapısal değişikliklerin gösterilmesi ile yapılabilir (34).

Glomerüler Filtrasyon Hızındaki azalmanın en güçlü ve tek ön gördürücüsü proteinüridir, GFR ne kadar düşükse proteinüri miktarı ve ilerleme riski ilişkisi o kadar güçlüdür. Değerlendirmede idrar albümin ve total proteinüri miktarı kullanılır. Normal bir yetişkinde idrarla toplam protein atılımı 150 mg/gün'den az olmalıdır. Albümin atılımının normal hızı 20 mg/günden (15 mcg/dak) azdır. Sağlıklı genç yetişkinlerde bu oran yaklaşık 4 ila 7 mg/gün (3 ila 5 mcg/dak) olup, yaşla ve vücut ağırlığının artmasıyla birlikte artar. 30 ila 300 mg/gün (20 ila 200 mcg/dak) arasında kalıcı albümin atılımına orta derecede artmış albüminüri (mikroalbüminüri) denir. Proteinüri <500 mg /gün ise albümin /kreatinin oranı daha duyarlı; 500 mg /günü geçtiğinde ise değişiklikler benzerdir (2,34,35).

KDIGO grubu kreatinin ve GFR' nin ilk değerlendirmede kullanılmasını gereklilik halinde doğrulama testlerinin yapılmasını önermektedir. Doğrulayıcı testler olarak; serum sistatin-C, kreatinin klirensi, eksojen filtrasyon belirteçleri kullanılabilir (36).

2.1.5. Kronik Böbrek Hastalığının İlerleme Hızına Etki Eden Faktörler

Kronik Böbrek Hastalığının seyri primer böbrek hastalığına ve hastaya ait kişisel özelliklere bağlı olarak değişmektedir. Hipertansiyon, proteinüri, çevresel kimyasal maruziyeti ve tekrarlayan akut böbrek hasarı gibi faktörler değiştirilebilir risk faktörleridir. Bunun yanı sıra ileri yaş, ırk, genetik farklılıklar, cinsiyet gibi değiştirilemeyen risk faktörleri de hastalığın seyrini etkilemektedir (Tablo 2.3) (37).

- Yaş

Azalmış GFR için önemli bir risk faktörüdür. İleri yaşta GFR 'daki azalma daha hızlı olmasına rağmen KBH olanlarda ileri yaş ile son dönem böbrek hastalığına

progresyon arasında negatif bir kolerasyon saptanmıştır (38). Yaşlanmayla birlikte GFR düşüş oranları oldukça normal (Gaussian) bir dağılım izler; bu da bunun öncelikle fizyolojik bir süreç tarafından yönlendirildiğini düşündürür. Yaşlanmayla birlikte GFR'deki düşüş, hem daha düşük üre üretimi hem de yaşlanmayla birlikte daha düşük metabolik hız ile ilişkilendirilmiştir. 70 yaşın üzerindeki yetişkinlerin yaklaşık yarısında ölçülen veya tahmin edilen GFR (eGFR) <60 mL/dak/1,73 m² olup, KBH tanısı için savunulan bir eşiktir (39).

Tablo 2.3. Kronik böbrek hastalığının ilerlemesinden sorumlu risk faktörleri.

Risk Faktörleri	
● Yaş	● Gebelik
● Cinsiyet	● Kardiyovasküler hastalık
● Irk	● Albüminüri
● Düşük nefron sayısı	● Dislipidemi
● Düşük GFR	● Sigara
● Hipertansiyon	● Hiperürisemi
● Düşük serum bikarbonat düzeyi	● Nefrotoksinler
● Akut böbrek hasarı	● Diyabetes mellitus
● Fazla protein alımı	● Obezite

- Cinsiyet

Bugüne kadar cinsiyetin, KBH prevalansı, progresyonu ve karakteristiklerine etkisi üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Yapılan yakın dönem çalışmalarda; KBH prevalansı kadınlarda erkeklere göre daha yüksek olarak saptanmıştır. Bunun nedeni olarak da erkeklerde bulunan daha yüksek miktarda kas kitlesinden dolayı kreatinin düzeylerinin daha yüksek olması gösterilmiştir. Ancak, kadınlarda KBH sıklığı daha yüksek bulunmasına rağmen; erkeklerde son dönem böbrek yetmezliği (SDBH) sıklığı kadınlara göre daha yüksektir. Hastalığın erkeklerde daha hızlı ilerlediği ve mortalitenin de erkeklerde daha yüksek olduğu belirtilmiştir. En büyük etkenin ise cinsiyet hormonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle menapoz öncesi dönemdeki kadınlarda östrojenin koruyucu rolü ve testosteronun ise erkeklerde risk

faktörü olarak sayıldığı bilinmektedir. Sonuç olarak birçok çalışmada erkek cinsiyetin KBH 'nin ilerlemesi için risk faktörü olduğunu göstermiştir (40-42).

- **İrk**

İrksal farklılık tüm Dünya'da KBH sıklığını ve hastalık seyrini etkileyen bir faktördür. Genetik, biyolojik, kültürel, çevresel ve sosyoekonomik farklılıklar; özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arası, özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde KBH görülme sıklığını etkilemektedir. Özellikle SDBH hastalarında tedavinin ulaşılabilirliği, diyaliz tedavisi alma ve tedaviyi devam ettirebilme gibi sağlık hizmetine erişilebilirlik de mortaliteyi etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda; SDBH riski Afrikalı-Amerikalılarda, beyaz ve Asya toplumlarına göre artmış bulunmuştur. Yine siyahi ırkta, GFR hızındaki düşmenin, beyaz ırka göre neredeyse iki kat fazla olduğu yapılan çalışmalar ile doğrulanmıştır (43,44).

- **Genetik faktörler**

Çeşitli genetik ve epigenetik faktörlerin; altyapısal olarak KBH riskini tetiklediği bilinmektedir. Birinci derece akrabasında SDBH olanlarda risk 3,5 kat artmış olarak tespit edilmiştir. Afrikalı Amerikanlarda Apolipoprotein A1(APOL1) geninde kodlanan 2 risk varyantının bir arada bulunması son dönem böbrek hastalığına ilerlemede önemli bir risk faktörü olarak bildirilmiştir. Bunun yanında Meksika gibi faz 1 pestisit kullanılan ülkelerde ise epigenetik değişimler ile KBH insidansının arttığı raporlanmıştır (45,46).

- **Obezite**

Obezite; KBH için bağımsız bir risk faktörüdür. Obezite; diabet, hipertansiyon gibi kronik hastalıklar ile doğrudan ilişkili olmasının yanısıra hemodinamik bozukluklar, inflamatuvar süreçler, oksidatif stres artışı ve renin-anjiyotensin-aldosteron (RAAS) sistemi üzerine de etkili olması sebebiyle, KBH gelişimi için başlı başına bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Diyet, cerrahi veya ilaçla sağlanan kilo kaybıyla proteinürinin gerilediği, glomerül hiperfiltrasyonu olanlarda GFR'de azalma, düşük GFR'li hastalarda ise artma eğilimi saptanmıştır (47,48).

- Hipertansiyon

Hipertansiyon, KBH hastalarının yaklaşık %60-90 'ı gibi yüksek bir çoğunluğunda mevcuttur. KBH'deki hipertansiyon mekanizmaları; volüm yükü artışı, sempatik hiperaktivasyon, tuz retansiyonu, endotelial disfonksiyon ve RAAS sistemindeki hormonal bozukluklar olarak sayılabilir. Kontrolsüz hipertansiyonun KBH hastalarında özellikle kardiyovasküler kaynaklı morbidite ve mortaliteyi arttırdığı bilinmektedir. Yüksek kan basıncının düşürülmesinin GFR kaybını yavaşlattığı gösterilmesini takiben hipertansiyonun özellikle diyabetik nefropatili hastalarda SDBH için risk faktörü olduğu ve RAAS blokojı ile kan basıncının kontrol altına alınmasının riski azalttığı gösterilmiştir. Diyabetik olmayan hastalarda da böbrek yetmezliği için bağımsız bir risk faktörü olduğu özellikle proteinüri gelişmiş olanlarda kan basıncı düşürülmesinin hastalığın ilerlemesinin yavaşlattığı gösterilmiştir (49,50).

Diyabetli hastalarda, kalp yetmezliği olan ve ejeksiyon fraksiyonu (HFrEF) azalmış hastalarda ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalığı (önceden koroner, serebrovasküler veya periferik arter hastalığı öyküsü) olan bireylerde, kan basıncının 120 ila 125/<80 mmHg arasında olması önerilmektedir. Tüm rehberlerde KBH olan beraberinde belirgin proteinüri, albuminüri ya da kardiyovasküler hastalık riski yüksek olan hastalarda hedef kan basıncının <130/80 mm/Hg olması önerilmektedir (Tablo 2.4) (51).

Antihipertansif ilaçların proteinüri üzerindeki etkisi ilaç sınıfına göre değişir. Kan basıncı kontrol edildiğinde, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri ve anjiyotensin II reseptör blokerleri (ARB'ler) gibi RAAS inhibitörleri, proteinürinin azaltılmasında ve hastalığın progresyonununun yavaşlatılmasında diğer antihipertansif ilaçlardan daha etkilidir (52).

Antihipertansif tedavi olarak ilk seçenek ACE inhibitörleri ve reseptör blokeri ARB tercih edilmektedir. ARB veya ACE inhibitörleri hem sistemik basıncı hem de glomerüler hipertansiyonu azaltarak renoprotektif etki göstermekte, proteinüriyi %50 azaltmakta ve serum kreatinin ikiye katlanma hızında azalmaya neden olmaktadır. Sonuçta kan basıncını etkin düşürürken KBH progresyonu da azaltmaktadır (53).

Ancak ARB/ACE inhibitör tedavisi başlanması sonrasında hiperkalemi açısından dikkatli olunmalıdır.

Tablo 2.4. Rehberlere göre KBH hedef kan basıncı değerleri ve tedavi seçenekler.

KBH türü	2017 ACC/AHA	2013 ESH/ESC	2018 ADA	2012 NKF/KDOQI	2019 THUR
	Albuminür i 300 mg/g	Proteinüri	Albuminüri	Albuminüri	KBH
Kan basıncı hedefi	<130/80	<130/80	140/90 KVH riski yüksekse 130/80	<130/80	18-64 yaş için: 120- 130/70-80 >64 yaş için: 130- 140/70-80
İlk seçenek antihipertansif	ACE inhibitör ya da ARB	ACE inhibitör ya da ARB	ACE inhibitör ya da ARB	ACE inhibitör ya da ARB	ACE inhibitör ya da ARB

ACC: Amerika Kardiyoloji Derneği, ESC: Avrupa Kardiyoloji Derneği, ADA; Amerika Diyabet Derneği, NKF: Amerika Nefroloji Kuruluşu, THUR: Türk Hipertansiyon Uzlaş Raporu, ACE:Anjiotensin Converting Enzyme, ARB: Anjiotensin Receptor Blocker

İkinci seçenek olarak antihipertansif tedavide kalsiyum kanal blokörleri önerilmektedir. Diltiazem ve verapamil gibi dihidropiridin olmayan kalsiyum kanal blokerleri, proteinürisi olan hastalarda önemli antiproteinürik etkilere sahiptir (54).

- **Biyokimyasal faktörler**

Kronik Böbrek Hastalığı altyapısı, birçok biyokimyasal yolak tarafından da oluşturulmaktadır. Dislipidemi, hiperfosfatemi ve hipokalsemi gibi serum elektrolit dengesizlikleri, düşük serum bikarbonat düzeyi, yüksek serum ürik asit düzeyi, idrarda protein-albumin atılımı ve magnezyum eksiklikleri KBH' nın ilerlemesi için risk faktörü olarak saptanmıştır (55).

2.1.6. Kronik Böbrek Hastalığı Klinik Özellikleri ve Komplikasyonları

Böbreğin ilk hasarı, asemptomatik hematüriden diyaliz gerektiren böbrek yetmezliğine kadar değişen çeşitli klinik belirtilerle sonuçlanabilir (56). GFR'nin giderek azalmasıyla birlikte çok çeşitli sistemik komplikasyon klinik tabloya hâkim

olur. Son evrede hemen hemen her sistemin etkilenmesine ilişkin birçok belirti ve bulgudan oluşan üremik sendrom ortaya çıkar. Üreminin belirtileri arasında anoreksi, bulantı, kusma, perikardit, periferik nöropati ve merkezi sinir sistemi anormallikleri (konsantrasyon kaybı ve uyuşukluktan nöbetler, koma ve ölüme kadar uzanan) yer alır. Kan üre nitrojeni (BUN), kreatinin veya GFR'nin mutlak serum seviyeleri ile bu semptomların gelişimi arasında doğrudan bir ilişki yoktur. Bazı hastalarda nispeten düşük BUN düzeyleri vardır (örneğin, yaşlı bir hastada 60 mg/dL [21,4 mmol/L]) ancak belirgin şekilde semptomatiktir, diğerlerinde ise belirgin yükselmeler vardır (örneğin, 140 mg/dL [50 mmol/L]) ancak asemptomatik kalır. Üremik hastaların yaşamlarını devam ettirebilmeleri için HD, periton diyalizi veya böbrek nakli gibi böbrek replasman tedavisine ihtiyaçları vardır (Tablo 2.5) (57,58).

Tablo 2.5. İleri evre KBH'nin (üremik sendrom) klinik özellikleri.

Belirtiler	Bulgular
Halsizlik, çabuk yorulma	Hipertansiyon
İştahsızlık, kilo kaybı	Solukluk(anemi)
Bulantı-kusma, diyare	Kirli sarı cilt rengi
Noktüri	Ciltte kaşıntı izleri
Kaşıntı	Ciltte ekimozlar
Parestezi	Kalp yetmezliği bulguları
Huzursuz ayak	Perikardial frotman
Bilinç değişiklikleri	Aritmi
Kanamalar	Ödem
Nefes darlığı	Nörolojik
bulgular Göğüs ağrısı	
Öksürük, balgam	

- Sıvı Yükü Artışı

Sodyum ve intravasküler volüm dengesi, genellikle GFR <15 ml/dk/1,73 m² altına düşene kadar homeostatik mekanizmalar ile sağlanmaktadır. Hastaların volüm durumunu değerlendirmede objektif bir araç bulunmamakta, hastanın vücut ağırlığı, muköz membranların değerlendirilmesi, kan basıncı, elektrolit takibi ve hekimin

klirik yaklaşımla değerlendirme yapılmaktadır. Diyetle tuz kısıtlaması ve diüretik tedaviye çoğunlukla yanıt alınır ancak medikal tedaviye yanıt alınamayan durumlarda renal replasman tedavisi gerekebilir (57). Sodyum alımının kontrol edilmesi ve aşırı sıvı yükünün sınırlandırılması, KBH ve diyaliz hastalarında kardiyovasküler koruma müdahalesi için temel kabul edilmektedir. Böbrek Hastalığı Küresel Sonuçları (KDIGO) kılavuzları, hipertansiyonu olan KBH hastalarında sodyum alımının günde 2 g sodyumun altına (yani yaklaşık 5 g sodyum klorür/gün) düşürülmesini önermektedir (60).

Kronik Böbrek Yetmezliği hastalarında yüksek sodyum alımı (yaklaşık 5,5 g/gün'ün üzerinde [14 g sodyum klorür]), kalp yetmezliği, miyokard enfarktüsü ve felç dâhil olmak üzere kardiyovasküler bir olaya yakalanma riskinin daha yüksek olmasıyla ilişkilidir (61).

- **Kardiyovasküler Komplikasyonlar**

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) KBH'nin en önemli ölüm sebebidir. KVH'ın önlenmesi ve yönetimi KBH'li hastalar için kritik öneme sahiptir. Örnek olarak, artan kalsiyum alımı (genellikle hiperfosfatemiyi tedavi etmek için verilir ve yüksek kalsiyum-fosfor ürünüyle sonuçlanabilir) koroner arteriyel kalsifikasyonu artırabilir. Tartışmalı olmasına rağmen bu, koroner ateroskleroz gelişimi ile ilişkili olabilir ve yüksek serum fosfor, kalsiyum ve paratiroid hormon (PTH) düzeylerinin varlığı ve/veya sonuçlarıyla ilişkilidir. KVH riski GFR düşüğe artmaktadır. Hastaların yaşam boyu KVH dan ölme riski son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme riskinden çok daha fazladır (62,63). GFR 45-59 ml/dk/1.73m² olan hastalarda kardiyovasküler komplikasyon görülme oranı %43 iken, 15 ml/dk/1,73m² altına düştüğünde bu oran %343 e kadar artmaktadır (64). Kronik diyalizde devam eden KBH ve son dönem böbrek hastalığı hastalarında KV risk faktörleri; ırk ve etnik köken, hipertansiyon, diyabet, obezite ve dislipidemi, sempatik aşırı aktivite, anemi, mineral kemik bozukluğu, enflamasyon ve yetersiz beslenme, metabolik asidoz, hareketsiz yaşam tarzı, az fiziksel egzersiz, üremik toksinler ve endokrin değişikliklerdir (63). KBH'lerinde KVH nedenli mortaliteyi azaltmak için antiplatelet ve statin kullanılması önerilmektedir (66).

- **Anemi**

Anemi, KBH olan hastalarda yaygındır. Ciddi anemi, sakatlayıcı semptomlara neden olmasının yanı sıra, diyaliz dışı KBH'de ve diyaliz hastalarında kardiyovasküler fonksiyonu da etkileyebilir. Diyaliz tedavisi görmeyen KBH hastaları arasında şiddetli anemi, son dönem böbrek hastalığı (SDBY) dâhil olmak üzere KBH'nin daha hızlı ilerlemesiyle ilişkili olabilir (57). KDIGO ve Dünya Sağlık Örgütü'ne göre anemi Hb değerinin erkeklerde <13 g/dl kadınlarda <12 g/dl altında olması olarak tanımlanmaktadır. Renal anemi tanısı için ise diğer anemi nedenlerinin dışlanması sonrasında böbrek hastalığının evresiyle uyumlu anemi olması gerekmektedir. Renal anemi normokrom normositerdir, diğer bir deyişle eritropoietin (EPO) üretiminin azalması ve eritrosit ömrünün kısalması nedeniyle gelişmektedir KBH'de anemi prevalansı %17,4 ile %53,4 arasında değişebilmektedir (65,64). Uzun süreli anemi kardiyak output artışı, periferik vasküler dirençte azalma ve sol ventrikül hipertrofisi kardiyovasküler hastalıklara neden olarak mortalite artışına yol açmaktadır (68).

Böbrek hastalığının neden olduğu dolaşımdaki endojen eritropoietinin azalması, KBH hastalarında sol ventriküler hipertrofiye (SVH) katkıda bulunabilir. Eritropoietin reseptörleri kalp dokusunda mevcuttur ve eritropoietinin miyokardiyal fonksiyon üzerinde doğrudan etkileri olabilir (69).

Nutrisyonel eksiklerin yerine koyulması, demir tedavisi, eritropoietin stimule edici ajanların (ESA) kullanımı, kan transfüzyonu tedavi seçenekleridir. Demir depoları değerlendirilmeli ve transferrin saturasyonu < %30 ve ferritin <500 olan hastalarda demir tedavisine başlanmalıdır. Hepsi spesifik olarak KBH hastalarında olmayan, Kalp Yetmezliğinde ESA'ları inceleyen dokuz randomize çalışmanın sistematik bir incelemesi, anemi tedavisinin egzersiz süresini ve kapasitesini, ejeksiyon fraksiyonunu, NYHA sınıfını, yaşam kalitesi göstergelerini ve Kalp yetmezliği ile ilişkili hastaneye yatışları iyileştirdiği sonucuna varmıştır. Yüksek hemoglobin hedeflerini düşük hemoglobin hedefleriyle veya ESA tedavisini kontrolle karşılaştıran çalışmaları içeren iki meta-analiz, ESA tedavisinin KBH ilerlemesi üzerinde anlamlı bir koruyucu etkisinin olmadığı sonucuna varmıştır (70).

- Mineral Dengesi ve Kemik Bozuklukları

Kronik Böbrek Hastalığı, genellikle aşağıdaki üç bileşenden biri veya bunların bir kombinasyonu ile kendini gösteren mineral ve kemik metabolizması bozukluklarıyla ilişkilidir:

- Kalsiyum, fosfor, paratiroid hormonu (PTH), fibroblast büyüme faktörü 23 (FGF23) ve D vitamini metabolizmasındaki anormallikler
- Kemik döngüsünde, mineralizasyonunda, doğrusal hacim büyümesinde veya gücünde anormallikler
- İskelet dışı kalsifikasyon

Kronik Böbrek Hastalığında görülen mineral kemik bozukluğunun patofizyolojisi karmaşıktır ve böbrek, paratiroid bezleri, kemik, bağırsak ve damar sistemi arasındaki ilişki döngülerini içerir. Bu sistemin temel amacı, vücuttaki kalsiyum ve fosfor dengesinin korunmasıdır (71). PTH düzeyi, KBH-mineral ve kemik bozuklukları ve kemik döngüsünün tanısı ve izlenmesinde kullanılan ilk biyobelirteçtir. KBH- mineral ve kemik bozuklukları önemli bir özelliği olan sekonder hiperparatiroidizm, KBH seyriinin erken dönemlerinde başlar ve böbrek fonksiyonu azaldıkça prevalansı artar. GFR >80 mL/dak/1,73 m² olan hastaların yalnızca yüzde 12'sinde yüksek PTH düzeyi vardı (>65 pg/mL, kullanılan testin normalinin üst sınırı olarak tanımlanır), ancak neredeyse yüzde 60'ında PTH düzeyi yüksektir. GFR'si <60 mL/dak/1,73 m² olan hastaların %80'inde PTH düzeyleri yüksektir (72).

Glomerüler Filtrasyon Hızındaki düşüşün filtrelenen fosfat yükünü azaltması nedeniyle KBH'de erken dönemde başlayan fosfat tutulması eğiliminin, sekonder hiperparatiroidizmin gelişiminde merkezi bir rol oynadığı düşünülmüştür. Hiperfosfateminin, ileri KBH'de kalsiyum ve kalsitriolün plazma konsantrasyonlarından bağımsız olarak PTH sentezi ve salgılanması üzerinde de doğrudan etkisi olabilir. Hiperfosfatemi aynı zamanda PTH sekresyonunu baskılayan FGF23 sekresyonunu da uyarır. Belki de hiperfosfateminin en önemli sonucu kardiyovasküler sistem üzerindedir, çünkü hiperfosfatemi damar sistemindeki vasküler düz kas hücresinin osteoplastik dönüşümünü uyarır ve doğrudan kardiyovasküler kalsifikasyona ve arteriyel sertliğe katkıda bulunur (73,74).

Plazma kalsitriol konsantrasyonları, GFR <60 mL/dak/1,73 m² olduğunda genellikle normalin altına düşer. Kalsitriol; fosfor, kalsiyum, PTH ve FGF23 dahil

olmak üzere KBH-MBD'nin çeşitli bileşenleri arasında önemli bir bağlantıdır. Düşük kalsitriol konsantrasyonları dolaylı ve doğrudan mekanizmalarla PTH salgısını artırır. PTH üzerindeki dolaylı etkiler, kalsiyumun bağırsak emiliminin azalması ve kemikten kalsiyum salınımı yoluyla elde edilir; bunların her ikisi de, PTH sekresyonunu uyaran hipokalseminin gelişimini teşvik eder (75).

Toplam serum kalsiyum konsantrasyonu, fosfat tutulması, azalan kalsitriol konsantrasyonu ve PTH'nin kemik üzerindeki kalsemik etkilerine karşı direnç nedeniyle KBH seyri sırasında azalır. Hipokalsemi KBH hastalarında yaygındır ve artan PTH salgılanmasına ve anormal kemik yeniden yapılanmasına katkıda bulunur. Öte yandan hiperkalseminin iskelet dışı kalsifikasyonun patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. KBH'de pozitif kalsiyum dengesi kalsifikasyonun ilerlemesinde önemli bir faktör olabilir. KBH'li bir hayvan modeli, içme suyuna eklenen kalsiyumun, serum kalsiyum seviyesinden bağımsız olarak torasik aort, kalp ve aort kapak kalsifikasyonunda artışa yol açtığını göstermiştir (76).

- **Metabolik Asidoz**

Asit-baz dengesi normalde günlük asit yükünün böbreklerden atılmasıyla korunur. Metabolik asidoz sıklıkla KBH ile ilişkilidir. KBH; hidrojen iyonlarının tutulmasına yol açar. Amonyum atılımındaki azalmaya ek olarak, titre edilebilir asitin (öncelikle fosforik asit olarak) atılımının azalması da ileri böbrek hastalığı olan hastalarda metabolik asidozun patogenezinde rol oynayabilir. Hem diyetle fosfat kısıtlaması hem de hiperfosfatemiyi önlemek için oral fosfat bağlayıcıların kullanılması fosfat atılımındaki düşüşe katkıda bulunabilir. KBH ve metabolik asidozu olan hastalarda alkali tedavisinin (genellikle sodyum bikarbonat ile) sürdürülmesini öngören kılavuzlar genel olarak önerilmektedir. Geleneksel olarak eksojen alkali, böbrek hastalığı olan asemptomatik erişkinlerde genellikle hafif olan asidemiye (arteriyel pH genellikle 7,25'in üzerinde) tedavi etmek için kullanılmamıştır. Yetişkinleri sodyum bikarbonatla tedavi etme konusundaki endişeler, artan sodyum alımının, KBH yaygın olarak bulunan hacim genişlemesini ve hipertansiyonu şiddetlendireceği veya pH'ı yükseltmenin hipokalsemili hastalarda tetaniyi hızlandırabileceği yönündeki kaygılardır (60,77,78).

- **Dislipidemi**

Böbrek hastalığı olan hastalarda anormal lipit metabolizması yaygındır. KBH'deki birincil bulgu hipertrigliseridemi; toplam kolesterol konsantrasyonu genellikle normaldir (bazı hastalarda kısmen yetersiz beslenmeye bağlı olabilir). Tüm KBH hastaları dislipidemi açısından değerlendirilmeli ve potansiyel olarak tedavi edilmelidir. Statin kullanmayan, yaşı <50 olan hastalarda kardiyovasküler hastalık risk değerlendirmesi ve statin tedavisi ihtiyacını değerlendirmek amacıyla takip testi yapılabilir. Böbrek replasman tedavisinin yönteminde bir değişiklik veya dislipideminin yeni ikincil nedenleri (nefrotik sendrom, hipotiroidizm, diyabet, aşırı kilo gibi) hakkında endişe varsa, statin tedavisine uyumu değerlendirmesi de yapılabilir (79).

Hiperkolesterolemili hastada ezetimibli veya ezetimibsiz bir statin, plazma kolesterol konsantrasyonunu etkili ve güvenli bir şekilde kabul edilebilir seviyelere veya yakın seviyelere düşürebilir. KBH'nin olumsuz kardiyovasküler prognoz ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, KBH'nin koroner kalp hastalığına eşdeğer olduğu kabul edilir. Her ne kadar bazı çalışmalar statinlerle lipit düşürülmesinin proteinüriyi azaltabileceğini ve böbrek hastalığının ilerlemesini yavaşlatabileceğini öne sürse de, daha sonraki büyük araştırmalar böbrek sonuçları üzerinde hiçbir yararlı etki bulamamıştır; bu nedenle statin tedavisi tek başına böbreklerin korunması açısından faydalı değildir (80,81).

- **Malnutrisyon**

İlerlemiş KBH'li hastalarda yetersiz beslenme yaygındır; bunun nedeni, gıda alımının yetersiz olması (esas olarak anoreksi nedeniyle), bağırsak emiliminin ve sindiriminin azalması ve metabolik asidozdur. Amerika Birleşik Devletleri Üçüncü Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi (NHANES)'nde yaşları ≥ 60 olan katılımcılar arasında, eGFR <30 mL/dak/1,73 m² bağımsız olarak yetersiz beslenme ile ilişkilendirilmiştir (82). Bu nedenle KBH'li hastaların beslenme durumunun izlenmesi önerilir. Düşük plazma albümin konsantrasyonu, yetersiz beslenmenin göstergesi olabilir. Beslenme durumunu en iyi şekilde değerlendirmek için serum albümin konsantrasyonu ve vücut ağırlığı seri olarak ölçülmelidir; eGFR'leri <20 mL/dak/1,73 m² olanlar için bunlar yaklaşık olarak her bir ila üç ayda bir ölçülmeli ve gerekirse eGFR'leri ≤ 15 mL/dak/1,73 m² olanlar için daha sık ölçümler

yapılmalıdır. Genel olarak, KBH'li çoğu hastanın diyeti günde yaklaşık 30 ila 35 kcal/kg sağlamalıdır. Yeterli protein, yağ, mineral ve su alımlarını içeren bir diyet tablosuna uyulması istenir (83,84).

- **Hiperkalemi**

Potasyum atılımını normale yakın düzeylerde sürdürme eğilimi, hem aldosteron salgılanması hem de distal akış korunduğu sürece böbrek hastalığı olan hastalarda genellikle istenir. Bu nedenle, hiperkalemi genellikle oligürik olan veya yüksek potasyumlu diyet, artan doku parçalanması veya hipoaldosteronizm (bazı durumlarda bir ACE inhibitörü veya ARB uygulanmasına bağlı olarak) gibi ek bir sorunu olan hastalarda gelişir. Potasyumun hücre alımının bozulması da ileri KBH'de hiperkaleminin gelişmesine katkıda bulunabilir.

Kronik böbrek hastalarında hiperkaleminin önlenmesine yardımcı olabilecek çeşitli önlemler vardır. Bunlar arasında düşük potasyumlu bir diyetin alınması (örn., <40 ila 70 mEq/gün [1500 ila 2700 mg/gün]) ve mümkünse non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) ler gibi serum potasyum konsantrasyonunu yükselten ilaçların kullanımından kaçınılması yer alır. Seçici olmayan beta blokerler, serum potasyum konsantrasyonunda postprandiyal artışa neden olabilir ancak kalıcı hiperkalemiye neden olmaz (85,86).

- **Endokrin Komplikasyonlar**

Kronik böbrek hastalarında tiroid durumunu doğru bir şekilde değerlendirmek genellikle fizik tanı ve tiroid fonksiyon testleri ile mümkündür. Yaygın bulgular arasında düşük ve toplam serum T3 konsantrasyonları ve normal ters T3 ve serbest T4 konsantrasyonları yer alır. Serum tirotropin (TSH) konsantrasyonu tipik olarak normaldir ve çoğu hasta ötiroiddir (87).

Böbrekler tiroid hormon metabolizmasında rol oynar. KBH'de iyot klerensinde azalma meydana gelir ve total iyot miktarındaki artış tiroid hormon üretimini baskılayarak hipotiroidi gelişimine neden olabilir (88).

Diabetes Mellitus (DM), SDBY'nin ana nedenidir. Tersine, KBH'de karbonhidrat ve insülin metabolizmasındaki çeşitli değişikliklerle ilişkilidir. Diyabetik hastaları tedavi ederken, böbrek fonksiyonundaki düşüşün başlamasıyla

uyumlu yeterli tedavi ayarlamalarının yapılmasını sağlamak için KBH'nin neden olduğu metabolik bozukluklar akılda tutulmalıdır. Ayrıca, KBH'de kullanılan çeşitli spesifik tedaviler, üremik hastalarda DM'nin farmakolojik tedavisini de etkileyebilir. Yeterli glisemik kontrol, diyaliz sırasında üremik diyabetik hastalarda morbidite ve mortalitenin yanı sıra diyabetik nefropatinin başlangıcı ve ilerlemesinde de azalma ile ilişkilendirilmiştir. Yoğun insülin tedavisi, glisemik kontrolü önemli ölçüde iyileştirebilir ve insülinle tedavi diyabetli KBH tedavisinin bir parçası olarak düşünülmelidir. Böbrek yetmezliği hipoglisemi için bilinen bir risk faktörüdür. Glisemik kontrol; proteinüri gelişimini ve GFR kaybını azaltır. Glikozile hemoglobin HbA1c < %7 hedeflenerek diyabetin mikrovasküler komplikasyonları önlenebilir, ilerleyişi geciktirilebilir (89). En sık görülen endokrin komplikasyon ise sekonder hiperparatiroididir, renal osteodistrofi gelişimine neden olur (87).

- Üremik Komplikasyonlar

Kronik böbrek hastalarında trombosit fonksiyon bozukluğu gelişmesi sonucunda kanama zamanı uzayabilir, ancak asemptomatik hastalarda tedavi önerilmemekle birlikte; aktif kanama durumunda, cerrahi ya da girişimsel işlemlerde desmopressin, kryopresipitat, östrojen replasmanı ya da diyaliz uygulanabilir (64). Üremik Nöropati, ensefalopati (tedavi edilmezse nöbet ve komaya ilerleyen zihinsel durum bozukluğu), polinöropati ve mononöropati dâhil olmak üzere merkezi ve periferik sinir sistemi fonksiyon bozuklukları, SDBY'nin önemli komplikasyonlarıdır. Ancak diyalize daha erken başlama eğilimi nedeniyle çok daha az yaygın gözlenebilmektedirler.

Huzursuz bacak veya yanan ayak sendromları ile karakterize edilen duyuşal işlev bozuklukları, üremik nöropatinin sık görülen belirtileridir. Bu komplikasyonlar genellikle diyalizin başlatılması için mutlak endikasyonlardır. Üremik nöropatinin iyileşme derecesi, diyalize başlamadan önceki fonksiyon bozukluğunun derecesi ve kapsamı ile doğrudan ilişkilidir. Perikardit insidansı ise tedavideki ilerlemeler sayesinde KBH'li hastalarda azalmıştır, ancak bu sorun hala önemli morbidite ve ara sıra mortalite ile ilişkilidir. Ateş, plöretik göğüs ağrısı ve perikardiyal sürtünme sesi üremik perikarditin başlıca belirtileridir. Üremik perikarditin nispeten karakteristik bir özelliği, muhtemelen bunun metabolik bir perikardit olması ve epikardiyal hasarın

nadir görülmesi nedeniyle, elektrokardiyogramın genellikle tipik yaygın ST ve T dalgası yükselmesini göstermemesidir. Dolayısıyla bu anormalliklerin bulunması perikarditin başka bir nedenini düşündürür (90).

- **Seksüel Bozukluk**

Değişen tanımlar ve konunun hassas doğası nedeniyle KBH'li kişiler arasında cinsel işlev bozukluğunun yükünü tahmin etmek zordur; ancak böbrek fonksiyonu kötüleştikçe, böbrek fonksiyonu normal olan kişilere göre daha sık görülür. Böbrek hastalığının yanı sıra bununla ilişkili fiziksel (yani komorbiditeler) ve fiziksel olmayan faktörlerin birleşiminden kaynaklanır. Üremik erkeklerin yarısından fazlasında erektil disfonksiyon, cinsel isteksizlik kadınlarda doğurganlıkta azalma, erken doğum, adet düzensizliği görülmektedir (89). Üremi, hipotalamik-hipofiz-gonadal ekseninde ortaya çıkan düzensizlik cinsel işlev bozukluğuna katkıda bulunabilir ve GnRH, LH, FSH ve prolaktin klirensinin de azalmasıyla seksüel bozukluklara neden olur (91).

2.2. Renal Replasman Tedavileri

Renal replasman tedavisi (RRT) morbiditeyi ve belki de mortaliteyi azaltabileceğinden, ihtiyaç duyabilecek hastaların belirlenmesi önemlidir. Dünyada yaklaşık 3 milyon kişi RRT almaktadır. Genel popülasyonda yaşam beklentisinin uzaması, yaşlı nüfusun artışı, KBH insidansının artması, RRT' nin kabul kriterlerinin genişletilmesi ve diyalize erişimin kolaylaşması nedeniyle RRT alan hasta sayısı da artmıştır (92).

Hastanın bilinçli seçimler yapması ve RRT için hazırlık önlemlerini uygulaması için yeterli zamana ve bilişe sahip olması amacıyla bu programlar en geç 4. evre KBH'den önce başlatılmalıdır. Evre 5 asemptomatik KBH'lerinde diyalize başlamak için net bir GFR değeri belirlenmemiştir. Evre 5 KBH ölçülen GFR'ındaki değişkenliğin böbrek fonksiyonlarını güvenilir şekilde göstermediğini öne sürmüştür (91,92). GFR <15 ml/dk/1,73m² altına düştüğünde hastalarda üremik semptomlar, volüm yüklenmesi, tedaviye dirençli elektrolit ve asit baz bozuklukları gibi klinik semptomlar ön plana çıkar. Bu durumlar diyalizin hemen başlanması gerektiren semptomlar açısından yakın takip edilmelidir (93).

Kronik böbrek hastalarında RRT için klinik endikasyonlar olarak üremik ensefalopati, perikardit veya plörit, konfüzyon, asterik, miyoklonus, el bileği veya ayak düşüklüğü veya ciddi vakalarda nöbetler, üremiyle ilişkili kanama diyatezi, tedaviye dirençli hipervolemi, dirençli hipertansiyon, medikal tedaviye dirençli metabolik bozukluklar (metabolik asidoz, hiperkalemi, hiponatremi, hipokalsemi, hiperfosfatemi), malnutrisyon sayılabilir. Diyalize başlamanın göreceli endikasyonları arasında dikkat ve bilişsel görevlerde azalma, depresyon, kalıcı kaşıntı veya huzursuz bacak sendromu yer alır (94). Tüm hastalar için standart bir tedaviden uzaklaşıp en iyi kalite ve en güvenilir yöntemlerin tespiti hastaya özel bireyselleştirmiş tedaviyi belirlemeyi hedeflenmek gerekmektedir (93). Sonuç olarak, bir hastanın diyalize veya böbrek nakline ihtiyaç duyup duymayacağı ve ne zaman ihtiyaç duyacağı tam olarak belirsizdir. Üç ana diyaliz türü vardır: HD, periton diyalizi ve hemofiltrasyon.

2.3. Renal Transplantasyon

Transplantasyon bugün sunulan standart diyaliz türlerine göre daha üstün sağ kalıma sahiptir. Transplantasyon kronik diyaliz tedavisi başlanmadan önce yapılırsa preemtif olarak tanımlanır. Preemtif transplantasyon, HD başlandıktan sonra yapılan böbrek nakline göre daha yüksek oranda başarıya sahiptir. Bundan dolayı transplantasyon uygulanabilirliği ve hazırlığı diyalize ihtiyaç duyulmadan önce değerlendirilmelidir (95).

2.4. Hemodiyaliz ve Genel İlkeleri

Diyaliz terimi, Yunanca "içinden" anlamına gelen dia ve "gevşetmek veya bölmek" anlamına gelen lizis kelimelerinden türetilmiştir. Böbreğin kanı filtreleme rolünün fazla suyu, çözünen maddeleri ve toksinleri ortadan kaldıran yapay ekipmanla desteklendiği bir böbrek replasman tedavisi şeklidir. Böbrek fonksiyonundaki akut düşüşün üstesinden gelmeye, böbrek nakli yapılanaya kadar zaman kazanmaya ya da nakil aday olamayanlar için yaşam boyunca fonksiyonları sağlamaya çalışır (96,97).

Hemodiyaliz için mutlak kontrendikasyon damar yolunun sağlanamamasıdır ve zor damar yolu, iğne fobisi, kalp yetmezliği ve pıhtılaşma bozukluğu gibi göreceli kontrendikasyonlar şunları içerir ayılabilir (98). Hemodiyaliz böbreğin iki temel

görevini, solüt ve sıvı uzaklaştırılmasını üstlenir. İşlem sırasında yarı geçirgen zarın (diyalizör) bir yanında diyalizat sıvısı diğer yanında hastanın kanı pompalanır. Konsantrasyon gradyanına bağlı difüzyon ile plazmanın biyokimyasal içeriği değişir, solütün uzaklaştırılması sağlanır (99). Genellikle kan akımı 300-400 mL diyalizat akımı 500 ml olacak şekilde uygulanır. Çözünen madde intravasküler bölmeden difüzyon veya konvektif taşıma yoluyla temizlenir. Bu taşıma, belirli bir solüt için kan ve diyalizat arasındaki konsantrasyon gradyanı, kan ve diyalizat akışının türü ve miktarına, diyaliz membranının özelliklerine, uzaklaştırılan solütün boyutu ve fizikokimyasal özelliği dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır (96,97).

Difüzyon taşıma: HD uygulanan hastalarda metabolik atıkların uzaklaştırılmasının birincil yoludur. Bu taşıma, hastadan gelen kanın, diyaliz membranının her bir lifi içinde yer alan gözeneklerden akışı yoluyla meydana gelen diyaliz sıvısı ile arayüzüne bağlıdır (98).

Kan ve diyalizat diyaliz membranı boyunca aynı yönde aktığında (eşzamanlı akış), bir çözünen maddenin difüzyonu kandaki maddenin konsantrasyonunu azaltacak ve diyalizatta yükseltecektir. Böylece konsantrasyon gradyanı yavaş yavaş azalacak ve hatta belki de ortadan kalkacaktır. Bu etki ters akım akışıyla en aza indirilir. Bu düzenlemede, diyalizattaki çözünen madde konsantrasyonu, kan (venöz) çıkışında diyalizöre girdiğinde en düşük seviyededir (solüt kan konsantrasyonunun minimum olduğu yerde) ve diyalizörden kanda (arteriyel) çıktığında en yüksektir (çözünen kan konsantrasyonunun maksimum olduğu yer). Sonuç olarak, sıvı yollarının uzunluğu boyunca yüksek bir konsantrasyon gradyanı korunur (98,99,100,102).

Hemodiyaliz sırasında daha büyük üremik toksinlerin daha iyi uzaklaştırılması için 'daha büyük' gözenekler kullanılır. Diyaliz makinesi tarafından üretilen, membran boyunca hidrostatik basınç gradyanı yoluyla gerçekleşir (103-104). Hücre içermeyen sıvının kan bölmesinden diyalizat bölgesine filtrelenmesine ultrafiltrasyon denir. Damar erişimi için geniş kateterler tercih edilir (106,107).

Diyalizör, HD makinesi ve ekstrakorporeal sistemden oluşur. Bu bileşenler kan devresi ve diyaliz solüsyonu (diyalizat) devresi olarak iki ayrı sistem şeklinde tanımlanır.

Hemodiyaliz (HD) aparatı şunları içerir:

a) Kan devresi

b) Diyaliz solüsyonu devresi (98).

a) Kan devresi

Kan devresinde damardan alınan kan arteryel hat üzerinden diyaliz cihazına pompalanır. Kan, cihaz diyalizöründeki (yaylı bir silindir pompa) kılcal tüplerden geçer ve hastaya venöz yoldan pozitif basınç ile geri verilir. Hastanın kanı yarı geçirgen bir membran (diyalizer) ile, içeriğindeki solütlerin konsantrasyonu ayarlanabilen bir sıvıyla (diyalizat) temas halindedir. Her iki sıvıdaki solütler konsantrasyonun yüksek olduğu taraftan düşük olduğu tarafa geçer (difüzyon). Diyalizatta bulunmayan üre, kreatinin ve diğer üremik toksinler hasta kanından diyalizata geçer ve atılır. Buna karşılık diyalizatta daha yüksek konsantrasyonda bulunan bikarbonat gibi maddeler diyalizattan kana geçer. (98,108).

Diyalizat devresi ise diyalizat ve saflaştırılmış suyla seyreltilmiş bikarbonat çözeltisinin kullanıldığı tek geçişli bir sistemdir. Dahili filtreleme ile geliştirilmiş HD, silindirli pompa gibi ek bir ekipman gerektirmez ve hemodiyafiltrasyondan daha kullanışlıdır. (98,106,107).

b) Diyaliz solüsyon devresi

Diyalizat devresi şunları içerir:

- Bir su arıtma sistemi
- Suyu karıştırıp yoğunlaştıran ve diyalizöre besleyen oransal bir sistem
- Gelişmiş kontrol seçenekleriyle monitörler, alarmlar ve ultrafiltrasyon kontrolü

Diyalizde su saflığına ilişkin standartlar Tıbbi Cihazların Gelişmesi (AAMI) tarafından tanımlanmaktadır.

Diyalizdeki hastaların suda sıklıkla bulunan bazı kirletici maddelere maruz kalması, merkezi sinir sistemi fonksiyon bozukluğu, kemik hastalığı, hemoliz, enfeksiyon ve ölüm gibi önemli komplikasyonlara neden olabilir (109).

Diyalizatın bileşenleri

Tipik bir hemodiyalizat glikoz, sodyum, potasyum, bikarbonat (veya başka bir tampon), kalsiyum, magnezyum ve klorür ve içerir.

Sodyum, zamanla diyalizattaki sodyum konsantrasyonu 149 mEq/L'ye kadar yükseltilmiştir (110).

Potasyum, Çeşitli diyalizat potasyum konsantrasyonları mevcuttur. 2 mEq/L veya daha yüksek diyalizat potasyum konsantrasyon HCO_3^- 'leri yaygın olarak kullanılır (111).

Bikarbonat, böbrek fonksiyonu olmayan hastalarda asit birikimi nedeniyle tüketilen vücut tamponları diyaliz sırasında alkali uygulamasıyla onarılır. Tedavi sırasında uygulanan alkali miktarı, diyalizat bikarbonat konsantrasyonuna bağlıdır ve geleneksel olarak belirgin diyaliz sonrası alkalemiyi önleyecek ve diyaliz öncesi asidemiye en aza indirecek şekilde ayarlanmaktadır. Mevcut KDOQI kılavuzları, diyaliz öncesi veya stabilize serum HCO_3^- seviyelerinin 22 mmol/L'de/veya üzerinde tutulmasını önermektedir (112).

Kalsiyum, KBH olan çok az hastada semptomatik hipokalsemi görülür. Bu tür asemptomatik hastalar genellikle hipokalsemiden ziyade bağırsak fosfatını bağlamak ve kemik hastalığını önlemek için oral kalsiyum ile tedavi edilir. Günümüzde çoğu HD ünitesinde standart diyalizat olarak 3,5 mEq/L konsantrasyonunun yerini 2,5 veya 2,25 mEq/L'lik bir kalsiyum konsantrasyonu almıştır (113).

Diyalizör kan devresi ve diyaliz solüsyon devresi arasında köprü kuran HD kısmıdır. Diyalizat, diyalizatörün yarı geçirgen membranı ile kan bölmesinden ayrılan diyalizat bölmesi yoluyla pompalanır. Diyalizörler, içinde içi boş liflerin veya paralel membran plakalarının diyalizat içinde asılı olduğu bir poliüretan kapsül veya kabuktan oluşur (106,114). Diyalizör seçimi, diyaliz yeterliliği, algılanan biyouyumluluk ihtiyacı ve belirli hasta özelliklerine göre yönlendirilmelidir. Diyalizörlerin üretiminde kullanılan birden fazla membran türü vardır: Selüloz, ikame edilmiş selüloz, sentetik, selülozsentetik olarak ayrılabilir (115).

Selüloz membranındaki spesifik modifikasyonların inflamasyon üzerindeki etkisi devam eden araştırmaların konusu olmaya devam etmektedir (116,117).

2.5. Periton Diyalizi

Periton diyalizi SDBY için etkili bir tedavi yöntemidir. Periton diyalizi periton zarının diyaliz amacıyla yarı geçirgen zar olarak kullanıldığı peritona yerleştirilen katater aracılığıyla yapılan diyaliz şeklidir. HD’de ultrafiltrasyon hidrostatik basınç ile periton diyalizinde ise kan ve diyalizat arasındaki osmotik basınç farkıyla gerçekleşir. Basınç farkını %1,5 ve %4,25’lik glukoz konsantrasyonlarını içeren diyalizat sıvılarıyla oluşturulur (98,118).

2.6. Kronik Böbrek Hastalığı ve Serbest Radikaller

Pro-/antioksidan dengesindeki bir bozukluk sonucu oluşan oksidatif stres, KBH patogenezi ve ilerlemesinin kritik bir göstergesi olarak iddia edilmektedir. Böbrek yüksek metabolik aktivitesi sebebiyle oksidatif hasara karşı son derece hassastır ve birçok çalışma, oksidatif stresin hem hastalığın ilerlemesine hem de komplikasyonlara neden olabileceğini/hızlandırabileceğini göstermiştir. Ancak KBH ile oksidatif dengesizlik arasındaki karmaşık mekanizmaları araştıran birçok çalışma olmasına rağmen mekanizmaları açıklayan yeterli bilgi yoktur (119-121).

2.7. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikaller, son yörüngelerinde eşlenmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Serbest radikallerin yarı ömürleri kısa ve reaktivite düzeyleri çok yüksektir. Serbest radikal oluşumunda; bir molekülden elektron kaybı, bir moleküle elektron eklenmesi veya bir molekülün kovalent bağının molekülün her bir parçasında eşleşmiş elektronlardan bir tanesi kalacak şekilde bölünmesi gibi üç farklı mekanizma rol alır (122,123). Serbest radikaller, endojen veya eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen serbest radikal oluşum kaynakları arasında; mitokondriyel üretim, immün hücre aktivasyonu, inflamasyon, ağır egzersiz, psikolojik stres, iskemi, enfeksiyon, fizyolojik yaşlanma ve maligniteler sayılabilir. Eksojen serbest radikaller ise çevre kirliliği, sigara, ağır metaller (Cd, Hg, Pb, Fe, As), alkol, ilaçlar, pestisitler, ozon, endüstriyel çözücüler, kullanılmış yağ ve radyasyon gibi çeşitli kaynaklardan üretilebilir. Bu eksojen bileşikler, farklı yollardan vücuda girdikten sonra ayrışır veya serbest radikallere metabolize olur (124,125).

Serbest radikallerin en önemli özelliği; eşlenmemiş elektronları aracılığı ile diğer moleküllerle kolaylıkla reaksiyona girebilmeleridir. Özellikle oksijen bulunan

bir ortamda oksijenin metabolize edildiği aerobik canlılarda sürekli olarak radikal üretimi gerçekleşir. Serbest radikallerin, organizmada moleküler düzeyde çeşitli etkileri bulunmaktadır. ROS, insanlarda ve diğer canlı organizmalarda meydana gelen yaşamsal süreçler sırasında moleküler oksijenden (O_2) üretilen, oksijen içeren kimyasal olarak reaktif türlerdir. ROS'da meydana gelecek artışlar, hücrede istenmeyen etkilere ve hücredeki proteinler, lipidler ve nükleik asitlerde hasara yol açarak intrasellüler sinyal yollarının bozulmasına neden olur (126-128). Hücrenel koşullarda oluşabilen oksijen radikalleri ile oksijen içeren reaktif türlerin önemli olanları Tablo 2.6'da gösterilmiştir (129).

Tablo 2. 6. Metabolizma sırasında oluşan reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin listesi.

Serbest Radikal	Simge	Yarı ömür
Reaktif Oksijen türleri-ROS		
Süperoksit	$O_2^{\cdot-}$	
Hidroksil	OH^*	$10^{-10}s$
Alkoksil radikali	RO^*	10^{-6}
Peroksil radikali	ROO^*	17 s
Non-radikaller		
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Stabil
Singlet oksijen	O_2	$10^{-6}s$
Ozon	O_3	$10^{-6}s$
Organik peroksit	$ROOH$	Stabil
Hipokloröz asit	$HOCl$	Stabil (dk)
Hipobromöz asit	$HOBr$	Stabil (dk)
Reaktif nitrojen türleri-RNS		
Radikaller		
Nitrik oksit	NO^*	s^a
Nitrojen dioksit	NO_2^*	s
Non-radikaller		
Proksinitrit	$ONOO^-$	$10^{-3}s$
Nitrozil katyonu	NO^+	s
Nitroksil anyonu	NO^-	s
Dinitrojen trioksit	N_2O_3	s
Dinitrojen tetraoksit	N_2O_4	s
Nitröz asit	HNO_2	s
Peroksinitröz asit	$ONOOH$	Stabil
Nitril klorür	NO_2Cl	s

Reaktif oksijen türlerinin en belirgin etkisi lipidler üzerinedir ve buna lipid peroksidasyonu denilir. Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller ile başlatılır,

membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olur ve böylece membran lipid yapısını değiştirerek hücre yapı fonksiyonlarını bozar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (132). Proteinler, serbest radikallerin etkilerine lipitlere göre daha az hassastır ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Proteinlerde yapısal değişikliğe yol açan başlıca mekanizmalar; protein karbonil gruplarının oluşumu, metal katalizli protein oksidasyonu, protein tiyol gruplarının kaybı, nitrotirozin ve ileri protein oksidasyon ürünlerinin oluşumudur (133). Protein oksidasyonunun sonuçları; enzim aktivitesinde azalma, protein fonksiyonlarının ve proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış ya da azalmış yatkınlık, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler ve immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir. DNA molekülü hasarı sonucu kronik inflamasyon, enfeksiyon, yaşlanma, karsinogenezis, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli patolojilerin görüldüğü bilinmektedir. Serbest oksijen radikalleri, protein yapısındaki enzimlerin aktivitelerini değiştirir, membran transport proteinlerini ve reseptör etkileşimlerini bozar (134).

2.9. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyen, bunların neden olduğu hasarı önleyen, nötralize eden ya da onaran maddelerdir (130). Antioksidan maddeler genellikle elektron vericidir ve serbest radikalleri süpürücü etki gösterirler. Antioksidanlar, hücreleri oluşabilecek oksidatif hasara karşı farklı şekillerde koruyabilirler. Bunlar arasında radikal oluşumunu engellemek, radikallerin oluşturdukları hasarı azaltmak, hasara uğrayan moleküllerin eliminasyonunu arttırmak, hasarlı molekülleri onarmak sayılabilir (135,136).

Antioksidan maddeleri endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayırmak mümkündür. Eksojen antioksidanlar arasında vitaminler, bazı gıdalar ve ilaçlar sayılabilir. Vitamin eksojen antioksidanlar α -Tokoferol (Vitamin E), β -karoten (Vitamin A), askorbik asit (Vitamin C) ve folik asit (Vitamin B9) dışarıdan alınan vitamin kaynaklı antioksidanlardır (137,138). Endojen antioksidanlar ise enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar olarak iki alt gruba ayrılmaktadır. Glutasyon, melatonin,

ürük asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), sistein, haptoglobin, seruloplazmin ve transferrin non-enzimatik antioksidanlardan başlıcalarıdır (139).

Enzimatik antioksidanlar; serbest radikalleri parçalayıp elimine ettikleri için, oksidatif stresle mücadelede ilk savunma hattını oluştururlar. En önemli enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve glutasyon redüktaz (GPx) olarak sayılabilir (140).

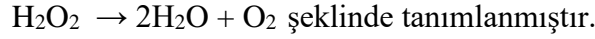
- Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), aerobik organizmaların tümünde bulunan ve en etkin hücre içi antioksidan enzimlerden biridir. Bu enzim, süperoksit anyonunu (O_2^-), moleküler oksijen ve hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürür. SOD enziminin, serbest oksijen radikallerini elimine etmekte birinci savunma hattını oluşturduğu da bilinmektedir. Kimyasal olarak enzimin katalizlediği reaksiyon; $2O_2^- \bullet + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ olarak tanımlanmıştır (141, 142). SOD bir metalloenzimdir ve insanda üç çeşit SOD bulunmaktadır. Bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren Cu/Zn SOD formu sitoplazmik formudur ve hücrelerde en sık rastlanan SOD'dur. Manganez (Mn) içeren Mn SOD ise mitokondriyal formudur. Cu/Zn SOD siyanid ile inhibe olurken, Mn SOD siyanid ile inhibe olmaz. Ekstraselüler SOD formu ise hücre dışı sıvılarda bulunup yine Cu/Zn içerir (143-145).

Süperoksit anyonu O_2^- , hücrelerde zincirleme radikal reaksiyonlarının başlamasına sebep olur. SOD enzimi sayesinde hücrelerde süperoksit konsantrasyonu normal düzeylerde tutulmaktadır. Yüksek oksijen tüketimi olan dokularda, SOD aktivitesi de daha yüksektir (146). Aerobik solunum yapan organizmalarda hem spontan hem de enzimatik olarak katalizlenen pek çok reaksiyon sonucu süperoksit anyonu açığa çıkmaktadır. Bunlar arasında mitokondriyal elektron taşıma zinciri (ETZ), NADPH oksidaz kompleksi, sitozoloik ksantin oksidaz ve sitokrom p450 monooksijenazlar sayılabilir. SOD enzimi sayesinde hücrelerde oluşan ROS kontrol altında tutulur ve maddelerin hücre sel toksisiteye sebep olması engellenir (131,147).

- Katalaz (CAT)

Glikoprotein yapıda bir hemoproteindir. Oksidoredüktaz sınıfı bir enzimdir. SOD tarafından oluşturulan H₂O₂'nin su ve moleküler oksijene dönüştürüldüğü reaksiyonu katalizler. Böylece hidrojen peroksidin oluşturacağı oksidatif hasarı engellemiş olur. Kimyasal olarak enzimin katalizlediği reaksiyon;



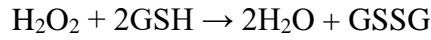
Enzimin yapısında dört adet hem grubu bulunur. Toplam uzunluğu 500 amino asidi geçen tetramerik yapıya sahiptir. CAT, en yüksek katalitik hıza sahip enzimlerden biridir ve saniyede yaklaşık bir milyon substratı hidrolize eder (148,149). Enzim; farklı dokularda farklı miktarlarda bulunup, farklı derecelerde aktiftir. Hücrelerde en çok peroksizom denilen organelde yerleşmiş halde bulunur. Bu sebeple peroksizomdan zengin olan kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve mukoz membranlarda yüksek miktarda bulunmaktadır. En yüksek aktivite karaciğer ve böbrekte saptanırken, en düşük aktivite bağ dokusunda gözlenmektedir (134,150). Katalaz hem aerobik hem de anaerobik dokularda aktiftir. 4-11 arası geniş bir pH aralığında aktivite gösterir.

Hücrelerdeki H₂O₂ konsantrasyonunu etkin olarak sınırlaması, fizyolojik süreçlerde birinci basamak antioksidan savunma enzimi olarak işlev görmesi, CAT enziminin fizyolojik önemini de arttırmaktadır. Çeşitli hastalık durumları ve anormallikler ile katalaz enziminin eksikliği ya da mutasyonu arasında bağlantı olduğu belirtilmiştir. Düşük CAT düzeyine sahip olan kişilerin hipertansiyon ve diyabet gibi hastalıklara yakalanmaya daha yatkın oldukları belirtilmiştir (151-153).

- **Glutasyon Peroksidaz (GPx)**

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksidin indirgenmesini sağlayan, membran lipitleri ve hemoglobini oksidatif hasara karşı koruyan ve yapısında 4 adet selenyum içeren tetramerik yapıda bir metalloenzimdir. Sitozolda yerleşim gösterir. Membrana bağlı en önemli antioksidan olan E vitamini yetersiz olduğu zaman membranları peroksidasyondan korur. GPx, solunum patlaması (respiratory burst) (O₂ tüketiminde hızlı artış ve süperoksit radikali oluşması) sırasında fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde GPx oksidatif hasara karşı en etkili antioksidan olarak sayılabilir. GPx aktivitesindeki azalma, hücrede hidrojen peroksid artışına ve

şiddetli hücre hasarına yol açar. Enzimin katalizlediği reaksiyon aşağıdaki gibi özetlenebilir (132):



- Redükte Glutasyon (GSH)

Redükte glutasyon (GSH), GPx tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipid peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında okside glutatyona dönüşmektedir. Organizmanın sahip olduğu glutasyon deposu sınırlı olduğundan, okside glutasyonu tekrar kullanmak için GSH-R'ın katalizlediği bir reaksiyonla redükte glutatyona dönüştürmek gerekmektedir. Redükte glutasyon; non-enzimatik bir hücre içi redoks homeostazi düzenleyicisidir. γ -glutamil sisteinil glisin, (GSH); bir tripeptid olup; milimolar konsantrasyonlarda tüm hücrelerde bulunur (154). Sistein içeren bu tripeptid; aynı zamanda glutasyon disülfid olarak da bilinir ve redükte (GSH) ve okside (GSSG) formlarda hücrelerde bulunur. Bu tripeptid; hücrenin ana tiyol-disülfid redoks tamponu olarak kabul edilir ve serbest sülfhidril grupları ile birlikte sitozol, çekirdek ve mitokondride bol miktarda bulunan başlıca çözünür antioksidandır (155). Glutasyon aynı zamanda proteinlere kovalent olarak bağlanabilir ve hücre savunmasında yer alan çok sayıda enzimin koenzimi olarak işlev görür ve serbest radikalleri de doğrudan temizleyebildiği için hücrenin en önemli serbest antioksidanıdır (156).

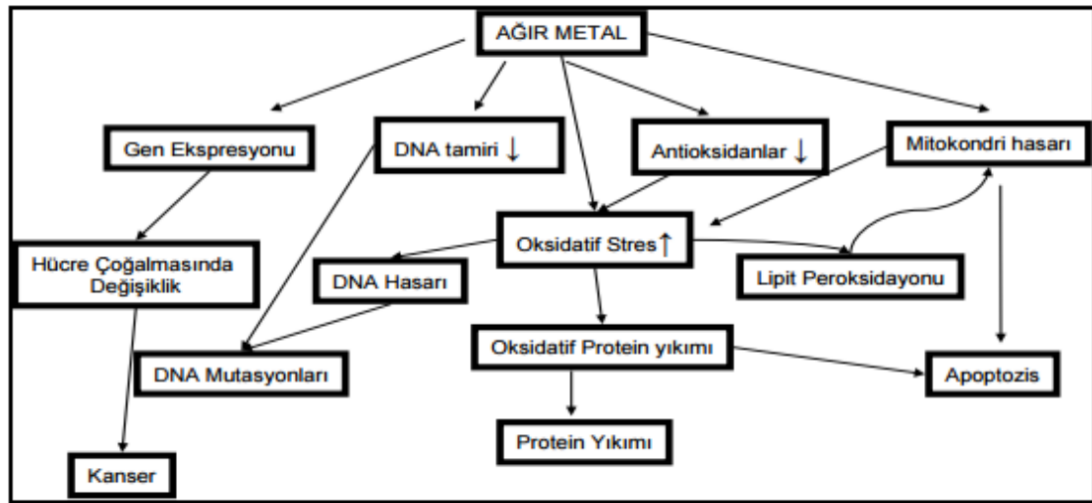
Glutasyon; lipid hidroperoksidlerde ve elektofilik moleküllerde, hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda ve serbest radikaller ile etkileşimde doğrudan görev alır. Bu sebeple GPx için de doğal bir substrattır. GRx, en önemli antioksidan enzimlerden biri olup, koenzimi selenyumdur. Yükseltgenmiş glutasyonu, NADPH varlığında indirgenmiş glutatyona çevirir ve bu esnada NADP oluşur (157).

2.8. Ağır metaller

Ağır metal terimi; yoğunluğu 5g/cm^3 'den yüksek metaller için, potansiyel toksisite riski olan ve elementlerin atomik ağırlığı dikkate alınmaksızın tüm toksik özelliğini taşıyan metaller ya da yarı metaller için kullanılır. Biyolojik süreçlere olan etkilerine göre ağır metaller esansiyel veya non-esansiyel olarak sınıflandırılır.

Esansiyel ağır metaller genellikle yaşamsal tepkimeleri katalizleyen enzimlerin kofaktörü olarak veya vitamin ya da hormonların bileşiminde bulunan; vücutta belli konsantrasyonlarda bulunması gereken metallerdir. Demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn), nikel (Ni) ve selenyum (Se) bu ağır metaller arasındadır. Toksik etkileri 1-10 ppm derişim sonrasında görölmeye başlar. Bunun aksine; civa (Hg), kurşun (Pb) ve kadmiyum (Cd) gibi non-esansiyel ağır metaller ise 0,001-0,1 ppm gibi çok düşük konsantrasyonlarda bile toksik etki göstererek sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (158,159).

Ağır metallere maruziyet oral, solunum ve kutanöz yolla olabilir. Vücuttan çok yavaş elimine edildikleri için; zamanla birikerek kronik toksisiteye yol açabilirler. Ağır metallerin vücutta oluşturdukları toksik etkilerin mekanizması genel olarak DNA hasarı ve oksidatif stres artışıdır (160-162). Bu mekanizmalar Şekil 2.1'de özetlenmiştir. En fazla toksik etki gösteren ağır metaller arasında arsenik, kurşun, civa ve kadmiyum yer almaktadır.



Şekil 2. 1. Ağır metallerin hücre içi etkileri (162).

2.8.1. Arsenik Toksisitesi

Arsenik (As), periyodik tablonun VA grubunda yer alır. Atom numarası 33, atom ağırlığı 74.91 g/mol, erime noktası 614°C, kaynama noktası 820°C olan metal ile ametal arasında bir özelliğe sahip bir yarı-metaldir. Arsenik bileşenleri organik ve

inorganik olmak üzere ikiye ayrılır. Organik arsenik bileşenleri yapısında karbon bağı içerir ve en yaygın olanları metillenmiş formu olan monometil arsenik asit ve dimetil arsenik asittir. İnorganik arsenik bileşenleri ise yapılarında karbon bağı içermezler, başlıcaları arsenit ve arsenattır. Genel olarak suda daha iyi çözündükleri için inorganik arsenik türleri; organik arsenik türlerine göre daha toksiktir (163-164).

Arsenik; vücutta farklı doku ve organlara hasar vermektedir. Arsenik toksisitesinin altında yatan en önemli mekanizma; tiyol grubu içeren bileşenler ile reaksiyona girmesidir. Arsenik, sülfidril grubu içeren pek çok DNA onarım enzimi ve antioksidan enzimi inhibe ederek DNA hasarı ve lipid peroksidasyonuna ve buna bağlı olarak ROS ve RNS oluşumuna sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalar arseniğin ayrıca endokrin bozukluklara, epigenetik etkilere ve karsinogenez oluşumuna öncülük ettiğini ortaya koymaktadır. Oral yolla alınan arsenik 1 mg'dan itibaren insanda toksik belirtilere yol açar. İnsanda toksik dozu 10-50 mg, öldürücü doz (LD50: lethal doz) ise 60-200 mg aralığındadır (165,166).

Arsenik vücuda gastrointestinal sistem (GİS), solunum sistemi ve parenteral yollarla girebilir. İnorganik arseniğin GİS'den emilimi çok hızlıdır. Solunum yoluyla alınan arsenik ise %80 oranında sistemik emilime uğrar. Dermal yolla maruz kalınan arseniğin ise sistemik emilimi azdır. Arsenik karaciğer, akciğerler, böbrekler ve kalpte birikmesine rağmen bu bölgelerden kısa sürede atılır. Bunun yanında keratine olan afinitesi sebebiyle alımından 2-4 hafta sonra keratinden zengin saç, tırnak, deri gibi dokularda birikmeye başlar. Arsenik toksik ve kanserojen bir metaldir, ancak bu etkileri maruz kalma yolu ve doz ile orantılı olarak değişmektedir. Kronik arsenik zehirlenmelerinde semptomların başlangıcı 2-8 haftayı bulmaktadır. Tipik bulgular deri-tırnak değişiklikleri, hiperkeratoz, hiperpigmentasyon, dermatitler, nöropatiler, ileri dönemde ise periferik vasküler bozukluklar ve cilt kanseri olarak sayılabilir (167,168).

2.8.2. Kurşun Toksikitesi

Kurşun (Pb); periyodik tablonun 4A grubunda yer alan bir elementtir. Atom ağırlığı: 207.19, erime noktası: 327,5°C, kaynama noktası: 1740°C dir. Kurşun, biyolojik sistemlerde kalsiyum ve çinko gibi +2 değerlikli elektron özellikleri

nedeniyle kimyasal olarak benzer reaksiyonlara girebilir. P, O, N, S gibi elementlerle de bağ kurma yeteneğine sahiptir (169).

Günümüzde kurşun maruziyetinin asıl kaynakları yakıtlar, sanayi ve boyalardaki kurşundur. Kurşun karbonat hidroksit olarak bazı ülkelerde boya pigmenti olarak kullanılmaktadır. Trafikğin yoğun olduğu, küçük veya büyük boyutlu sanayi bölgelerinde ve civarlarında yaşayanlar ile geri dönüşüm sistemlerinin olduğu bölgeler ile bu işlerde çalışanların elbise saç ve deri yoluyla kurşuna maruz kaldığı bilinmektedir (170).

Kurşun vücuda inhalasyon, sindirim ve deri yoluyla alınabilir. İnhalasyon yolu, çevresel kurşun maruziyetinin en belirgin şeklidir. Endüstriyel tozlar ve kurşun katkı maddesi içeren yakıt dumanı, solunum ile vücuda girmektedir. Kurşun partikül büyüklüğüne göre inhale edilebilir. 5 µm çapın üstünde orta ve büyük havayollarından mikrosilier aktivite ile atılır ve yutulurak GİS ile emilir. 0.01–5µm çaplı partiküller ise %10–60 oranında alveolar yüzeyden emilirler. Alveoler yüzeyler oksijene geçirgen olduğu kadar diğer kontaminantlara da geçirgen oldukları için akciğerde birikim için bir risk kaynağıdır (171,172).

Kurşunun eser miktarları bile sindirim sisteminden kolayca emilerek kanla dokulara iletilir. GİS maruziyeti daha çok küçük çocuklar için söz konusudur. Kurşun içeren boya, oyuncak ve maddelerin ağza götürülmesi, kontrolsüz olarak yutulması özellikle 2 yaş altı çocuklarda toksisite riskini arttırmaktadır. Kurşun aynı zamanda içme suyundan ve emaye ile kaplanmış kaplardan, hazır kutulu içeceklerden de bulaşabilmektedir (173). Emilim kişiler arasında farklılık gösterir, vücut kitle indeksi ile de orantılı olarak çocuklarda daha yüksek düzeyde ve %37–70 oranında tahmin edilmektedir. Beslenme durumu ve birlikte alınan maddelerin etkilerinden dolayı kalsiyum, fosfat ve diğer etkenler ile absorpsiyon azalabilir (174).

Deriden bulaş; daha çok organik kurşun bileşikleri için etkin bir yoldur. İnorganik kurşun bileşiklerinin deriden emilmediği ileri sürülmesine rağmen boyalara katılan kurşun oksit ve kurşun karbonat bileşiklerinin, işçilere temas yoluyla geçtiği gösterilmiştir. Deriden inorganik kurşun bileşikleri az miktarda emilmekle birlikte kurşun naftenat ve kurşun stearat gibi kurşun içeren sabunlar ile yüksek oranda deriden emilim olur (170, 175).

Oral yoldan alınan kurşun miktarları, Amerika’da 100 µg, Avrupa’da 30 µg’ın altındadır. Bu oran ülkemizde 70 µg/gün düzeylerindedir. Kan kurşun düzeyi için normal sınır 90-400 µg/dl aralığıdır. Öte yandan, plazma kurşun miktarının 40-80 µg/dl’ye ulaşması halinde protoporfirin metabolizması ve oksidasyon redüksiyon reaksiyonları baskılanabildiğinden kandaki kurşun miktarının 40 µg/dl’yi geçmemesi tercih edilir (176).

Dolaşıma geçen kurşunun %90’dan fazlası eritrositlerde birikir. Dolaşımdaki kurşun, interstisyel sıvı, dalak, kemik iliği ve böbrekler gibi retiküloendotelyal sistem (RES) ortamlarına dağılır. Daha sonra kemikler, iskelet ve kalp kası, merkezi sinir sistemi, saç ve kıllar ile tırnaklara geçer. Erişkinlerde kurşunun %95’i, çocuklarda ise %75 kadarı kemiklerde depolanır. Erişkinlerde kurşunun kemikteki ayrı ömrü yaklaşık 20 yıl kadardır.

Kurşunun toksik etkileri akut ve kronik olarak ikiye ayrılrsa da bu iki kategori arasında keskin bir sınır yoktur. Akut toksikasyonlarda kan kurşun düzeyi önemli iken, kemik ölçümleri daha çok uzun süreli toksikasyonları göstermede kullanılabilir (177).

Kurşun eritrositlerde yüksek afinite gösterdiği δ-aminolevulinik asit dehidrataz (ALAD=porfobilinojen sentaz) enzimine bağlanır. Bütün hücrelerde bu enzim vardır. Bu enzim Hem yolunda monopirol porfobilinojen formuna yükselmesi için asimetrik olarak iki molekül ALA eklemesini sağlar. Kurşun enzime olan afinitesi çinkonunkinden 20 kat daha fazla olduğu için çinkonun yerine geçerek enzim aktivitesini inhibe edebilir. Kurşun hem sentezinde başta ALAD olmak üzere birkaç enzimi inhibe eder. Kurşun ayrıca hem şelataz (hem sentetaz) enzimini de inhibe ederek demirin heme girmek üzere mitokondriye transferini engeller. Hem sentezi kurşun tarafından inhibe olunca ALA ve koproporfirinlerde bir artış olur ve özellikle ALA’nın idrarda ölçümü maruziyet/absorbsiyon indeksi olarak kullanılabilir. Kurşun, kanda serbest ve çinko bağlı protoporfirin düzeyini arttırır. Bu nedenle aralarında ekspanansiyel bir ilişki olacak şekilde kan kurşunu arttıkça, artan çinko protoporfirin düzeyi ölçülmesi ile kurşun maruziyet/absorbsiyon ve risk indeksi ölçülmüş olur. Eritrosit membran transportunda Na⁺/K⁺ ATPaz’ı inhibe eder ve yapısal proteinlerinde değişiklikler yapar. Bu durum hemolize sebep olduğundan eritrosit ömürlerini kısaltır. Kan kurşun düzeyi 3 µmol/L gibi yüksek değerlerde anemi görülür. Kurşunun eritrositlere bağlanması ile plazmadaki oran azalacağından dolayı plazma

kurşun düzeyi ile hemoglobin ters bir korelasyon gösterir. Plazma ile taşınan kurşun yumuşak dokuda en çok böbrek ve karaciğerde birikir. Bu organlarda intranükleer inklüzyon cisimcikleri olarak görülür. Kandaki kurşunun bir kısmı kan beyin bariyerini aşarak beyne girer. Sinir sistemindeki dağılımı düzensizdir. Büyük kısmı hipokampus, amigdala ve koroid pleksusta yerleşir. İnorganik kurşun daha çok çocuklarda olmak üzere ensefalopatiye sebep olur. Akut yüksek doz maruziyette ataksi, koma ve epilepsi olur. Şelasyondan sonra ensefalopati düzelir ancak bazı belirtiler kalıcı olabilir (170, 178,179).

Ağır kurşun zehirlenmesi, glomerüler ve tubulointersitisyel değişimlerle karakterize, hipertansiyon, hiperürisemi (kurşundan kaynaklanan gut) ve kronik böbrek yetmezliğine sebep olur. Böbrek yetmezliği olan kişilerde vücut kurşun yükü fazla olanların daha progresif seyrettiği ve uzun süre maruziyetten kaynaklanan böbrek yetmezliğinde Etilendiamin Tetraasetik Asit (EDTA) ile şelasyon tedavisi alan hastaların GFR'sinde yükselme gözlenmiştir. Kurşunun böbrekteki toksikasyon mekanizması net olmamakla birlikte renal mitokondrial solunum fonksiyonunun inhibisyonu düşünülmektedir (170, 180,181).

2.8.3. Kadmiyum Toksikitesi

Kadmiyum, periyodik tablonun 2B grubunda bulunan; atom ağırlığı 112.4 g/mol, yoğunluğu 8.64 g/cm³, erime noktası 321 °C olan bir geçiş metalidir. Cd, Zn endüstrisinin bir yan ürünü olup, geri eldesi çinkonun eritilmesi ve işlenmesi sırasında gerçekleşmektedir. Cd çevreye dökümhanelerden atmosferik birikim ile, fosil yakıtları ile, Cd içeren plastik ve pigmentlerin yakılmasıyla, çelik fabrikalarının ve metalurjik süreçlerin emisyonları ile yayılmaktadır. Cd ayrıca pil, reaktör kontrol çubuklarının ve metal kaplama ürünlerinin yapılmasında, sentetik ve plastik boya üretiminde kullanılmaktadır. İnsan yaşamını etkileyen önemli Cd kaynakları; rafine edilmiş yiyecek maddeleri, sigara dumanı, kömür yakılması, su boruları, sulamaveya, lağım suları, kahve, çay, tarımda kullanılan kimyasal gübreler, kabuklu deniz ürünleri ve sanayi maddelerinin üretimi sırasında çıkan baca gazlarıdır (182,183).

Kadmiyum içeren toprakta yetişen kök sebzeler, tahıllar ve yağlı bitki tohumlarında Cd birikimi olur. Kabuklu deniz hayvanlarında ve orman mantarlarında da Cd miktarları yüksektir. Tütün dumanı da Cd içermektedir. Bir paket sigara içen bir

birey; 1-2 µg Cd' a maruz kalmaktadır. Kalsiyum, protein, çinko, demir ve bakırdan fakir diyetle beslenmek de bağırsaklardan Cd emilimini arttırmaktadır (184).

Kadmiyum absorpsiyonu solunum ve sindirim yoluyla olmaktadır. Tütün yaprakları ve dumanı önemli miktarda Cd içerdiğinden dolayı sigara kullanımı Cd alımını artırır. Emilen Cd dolaşıma geçtikten sonra proteinlere ve kan hücrelerine bağlanarak taşınır. Karaciğer, böbrekler, alyuvarlar ve kemik dokuda birikim göstermektedir. Vücutta bulunan Cd miktarının %50'si karaciğer ve böbreklerde bulunurken, vücuttaki en yüksek Cd konsantrasyonuna böbreklerde rastlanır; çünkü Cd için hedef organ böbreklerdir (185).

Farklı şekillerde vücuda alınan Cd miktarı karaciğer, böbrek, akciğer ile sindirim sistemini olumsuz yönde etkilemektedir. Az miktarlarda ve uzun süreli Cd birikimi kemik erimesine neden olmaktadır. Canlılarda doğum öncesi dönemde Cd birikimi olumsuz etkilere sahip olup, insan ve hayvanlarda düşük doğum ağırlığına, iskelet anormalliklerine, davranış ve öğrenme problemlerine neden olmaktadır. Vücutta Cd miktarını saptamak için kullanılan biyolojik örnekler arasında idrar ve kan ön plandadır. İnsan İdrar örneklerinde Cd ve böbrekteki Cd konsantrasyonu arasında doğrusal bir orantı olup, kan ve idrar Cd düzeyleri arasında da doğrusal bir ilişki vardır (186).

Gıdalar ile yüksek düzeyde Cd alınması akut zehirlenmelere yol açar. İçme sularında 16 mg/l ve üzeri Cd bulunması karın ağrılarına, kusma ve bulantılara neden olur. Cd'un solunum yoluyla alınması ile akut pnömoni ve pulmoner ödem oluşur. Az miktarda Cd'un vücuda alınmasıyla kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), kronik bronşit, progresif fibrozis, amfizem ve kronik renal tübül bozukluklar ile kardiovasküler sistem ve iskelet sisteminde de bozukluklar oluşur. Cd'un olumsuz etkisi en çok proksimal tubuler fonksiyonda görülür. Etkileşim sonucunda idrar ile dışarı atılan Cd miktarı artar; proteinuri, aminoasiduri, glikozuri ve renal tubuler fosfat emiliminde azalma görülür. Tubulus hücrelerindeki bozulmadan kaynaklı bağ dokuda yangı ve kalınlaşma görülür. Cd zehirlenmesi sonucu kalsiyum metabolizması düzensizleşir. Bireylerde güçlü kalsiyum nefropatileri oluşur. Daha sonra idrardaki kalsiyum seviyesi normale göre daha azalır. İskelet sistemindeki bu bozulmalar osteoporozis veya osteomalazi ile de sonuçlanabilir (162,187).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (*The International Agency for Research on Cancer: IARC*) mesleki olarak Cd'a maruz kalan insanlarda yapılan çalışmaları birinci sınıf insan kanserojeni olarak tanımlamıştır. Başka çalışmalarda ise akciğer, endometrium, mesane, kan, prostat, pankreas, mide ve meme kanseri gibi kanserlerle ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (*World Health Organisation: WHO*) tarafından; Cd'un tolere edilebilir haftalık alım miktarının 7 µg/kg vücut ağırlığı olduğu bildirilmiştir. Cd'un redoks ile aktif bir metal olan demir ile yer değiştirdiği, böylece hücre içerisinde serbest demir miktarının artmasına neden olarak oksidatif stresi indüklediği de saptanmıştır. Cd'un oluşturduğu oksidatif stres DNA'da zincir kırıklarına, kromozomal aberasyonlara, kardeş kromatit değişimlerine, DNA protein bağlanma hatalarına ve mutajenik lezyonların oluşmasına sebep olur. Şimdiye kadar yapılan araştırmalarda Cd'un genotoksik etkilerinin reaktif oksijen türlerinin üretilmesiyle dolaylı olarak meydana geldiği anlaşılmıştır. Yine DNA hasarına ek olarak reaktif oksijen türlerinin Cd tarafından indüklenen genomik kalıp kararsızlığı ve kanser oluşmasına sebep olduğu belirlenmiştir (187-190).

2.10.4. Civa Toksisitesi

Civa (Hg), periyodik tablonun 12. periyodunda bulunan, atom numarası 80 olan bir metaldir. Oda ısısında sıvı halde bulunan tek metaldir. Civa doğada 3 formda bulunur: Bu formlar metalik (elementel) civa, inorganik tuzlar ve organik bileşikler olarak sınıflandırılır. Yüksek buharlaşma basıncı nedeni ile uçucu olabilmektedir. Farklı oksidasyon dereceleri mevcuttur ve farklı organomerkürik bileşikler oluşturabilmektedir. Bu özellikleri civanın toksisitesine katkıda bulunmaktadır (191-193). Civa sfingomanometre, manometre, termometre, barometreler olmak üzere birçok teknik ve tıbbi alet imalatında kullanılmaktadır. Bazı Hg bileşiklerinin kısıtlı kullanımı tıpta devam etmektedir (aşı, antiseptikler, cilt merhemleri). Diş hekimliğinde çok sık kullanılan amalgam dolgular ise % 50 oranında metalik civa içermektedir (170, 194).

Elementel civa, oda ısısında buharlaşabilen civa formudur. Atmosferde bulunan civanın % 99'u civa buharı şeklindedir. Buharı, akciğerlerden hızla emilerek biyotransformasyona uğrayabilir ve santral sinir sistemine de geçebilir. Biyotransformasyona uğrayan civanın %80'i kan dolaşımına geçerek eritrositlerde

okside olur ve özellikle böbrekte birikir. Havadaki partikül miktarının 10 mg/m^3 'ün üzerinde olması yaşamı tehdit eder. Elementel civa, ciltten de kolaylıkla emilebilmektedir (170, 195,196).

Civa (II) klorür (HgCl_2) ve Civa (I) klorür (Hg_2Cl_2) gibi civa tuzları sanayide kullanılır ve HgCl_2 daha toksiktir. Civa tuzları özellikle GİS'den emilmekle birlikte ciddi renal hasara yol açabilmektedirler. Proteinüri, idrarda granüler silendir, tübüler hasara bağlı piyüri, nefrotik sendrom, oligüri ve anüriye sebep olabilmektedirler. Civa tuzları kan beyin bariyerini kolayca geçememelerine rağmen, nörolojik hasar da oluşturabilirler Akut, ölümcül oral civa klorür dozu 1-4 gram kadardır (170, 196,197).

Organik civa bileşikleri karbon atomuna tek kovalent bağla bağlanan civa içerir ve bu gruptaki bileşikler çeşitli toksik etkiler meydana getirebilir. Organik Hg bileşikleri yağda çözünür, organik yapısı ve kısa hidrokarbon zinciri olması nedeniyle kolayca GİS'den emilir. En toksik organik Hg bileşikleri alkil-civa tuzları, en yaygın bulunanı ise metil civadır. Metil civa, teratojen bir madde olup, anne sütü ve plasental geçişi de bulunmaktadır. Doğadaki Hg^{++} nin bir kısmı suda yaşayan bazı bakteriler tarafından metil civaya (CH_3Hg) dönüştürülür. Metilasyon Hg^{++} ile bakteriler tarafından üretilen metilkobalamin bileşiği arasındaki nonenzimatik bir reaksiyondur. Metil civa balık ve deniz memelilerinde birikerek, sudaki besin zincirinin en üstünde yer alan avcı balıklarda en yüksek düzeylere ulaşır. Metil civa, tuna veya kılıç balığı gibi bazı türlerde birikerek yüksek konsantrasyonlara ulaşabilir. Organik civa kutanöz yol ile de emilmektedir. Organik civa zehirlenmelerinde hafif semptomların yanı sıra ağır parestezi, dizatri, görme alanı daralması, ataksi, işitme kaybı, körlük, mikrosefali, spastisite, paralizi ve koma gelişebilir (170, 198,199).

Yüksek düzeylerde civa maruziyeti sinir sistemi, cilt, solunum sistemi, kardiyovasküler sistemde hasara neden olabilir. Pulmoner ödem, bronş epitelyumunda erozyon, asidoz, koma ve ölüm görülebilir. Mortalitenin primer nedeni akciğer hasarıdır. Öksürük, ateş, tremor, halsizlik, dispne, gingivitis, halüsinasyonlar, nörolojik bulgular, ellerde ve ayaklarda eritem ve soyulma görülebilir. Karın ağrısı, kas krampları, dermatit, ishal ve metalik tat hissi de oluşabilir. Kronik civa maruziyetinde ekstremitelerde persistan, istemsiz hareketler, ambliyopi, polinöropati, gingival hipertrofi görülebilir. Sıvı elementel civanın GİS'den emilimi ise çok kısıtlıdır (170, 200,201).

Civa maruziyeti farklı formlarla ve yollarla olmaktadır. Özellikle organik Hg' nin en önemli kaynağı balıklar, metillenmiş Hg' nin da en sık kaynağı amalgam dolgular olmaktadır. Yutulmuş elementel Hg, GİS' den oldukça zayıf bir şekilde absorbe edilir ve toksik olarak değerlendirilmez. Buna rağmen, bu civa türü yüksek difüzyon yeteneği ve lipit çözünürlüğü sayesinde hücre membranlarını kolaylıkla geçer. Solunan civa buharının %75-80'i alveoler membranlardan absorbe olarak kan dolaşımına geçer. Kanda çözünmüş civa buharı dokulara taşınır ve bu dokular tarafından absorbe edilir (202,203). Elementel civanın vücuttaki yaşam süresi kısıtlıdır ve dokulardaki hücrelerde ve eritrositlerde katalaz ile hızlıca iki değerlikli civa iyonuna ($Hg^0 \rightarrow Hg^{+2}$) okside olur. Elementel civanın yarılanma ömrü 60 gün kadardır. En uzun tutulum süresine sahip organlar böbrekler, beyin ve testislerdir. Elementel civanın kan-beyin bariyerini kolayca geçebilmesi civanın beyindeki etkilerini gündeme getirmiş ve Alzheimer, multiple skleroz gibi nörolojik hastalıkların etiyolojisinde rol oynadığı ileri sürülmüştür. Birikimin olduğu esas organ ise böbreklerdir. Civanın tüm formlarının değişen ölçülerde plasentaya geçebildiği saptanmıştır. Hamileliğin erken dönemlerinde bebeğin nörolojik dokularının gelişimi önemli olduğu için civa anneye göre bebek için daha tehlikelidir (170, 204,205).

Böbrekler özellikle inorganik civa toksisitesine duyarlı organlardır. Civanın kan ve idrar düzeyleri yükseldiğinde böbrek fonksiyonlarında bozulmalar görüldüğü bildirilmiştir. Civa, böbrek dokusunda birikerek renal toksisiteye yol açar. Proteinüri ve nefrotik sendrom tek başına veya diğer toksisite bulgularıyla birlikte ortaya çıkabilir. Çocukların yüksek dozda elemental civaya maruziyeti sonucu oluşan tabloya pink hastalığı veya akrodinia denir. Akrodinia; el ve ayaklarda eritem-şişlik-ağrı, irritabilite, fotofobi, periferik nöropati, hipertansiyon, renal tübüler disfonksiyon ve büyüme geriliği ile karakterizedir. Amalgamdan açığa çıkan az miktardaki civa buharının zararlı olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir (170, 206,207).

Emilen civanın tamamına yakını idrarla atılır. Bu yüzden tanı için 24 saatlik idrarda civa miktarı tercih edilir. WHO, genel popülasyon için kanda $4 \mu g Hg /L$ ve idrarda $15 \mu g Hg/L$ düzeylerini önerirken; mesleki olarak civaya maruz kalan bireylerde izin verilebilen değerlerin kanda $20 \mu g Hg /L$, idrarda $75 \mu g Hg/L$, olduğunu ifade etmiştir (170, 208).

2.8.4. Alüminyum Toksisitesi

Alüminyum, atom numarası 13 ve simgesi Al olan kimyasal elementtir. Periyodik tablonun 3. periyodunun 13. grubunda yer alır. Alüminyum, yumuşak ve hafif bir metal olup mat gümüşümsü renktedir. Al, dünyada en yaygın bulunan metaldir. Çevrede doğal olarak meydana gelen silikatlar, oksitler ve hidroksitler olarak üç değerlikli durumda bulunabilir (Al^{+3}), ve klor gibi diğer elementlerle birleşebilir; bununla beraber kükürt, florun yanı sıra organik maddelerle kompleksler oluşturur (209).

Alüminyum günlük diyetle düzenli olarak alınır. Ayrıca terlemeyi önleyici maddelerde, aşılarda yardımcı madde olarak ve desensitizasyon işlemlerinde kullanılır. Haftalık tolere edilebilen miktar Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından 60 kg'lık bir yetişkin için 1 mg alüminyum/kg vücut ağırlığı olarak kabul edilmektedir. Literatürde alüminyum atılımının normal aralığı için çok farklı değerler bildirilmektedir; örneğin plazma için $<7,5 \mu g/L$ ve idrarda $<60 \mu g/24$ saat verilmiştir (210).

Alüminyum glomerüler filtrasyon hızı [GFR] $<30 \text{ mL/dak}/1,73 \text{ m}^2$ olan son dönem böbrek yetmezliği hastalarında ve hemodiyalize giren hastalarda görülen sistemik toksik etkilere neden olabilir. Alüminyum toksisitesi diyaliz sıvısındaki alüminyum maruziyeti ve alüminyum içeren fosfat bağlayıcıların tüketilmesinden kaynaklanmaktadır (211).

Alüminyum maruziyet kaynakları arasında diyaliz sıvısındaki şebeke suyu vb. kaynaklardan gelebilen alüminyum, alüminyum içeren fosfat bağlayıcılar ve antiasitlerler sayılabilir. Alüminyum içeren fosfat bağlayıcılar dünya genelinde nadiren kullanılsada Avustralya, Rusya ve diğer bazı ülkelerde kullanıldığı bilinmektedir. Rusya'da yapılan bir araştırmada, hemodiyaliz hastalarının yüzde 17,6'sında alüminyum içeren fosfat bağlayıcıların kullanıldığı ortaya konulmuştur (212). Sitratlı alüminyum kullanımı ise oral yoldan maruziyette önemli bir yer tutmaktadır. Sitratlı bileşiklerin (ferrik sitrat, sodyum sitrat v.b.) bağırsaklarda alüminyum absorpsiyonunu artırması dolayısıyla toksisiteye yol açabilmektedir (213).

Alüminyumun akut toksisitesi düşüktür. Genel popülasyonda diyetle alüminyuma maruz kalma nedeniyle herhangi bir akut etki gözlenmemiştir (214). Akut alüminyum toksisitesinin başlıca klinik belirtisi ölümcül olabilen ensefalopatidir.

Desferrioksamin uygulanmasından sonra serum alüminyum seviyeleri 400 ila 1000 mcg/L' olduğunda teşhis edilebilir (215).

Kronik alüminyum toksisitesinin belirtileri arasında kemik ve kas ağrısı, halsizlik, osteomalazi, demire dirençli mikrositik anemi, hiperkalsemi ve yavaş ilerleyen demans yer alır.

Serum alüminyum konsantrasyonunun >20 mcg/L olduğu tespit edilen vakaların, alüminyum toksisitesi açısından değerlendirilmesi ve takip edilmesi önemlidir (216).

Desferroksamin stimülasyon testi, serum konsantrasyonu ile sağlanandan daha doğru bir doku alüminyum konsantrasyonu ölçümü sağlar. Desferroksamin dokuda biriken alüminyumu uzaklaştırır. Yakın zamanda sınırlı bir maruz kalmayı yansıtabilir. Testin prensibi intravenöz desferrioksamin infüzyonundan sonra serum alüminyum konsantrasyonundaki artışın değerlendirilmesidir. Desferroksamin uygulanmasından sonra serum alüminyumunda ≥ 50 mcg/L artış olması durumunda test pozitif kabul edilir. Alüminyum konsantrasyonları 20 ila 60 mcg/L olan ve toksisite semptomları olmayan hastalarda desferrioksamin stimülasyon testi önerilmemektedir (217-219). Serum alüminyum düzeyleri çok yüksek (>200 mcg/L) olan hastalara ise desferrioksamin stimülasyon testi yapılması önerilmez çünkü dokulardan salınacak alüminyum ciddi ve ölümcül nörotoksositeye neden olabilir. Alüminyum toksitesi tespit edilen hastalarda tedavi seçenekleri olarak desferrioksamin uygulanması, yüksek akışlı ve sık diyaliz, alüminyum kaynağının tespiti yer almaktadır (220,221).

2.9. Son Dönem Böbrek Yetmezliğinde ve Diyaliz hastalarında Ağır Metal Toksikitesi ve Önemi

Ağır metallere maruz kalma KBH'iiyle ilişkilidir (222). Böbrek, iki değerlikli metalleri yeniden absorbe etme ve biriktirme kapasitesinden dolayı ağır metal toksisitesinin ilk hedef organıdır (16). Ağır metallere maruz kalmak, nefronlardaki işlevsel fonksiyonları olumsuz yönde değiştirebilir. As, Cd, Pb ve Hg gibi çevresel ağır metallere yüksek derecede maruz kalmak, nefrotoksiteyi artırır. Deneysel çalışmalar; ağır metallere maruz kalmanın organlarda oksidatif strese, inflamasyona ve lipit peroksidasyonuna neden olabildiğini göstermiştir. Cd, Pb ve Hg'ye düşük

düzyeyde kronik maruz kalmanın hem proksimal tübüler hasara, hem de GFR'de azalmaya sebep olduğu bilinmektedir (9-12).

Tedavi sırasında, HD hastaları tipik olarak haftada iki veya üç kez çok büyük miktarda suya, yani seans başına 90 ila 192 L'den fazla suya maruz kalırlar (15). Bu nedenle diyaliz sıvısının hazırlanmasında kullanılan suyun kalitesi, kirletici maddelerin hastanın kan dolaşımına yayılmasını önlemek açısından çok önemlidir (16). Diyalizde büyük miktarlarda su kullanıldığından, kirletici maddelerin düşük konsantrasyonları bile sağlık riskleri oluşturabilir. Diyaliz sıvısı ve kan örneklerinde Cu, Zn ve Al arasında önemsiz korelasyonlar bulunurken, Pb konsantrasyonu sadece erkeklerden alınan kan örneklerinde anlamlı korelasyon göstermiştir. Muntner. ve ark (17) kandaki kurşun düzeyi ile kemiklerdeki kurşun konsantrasyonu arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur

Arsenik, Cd, Pb ve Hg gibi ağır metaller; hücrelerin başlıca antioksidanlarını, özellikle de tiyol grubu içeren antioksidan enzimlerini tüketir ve ROS üretiminde artışa neden olur. Oksidatif stres altındaki hücreler ise ROS'un lipitlere, proteinlere ve DNA' da neden olduğu lezyonlar nedeniyle çeşitli fonksiyon bozuklukları sergiler. Sonuç olarak, ağır metallerin böbreklerdeki toksik etkilerinden oksidatif stres kısmen sorumlu olabilir (13,14).

Diyaliz sıvısındaki eser elementlerin miktarı, diyaliz hastalarının vücudundaki eser elementlerin miktarını önemli ölçüde değiştirir (223). KBH olan hastalarda toksik elementlerin kümülatif etkisi hastalık boyunca devam eder ve hastalığın komplikasyonlarını şiddetlendirir (224). Diyaliz suyunda nitrat bulunması anemiye neden olur ve kan basıncını düşürür; kalsiyum, magnezyum ve sodyumun varlığı ise yüksek tansiyon, kas zayıflığı, bulantı ve kusma, nörolojik bozukluklar ve baş ağrılarına, düşük pH ise şeker hastalığına ve mide bulantısı kusmaya yol açabilir (225). Alüminyum, diyaliz hastalarında akut zehirlenmelere neden olmasının yanı sıra, kalsiyum-fosfat dengesini bozarak kemik iliği bozukluklarına neden olur (226).

Alüminyum birikimi aynı zamanda demans sendromu ve anemi, ensefalopati ve osteodistrofi ile de ilişkilidir. Yapılan bazı çalışmaların sonuçları HD suyundaki kurşun, alüminyum, kalsiyum, nitrat ve kadmiyum konsantrasyonunun Avrupa Farmakopesi ve Tıbbi Cihazları Geliştirme Derneği standardından daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni HD su arıtma sisteminin yetersiz performansı,

su boru sisteminin aşınması ve hastanede kullanılan suyun kalitesinin uygun olmamasıdır (227,228). Hemodiyaliz hastalarında görülen serum/kan kurşun seviyelerindeki artışın nedeni böbrek fonksiyonunun neredeyse tamamen kaybolması ve HD sırasında kurşunun uzaklaştırılmasındaki zorluk olabilir. Düşük seviyelerde bile olsa; çevresel kurşun maruziyeti, HD hastalarında kan kurşun düzeylerini artırır. Bu nedenle kronik HD hastalarında kan kurşun düzeyleri yükselir (18,229).

Böbrek, kronik Cd toksisitesinin hedef organlarından kabul edilir. Cd'ya maruz kalma, böbrek fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Ancak halen Cd kaynaklı böbrek hasarı ve potansiyel mekanizmaları konusunda tartışmalar vardır. Gao ve ark.; poliürinin, kronik Cd maruziyetine bağlı toksisitenin tipik bir özelliği olduğunu öne sürmüştür ancak diğer çalışmalar, Cd maruziyetinden sonra idrar miktarının azaldığını göstermiştir (8, 9). Organlarda Cd'ye bağlı hasarı açıklamak için çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür. Uzun süreli ve düşük dozda Cd toksisitesinin hücre apoptozu, otofaji, nekroz, hücre-hücre bağlantılarının tahribatı ve hücre sinyal yollarında düzensizlik ile ilişkili olduğu bulunmuştur (10-15). Cd'nin başlangıçta bazı iyonların (özellikle Na⁺, K⁺ ve Ca²⁺) dengesizliğine neden olabileceğini ve bunun daha sonra böbrekte daha fazla hasara yol açabileceğini gösteren kanıtlar mevcuttur (16,17). Böbrek fonksiyonu bozuk olan bireylerde Cd'un böbreklerde birikmesi, vücutta da Cd aşırı yüklenmesine sebep olur. Böbreklere, kemiklere ve diğer organlara verilen hasarlar dâhil çeşitli sağlık riskleriyle ilişkili olması nedeniyle diyalize giren bireyler için Cd birikimi sorun olabilir (19,229).

2.10. Tek Hücre Jel Elektroforez (Comet) Yöntemi

Son yıllarda gelişen ve kullanımı artan tek hücre jel elektroforezi yöntemi; *in vitro*, *in vivo* ve *ex vivo* sistemlere uygulanabilen, DNA sarmal kırıklarının tespiti için sıklıkla tercih edilen, hassas, güvenilir ve hızlı bir genotoksisite yöntemidir. Comet yönteminin basit, hızlı, duyarlı ve ucuz bir yöntem olması, az sayıda hücre gerektirmesi, düşük düzeydeki DNA hasarının da belirlenebilmesi, herhangi bir dokuya da uygulanabilir olması diğer genotoksisite testlerine göre bir üstünlük sağlar. Tek hücre jel elektroforez yönteminde hasarlı DNA'nın görünüşü, kuyruklu yıldız benzediği için "Comet yöntemi" olarak da adlandırılmaktadır. Bu yöntemde DNA tek ve çift zincir kırıkları, alkali oynak bölgeler ve oksidatif DNA baz hasarı

belirlenebilmektedir (230). Comet yöntemi DNA hasar/onarım temel mekanizması, radyasyon biyolojisinde, oksidatif hasarın belirlenmesi, endüstriyel toksikoloji, çevresel toksikoloji, genetik toksikoloji, insan biyoizlemleri ve apoptoz gibi çalışmalarda kullanılabilir (231).

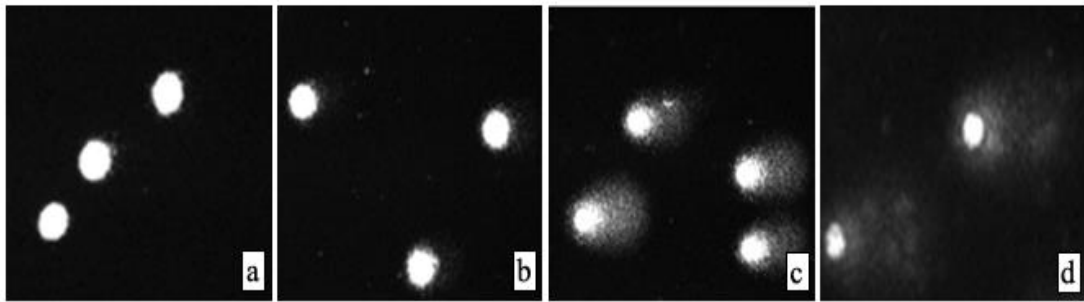
Comet yöntemi, Japonya Alternatif Metotlar Validasyon Merkezi (*Japanese Center for the Validation of Alternative Methods*, JaCVAM) ve Avrupa Alternatif Metotlar Validasyon Merkezi (*European Centre for the Validation of Alternative Methods*, ECVAM) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda, *in vivo* memeli hücrelerinde OECD tarafından 2014 yılında valide bir yöntem (test no: 489) olarak kabul edilmiştir (232, 233).

İlk kez 1984 yılında Ostling ve Johanson (234) tarafından kullanılan ve 1988 yılında Singh ve ark. (235) tarafından geliştirilen bu yöntemde alkali ortam ($pH > 13$) kullanılarak DNA tek sarmal kırıklarının tespiti sağlanmıştır. Comet yöntemi, alkali ortamda DNA'nın çözülmesi sonrasında farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüküne sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda göç etmeleri sonucu oluşan kuyruklu yıldız andıran görüntünün floresan mikroskobu altında incelenerek DNA hasarının tespiti esasına dayanır. DNA göçünün derecesi, DNA hasarının boyutu hakkında bilgi verir. Comet yönteminin basamakları hücrelerin izole edilmesi, mikroskop lamalarına agar ortamında gömdürülmesi, lizis, alkali ortamda elektroforez, nötralizasyon, DNA'nın floresans boya ile boyanması, Comet sayımı ve DNA hasarının belirlenmesi aşamalarını içerir (230,231, 234, 235).

Hemen hemen tüm ökaryotik hücre tipinde çalışılabilir. Kültüre edilmiş hücreler, tam kan örnekleri (polimorf lökositler, mononükleer hücre fraksiyonları), sperm, yanak ve nazal epitel, plasental hücreler materyal olarak kullanılabilir. Her bir materyalin hazırlanması kendine özgüdür. Kolay şekilde alınması ve iyi sonuç vermesi nedeni ile periferik kan mononükleer hücreleri sık tercih edilir (230,231, 234, 235).

İzole edilen hücreler, mikroskop lamı üzerinde ince bir agaroz jel içine gömülür. Hücreler daha sonra lize edilir. Lizis işleminin uygulanması aşamasında yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren lizis çözeltisinde bekletilir. Membranlar parçalanıp çekirdekte bulunan DNA çift sarmalının serbestleşebilmesi sağlanır. Serbestleşen DNA, ışığa karşı duyarlı olduğundan ilave kırıkların oluşmasını engellemek için işlemler karanlık ortamda yürütülmelidir (230,231, 234, 235).

Alkali ortamda elektroforez aşamasında çift sarmal DNA sarmalının açılması ve kırıkların ortaya çıkması için yüksek alkali özellikteki ($\text{pH}>13$) elektroforez tamponunda bekletildikten sonra elektroforez akımı uygulanır. Hasarsız DNA elektrik akımı ile kuyruk bırakmadan göç ederken, hasarlı DNA parçaları ise farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüklerine sahip olduklarından elektriksel alanda kuyruklu yıldız görünümü oluşturmaktadır (Şekil 2.2.). Alkali ortamda elektroforez işleminden sonra jel pH'sının nötralizasyonu için uygun bir tamponla yıkama işlemi yapılır (230,231, 234, 235).



Şekil 2.2. Kuyruklu yıldız görünümü. a) hasarsız, b) az hasarlı, c) hasarlı, d) çok hasarlı.

Örneklerde kuyruklu yıldız görüntülenmesi için Floresan mikroskopu altında inceleme yapılır ve DNA spesifik floresan boyalar kullanılır. Tercih edilen boya uygulayan bireyin ihtiyacına bağlı olup yöntemin güvenilirliğine veya hassasiyetine etkisi yoktur. Floresans boyama yöntemleri arasında etidiyum bromür, 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), propidiyum iyodür gibi floresan boyalar yer almaktadır. Bu boyalar arasında parlak ve uzun süren floresan renk vermesi, yarı karanlık ortamlarda sayım yapılmasına olanak sağlaması ve düşük arka plan sinyaline neden olması gibi avantajları ile etidiyum bromür sıklıkla tercih edilmektedir (230,231, 234, 235).

DNA hasarının belirlenmesinde görsel analiz veya bilgisayarlı görüntü analizi ile comet sayımı gerçekleştiren yazılımlar kullanılır. Sıklıkla tercih edilen, daha hassas ve doğru sonuç veren bilgisayarlı görüntü analizinde; mikroskop üzerine monte edilen kapalı sistem dijital kamera bağlantısı ile otomatik olarak karakteristik comet olarak adlandırılan kuyruklu yıldız görüntüleri analiz edilir. DNA hasarının tespitinde; kuyruk momenti, kuyruk uzunluğu ve kuyruktaki DNA yüzdesi gibi parametreler kullanılmaktadır. Sonuçların değerlendirilmesinde kuyruk içerisindeki DNA

yoğunluğunun tüm hücre yoğunluğuna göre yüzde değerine karşılık gelen % kuyruk yoğunluğunun kullanılması önerilmektedir (230,231, 234, 235).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kimyasal Maddeler

8-OHdG, Katalaz (CAT), Glutatyon Peroksidaz (GPx), Glutatyon (GSH), Malondilaheit (MDA), Süperoksit dismutaz (SOD) Ölçüm Kitleri	SunRed Biotechnology
Ağır metal stok çözeltileri (Al, As, Cd, Hg ve Pb)	Merck
Dimetil Sülfoksit (DMSO)	Sigma-Aldrich
Düşük Erime Noktalı Agar (LMPA)	Sigma
Etidyum Bromür (EtBr)	Sigma-Aldrich
Etil Alkol	Sigma-Aldrich
Etilendiamin Tetraasetik Asit (EDTA)	Sigma-Aldrich
Ficoll (Histopaque-1077)	Sigma
Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik (PBS) Tablet	Sigma
Nitrik asit (HNO ₃) (% 65)	Merck
Metil Alkol	Sigma-Aldrich
N-Lauril Sarkosinat Sodyum Tuzu	Sigma-Aldrich
Normal Erime Noktalı Agar (NMPA)	Sigma
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Sigma-Aldrich
Sodyum Klorür (NaCl)	Sigma
Tripan Mavisi	Sigma-Aldrich
Tris	Sigma
Triton X-100	Sigma

3.2. Araç ve Gereçler

Buzdolabı	Hotpoint
Cam Pastör Pipeti	Interlab
Comet Bilgisayarlı Görüntüleme Sistemi	Comet Analysis Software
Derin Dondurucu (-20 ⁰ C)	Ariston
Derin Dondurucu (-80 ⁰ C)	Revco
Distile Su Cihazı	Mes
Elektroforez	Biometra Analitik
Elektroforez Güç Kaynağı	Power Pack P25
Floresan Mikroskop	Leica
Hematoloji Otoanalizörü	Sysmex XN-2000
İnkübatör	Heraeus Instruments
Karıştırıcı-Isıtıcı	Jankel&Kunkel, Ikamag
Kırık Buz Makinası	Scotsman AF100
Lam (26x76mm)	Marienfeld
Lamel (24x60mm)	Marienfeld
Manyetik Karıştırıcı	Stuart Scientific
Mikrodalga Fırını	Vestel
Mikropipet, 8 kanallı (5-300 µl)	Eppendorf
Mikropipetler (0,5-1µl, 1-5µl, 5-10µl, 10-200µl, 200-1000µl, 1-5ml)	Finnpipette, Gilson, Discovery Confort
Mikrosantrifüj	Hettich
Mikrosantrifüj Tüpü (15ml)	Eppendorf
pH metre	Cyberscan
pH metre elektrodu	Hanna HI 1131
Pipet Ucu (0,5-10, 10-200, 100-1000 µl)	Eppendorf
Santrifüj	Heraeus, Hettich
Santrifüj Tüpü (Falcon 15 ml)	Isolab
Spektrofotometre	Spektramax M2
Terazi (Hassas)	Mettler Toledo
Ultrasonik Banyo	Transsonic 460/H
Vorteks	Heidolph Reax 2000
ICP-MS cihazı	Thermo Fisher Scientific®
Qtegra™ Intelligent Scientific Data Solution™ (ISDS) Software	Thermo Fisher Scientific®

3.3. Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. Oksidatif Hasar Göstergelerinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Çözeltiler

Oksidatif Hasar Değerlendirilmesi için SunRed Biotechnology Firmasına ait

standart SOD, CAT, GPx, GSH, MDA ve 8-OHdG kitleri kullanılmıştır.

Kitler ortam sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra kullanılmalıdır. Her kit 6 ml Horseradish Peroksidaz (HRP)-Konjuge Streptavidin Reaktifi içermektedir. HRP-Konjuge Streptavidin, yaban turpu peroksidaz (HRP) enzimine kovalen olarak konjuge edilmiş streptavidin proteininden oluşur. Bu reaktif, immünoanaliz uygulamalarında biyotin konjuge birincil antikolar için bir tespit reaktifi olarak kullanılır. 4°C'de 2 ay dayanıklıdır. Ayrıca her kit 20 ml yıkama tamponu (30X) içermektedir. Deney tamponundan 20 ml alınır ve 580 ml distile su ile seyreltilerek 1X çözelti elde edilir. HRP-Konjuge Streptavidin Reaktifi ve yıkama tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır. Kitler ayrıca 6 ml Kromojen Çözeltisi A ve 6 ml Kromojen Çözeltisi B çözeltisi içermektedir. TMB (3,3',5,5-tetrametilbenzidin) kromojen çözeltisi, ELISA'larda HRP için bir substrat olarak kullanılır. Işığa uzun süre maruz bırakılmaz.

Standart SOD Çözeltisinin Hazırlanışı

Süperoksit dizmutaz (SOD) Kiti 500 µl sığır eritrosit SOD stok çözeltisi (Cu/Zn-SOD şeklinde) (160 ng/mL) içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanır. SOD stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler hazırlanır. Bunun için 6 tane temiz ve kodlanmış deney tüpü alınır. Herbir tüpe 120 µL standart seyreltme tamponu ilave edilir. İlk tüpe SOD stok çözeltisinden 120 µL ilave edilir ve karıştırılır, daha sonra bu çözeltilerden 120 µl alınır bir sonraki tüpe konular, benzer işlem diğer tüpler için devam ettirilir. En sondaki tüpe stok ilave edilmez. Böylece 80, 40, 20, 10, 5, 0 (Kör) ng/mL konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmış olur. Kit 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standartların seyreltilmesi için kullanılır. Ayrıca kit 1ml biotinle işaretli SOD-1 anti-insan antikoru da içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Standart seyreltme tamponu ve biotinle işaretli SOD-1 anti-insan antikoru 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

Standart CAT Çözeltisinin Hazırlanışı

Kit 500 µl sığır eritrosit CAT stok çözeltisi (400 ng/mL) içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanır. CAT stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler hazırlanır. Bunun için 6 tane temiz ve kodlanmış deney tüpü alınır.

Herbir tüpe 120 µL standart seyreltme tamponu ilave edilir. İlk tüpe CAT stok çözeltisinden 120 µL ilave edilir ve karıştırılır, daha sonra bu çözeltiden 120 µl alınır bir sonraki tüpe konulur, benzer işlem diğer tüpler için devam ettirilir. En sondaki tüpe stok ilave edilmez. Böylece 200, 100, 50, 25, 12,5, 0 (Kör) ng/mL konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmış olur. Kit 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standartların seyreltilmesi için kullanılır. Kit 1ml biotinle işaretli CAT anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle işaretli CAT anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

Standart GPx Çözeltisinin Hazırlanışı

Kit 500 µl sığır eritrosit GPx stok çözeltisi (240 ng/mL) içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanır. GPx stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler hazırlanır. Bunun için 6 tane temiz ve kodlanmış deney tüpü alınır. Herbir tüpe 120 µL standart seyreltme tamponu ilave edilir. İlk tüpe GPx stok çözeltisinden 120 µL ilave edilir ve karıştırılır, daha sonra bu çözeltiden 120 µl alınır bir sonraki tüpe konulur, benzer işlem diğer tüpler için devam ettirilir. En sondaki tüpe stok ilave edilmez. Böylece 120, 60, 30, 15, 7,5, 0 (Kör) ng/mL konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmış olur. Kit 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standartların seyreltilmesi için kullanılır. Kit 1ml biotinle işaretli GPx anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle İşaretli GPx anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

Standart GSH Çözeltisinin Hazırlanışı

Kit 500 µl sığır eritrosit GSH stok çözeltisi (24 nmol/ml) içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanır. GSH stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler hazırlanır. Bunun için 6 tane temiz ve kodlanmış deney tüpü alınır. Herbir tüpe 120 µL standart seyreltme tamponu ilave edilir. İlk tüpe GSH stok çözeltisinden 120 µL ilave edilir ve karıştırılır, daha sonra bu çözeltiden 120 µl alınır bir sonraki tüpe konulur, benzer işlem diğer tüpler için devam ettirilir. En sondaki tüpe

stok ilave edilmez. Böylece 12, 6, 3, 1,5, 0,75, 0 (Kör) nmol/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmış olur. Kit, ortam sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra kullanılmalıdır. Kit 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standartların seyreltilmesi için kullanılır. Kit 1ml biotinle işaretli GSH anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle İşaretli GSH anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

Standart MDA Çözeltilisinin Hazırlanışı

Kit 500 µl sığır eritrosit MDA stok çözeltisi (128 nmol/ml) içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanır. MDA stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler hazırlanır. Bunun için 6 tane temiz ve kodlanmış deney tüpü alınır. Herbir tüpe 120 µL standart seyreltme tamponu ilave edilir. İlk tüpe MDA stok çözeltisinden 120 µL ilave edilir ve karıştırılır, daha sonra bu çözeltilerden 120 µl alınır bir sonraki tüpe konulur, benzer işlem diğer tüpler için devam ettirilir. En sondaki tüpe stok ilave edilmez. Böylece 64, 32, 16, 8, 4, 0 (Kör) nmol/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmış olur. Kit, ortam sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra kullanılmalıdır. Kit 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standartların seyreltilmesi için kullanılır. Kit 1ml biotinle işaretli MDA anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle İşaretli MDA anti-insan antikoru ve standart seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

Standart 8-OHdG Çözeltilisinin Hazırlanışı

Kit 500 µl sığır eritrosit 8-OHdG stok çözeltisi (128 ng/ml) içermektedir. Standart çözeltiler taze olarak hazırlanır. 8-OHdG stok çözeltisinden 1:1 seri dilüsyonlar yapılarak standart çözeltiler hazırlanır. Bunun için 6 tane temiz ve kodlanmış deney tüpü alınır. Herbir tüpe 120 µL standart seyreltme tamponu ilave edilir. İlk tüpe 8-OHdG stok çözeltisinden 120 µL ilave edilir ve karıştırılır, daha sonra bu çözeltilerden 120 µl alınır bir sonraki tüpe konulur, benzer işlem diğer tüpler için devam ettirilir. En sondaki tüpe stok ilave edilmez. Böylece 64, 32, 16, 8, 4, 0 (Kör) ng/ml konsantrasyonlarında standart çözeltiler hazırlanmış olur. Kit, ortam

sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra kullanılmalıdır. Kit 3 ml standart seyreltme tamponu içermektedir. Standartların seyreltilmesi için kullanılır. Kit 1ml biotinle işaretli 8-OHdG anti-insan antikoru içermektedir. Antijene özgü primer antikora bağlanarak hedef antijene dolaylı olarak bağlanan bir konjuge ikincil antikordur. Biotinle işaretli 8-OHdG anti-insan antikoru ve seyreltme tamponu 4°C'de 2 ay dayanıklıdır.

3.3.2. Tek Hücre Jel Elektrophorez Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

LMPA Çözeltisi

1 g LMPA, mikrodalga kullanılarak 100 ml PBS içinde çözülerek % 1'lik LMPA çözeltisi hazırlanır. Küçük hacimler halinde buzdolabında saklanır.

Elektrophorez tampon çözeltisi

1705 ml soğuk distile su, 52,8 ml 10 N NaOH ve 8,8 ml 200 mM EDTA çözeltisi karıştırılır. Deney günü taze hazırlanır.

Etanol çözeltisi (% 50)

Yüzde 99,8'lik etanol çözeltisinden 150,3 ml alınır ve distile su ile 300 ml'ye tamamlanarak homojen karışması sağlanır.

Etanol çözeltisi (% 75)

Yüzde 99,8'lik etanol çözeltisinden 225,5 ml alınır ve distile su ile 300 ml'ye tamamlanarak homojen karışması sağlanır.

Etanol çözeltisi (% 98)

Yüzde 99,8'lik etanol çözeltisinden 294,5 ml alınır ve distile su ile 300 ml'ye tamamlanarak homojen karışması sağlanır.

EtBr çözeltisi (20 µg/ml)

10 mg EtBr 50 ml distile suda çözülerek 200 µg/ml'lik stok EtBr çözeltisi

hazırlanır. Stok EtBr çözeltisinden 1 ml alınıp distile su ile 10 ml'ye tamamlanarak 20 µg/ml'lik EtBr çözeltisi hazırlanır. Oda sıcaklığında karanlıkta saklanır.

EDTA Çözeltisi (200 mM)

14,89 g EDTA 200 ml distile suda çözülüp pH 10'a ayarlanır. Oda sıcaklığında saklanır.

PBS

1 PBS tableti 200 ml distile suda çözülür. 4 °C'de saklanır.

Lizis Çözeltisi

146,1 g NaCl; 37,2 g EDTA; 1,2 g Tris tartılıp 500 ml distile suda çözülür. 10 g NaOH eklenerek pH 10'a ayarlanır. 10 g N-Lauril sarkosinat sodyum tuzu eklenir. Distile su ile son hacim 890 ml'ye tamamlanıp maddeler çözününceye kadar karıştırılarak stok lizis çözelti hazırlanır. Oda sıcaklığında saklanır. 178 ml stok lizis çözelti, 2 ml Triton x-100 ve 20 ml DMSO ile karıştırılır. Deney günü taze hazırlanır, kullanılacağı zamana kadar 4 °C'de tutularak deney sırasında soğuk çözeltisi kullanılır.

NaOH (10 N)

200 g NaOH 500 ml distile suda çözülür. 4 °C'de saklanır.

NMPA çözeltisi

1000 mg NMPA mikrodalga kullanılarak 100 ml PBS içinde çözülür. % 1'lik NMPA çözeltisi hazırlanır. Yarı-buzlu lamlar NMPA (% 1) çözeltisi ile kaplanır. Lamlar oda sıcaklığında saklanır.

Nötralizasyon Tampon Çözeltisi

48,5 mg Tris 750 ml distile suda çözülüp pH 7,50'e ayarlanır. Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Oda sıcaklığında saklanır.

3.3.3. ICP-MS ile Ağır Metal Analizinde Kullanılan Çözeltiler

Tüm reaktifler analitik derecedeydi.

Tüm sulu çözeltiler, ultra saf su sistemi (Aqua Nova Hepta Distillated, öz direnç 0.34 MΩ-cm, Kristianstad, İsveç) kullanılarak elde edilen deiyonize su ile hazırlanmıştır.

Numunelerin seyreltmesinde Merck supra-pure gradından (Darmstadt, Almanya) HNO₃⁻ (%65) 1:20 oranıyla kullanılmıştır.

Analitik süreçlerde kullanılan tüm malzemeler bir gün boyunca HNO₃⁻ (%10 v/v) içinde ıslatılarak, dört kez ultra saf su ile durulanarak ve 40 °C'de etüvde kurutularak temizlenmiştir.

Hazırlanan tüm standart çözeltileri yüksek yoğunluklu polipropilen şişelerde saklanmıştır. Analitlerin stok standart çözeltileri (her biri 1 g/L) Merck'ten temin edilmiştir. Karışık standart solüsyonlar, stok standart solüsyonların % 2 HNO₃⁻ içinde istenen kalibrasyon aralıklarına seyreltilmesiyle taze olarak hazırlanmıştır.

3.4. Çalışma Grubunun Seçimi

Planlanan tez çalışmamızın gerçekleştirilebilmesi için Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak onay alınmıştır (etik kurul onay tarihi: 29 Haziran 2021, numara: GO 21/884) (Bkz. Ek 1.).

Çalışmaya katılan bireylere çalışmanın amacı hakkında ayrıntılı bilgi verilerek onam formları imzalatılmıştır. Çalışmaya katılan hasta ve kontrol grubundaki bireylere yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanımı, ilaç ve vitamin kullanımı, geçirdiği ve mevcut hastalıkları, kendileri ve/veya ailelerindeki böbrek işlevleri ile ilişkili hastalık öyküleri ile ilgili soruları içeren ayrıntılı bir anket formu uygulanmıştır (Bkz. Ek 3.).

Çalışma grubumuz, son dönem böbrek yetmezliği tanısı almış 43 hemodiyalize giren veya 31 hemolize girmeyen hastalardan oluşmaktadır. Kontrol grubu ise yaş, cinsiyet, yaşam tarzı, sigara ve alkol kullanım alışkanlıkları yönünden hasta grubuna benzer 40 sağlıklı gönüllülerden oluşmaktadır.

Araştırma grubunda yer alan son dönem böbrek yetmezliği tanısı almış hastalar Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji ve Acil Tıp kliniğinden başvuran hastalar arasından seçilmiştir. Diyalize giren SDBY hastaları haftada üç kez düzenli

olarak diyalize giriyordu.

Çalışmaya dâhil edilme ve çalışmadan çıkarılma kriterleri şu şekildedir;

Çalışmaya alma kriterleri: Son dönem böbrek yetmezliği tanısı KDIGO (Evre 4-5) tanımına göre nefroloji uzmanı tarafından konulmuştur. 18 yaş üstü gebe olmayan ve çalışmaya dâhil olmayı kabul eden hastalar kabul edilmiştir.

Çalışma Dışlama Kriterleri: Karaciğer fonksiyon bozukluğu olanlar, akut ve kronik enfeksiyonu olanlar, kalp yetmezliği olanlar, akut böbrek hastalığı olanlar, tiroid hastalığı olanlar, vaskülit öysü olanlar, bağ dokusu hastalığı olanlar, malignitesi olanlar, immünoşüpresif ajan kullananlar, radyoterapi veya kemoterapi tedavisi alanlar, ilaç kullanımı (statinler, antioksidan veya vitaminler) öyküsü olan bireyler çalışma dışı bırakılmıştır.

3.5. Çalışma Grubundan Biyolojik Örneklerin Alınması

Çalışmamızda biyolojik örnek olarak, her bir gönüllüden toplam 10 ml periferik kan örneği toplanmıştır. Diyaliz hastalarından kan örneği alma zamanlaması diyaliz işlemi bittikten sonraki 1 saat içindeydi.

Hemogram parametrelerinin analizi için, EDTA'lı tüplere 2 ml periferik kan örneği alınmıştır. Hemogramlar ve plazma biyokimyasal parametreleri hemen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya laboratuvarında ölçülmüştür.

Her bir gönüllüden 8 ml periferik kan örneği sodyum heparinli tüpe alınmıştır. Soğuk taşıma kabında ve ışıktan korunarak 6 saat içinde Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na ulaştırılmıştır.

DNA hasarının analizi için 1 ml heparinize kan örneği kullanılmıştır.

Oksidatif stres parametreleri (SOD, CAT, GPx, GSH, MDA, 8-OHdG,) ve ağır metal analizleri (ICP-MS iel analiz) için 7 ml heparinize kan örneği kullanılmıştır. Plazma örnekleri kısımlar halinde -20 °C'de dondurulmuştur ve analiz gününe kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.6. Hemogram Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Plazma örneklerinden tam kan sayımı Sysmex XN-2000 cihazı ile yapılmıştır. Beyaz kan hücresi (*White Blood Cell*, WBC), kırmızı kan hücresi (*Red Blood Cell*,

RBC), hemoglobin (*Hemoglobin*, Hg), trombosit (*platelet*, PLT), hematokrit (*Hematocrit*, HCT), ortalama korpüsküler hacim (*Mean Cell Volume*, MCV), ortalama korpüsküler hemoglobin (*Mean Cell Hemoglobin*, MCH), ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu (*Mean cell hemoglobin concentration*, MCHC), trombosit dağılım genişliği standart sapması (*RBC Distrubition Width Standard Deviation*, RDW-SD), kırmızı hücre dağılım genişliği (*Red Cell Distribution Width*, RDW-CV), trombosit dağılım genişliği (*Platelet Distribution Width*, PDW), ortalama trombosit hacmi (*Mean Platelet Volume*, MPV), nötrofiller, monositler, lenfositler, eozinofil, bazofiller seviyeleri, karaciğer fonksiyon parametreleri (AST, ALT) hematoloji otoanalizörü kullanılarak analiz edilmiştir. Örnekler duplike çalışılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

Birimleri ise şu şekildedir: WBC, PLT, için $10^3/\mu\text{l}$; RBC için $10^6/\mu\text{l}$; Hg ve MCHC için g/dl; MCV, RDW-SD, PDW ve MPV için femtolitre (fl); MCH için pikogram (pg); HCT, RDW-CV, nötrofiller, monositler, lenfositler, eozinofil, bazofiller için %.

3.7. Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Plazma örneklerinde karaciğer fonksiyon parametreleri (AST, ALT), glikoz, ürik asit, sodyum ve potasyum Roche Cobas C702 Chemistry Analyzer (Roche Diagnostics, Türkiye) kullanılarak analiz edildi. AST, ALT, glikoz ve ürik asit ölçümü kinetik enzimatik kolorimetrik esasa; sodyum ve potasyum ölçümü ise dolaylı ISE (iyon seçici elektrot) yöntemine dayanmaktadır.

Örnekler duplike çalışılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (aralık) olarak verilmiştir. Birimleri ise: AST ve ALT için IU/L, glukoz ve ürik asit için mg/dL, sodyum ve potasyum için mEq/L olarak kullanılmıştır.

3.8. Böbrek Fonksiyon Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Örneklerden üre düzeyleri Roche Cobas c702 cihazı ile üreaz ve glutamat dehidrojenaz içeren kinetik bir yöntem kullanarak tayin edilmiştir.

İlk basamakta üre, üreaz enzimi ile amonyum ve karbonata dönüştürülmektedir. İkinci reaksiyonda ise 2-oksoglutarat, amonyum ile birleşerek glutamat dehidrojenaz enzimi ile glutamata çevrilir. Reaksiyon kofaktörü olan NADH'daki azalma, üre

miktarı ile doğru orantılıdır ve 340 nm dalgaboyunda fotometrik olarak ölçülür. Yöntemin serumda lineer saptama aralığı 3.0-240 mg/dL (0.5-40 mmol/L)'dir.

Kreatinin ölçümleri; Roche Cobas c702 cihazı ile kinetik kolorimetrik Jaffe yöntemi ile yapılmıştır. Alkali çözeltide; kreatinin pikrat ile sarı-turuncumsu renk oluşturur. Boya oluşum hızı, örnekteki kreatinin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Yöntemin serumda lineer saptama aralığı 0.17-24.9 mg/dL (15-2200 µmol/L) iken; idrarda 4.2-622 mg/dL (375-55000 µmol/L)'dir.

3.9. Protein Miktar Tayini

Ölçülen oksidatif stres parametreleri, protein miktarına oranlanarak ifade edilmiştir. Protein düzeylerinin saptanması için Pierce™ BCA Protein Test Kiti (ThermoFisher Scientific) kullanılmıştır. Yöntemin esasını Smith Yöntemi oluşturur (236,237).

Thermo Scientific™ Pierce™ BCA Protein Test Kiti, toplam protein miktarının kolorimetrik olarak tespitine olanak sağlayan bisinkoninik asit (BCA) ve deterjan-uyumlu formülasyon içeren bir kittir (237). BCA stok çözeltisi, bikoninik asit, sodyum karbonat, sodyum bikarbonat, sodyum tartarat ve bakır (II) sülfat pentahidrat içerir ve oldukça baziktir (pH 11,25).

Bu yöntem, iki veya daha fazla peptid bağları taşıyan peptid veya proteinlerin alkali ortamda Cu^{+2} iyonunu Cu^{+1} 'e indirgemesi (Biüret reaksiyonu) ve bu indirgenmiş Cu^{+1} iyonların BCA ile mor-mavi renkli kompleks oluşturması ve oluşan bu rengin kolorimetrik olarak 562 nm'de ölçülmesi esasına dayanır. Rengin şiddeti protein yoğunluğu ile orantılıdır. EDTA gibi Cu^{+2} şelatlayıcı maddeler ölçüm sonuçlarına etki edebilir.

Protein konsantrasyonları genellikle sığır serum albümini (BSA) gibi yaygın bir proteinin standartlarına göre belirlenir. Bilinen konsantrasyonda bir dizi standart seri hazırlanır ve standart eğriye dayalı olarak her bir bilinmeyen konsantrasyonu belirlenir.

Sığır Serum Albumin standart çözeltileri (7,2-2000 µg/ml), kör (distile su) ve örneklerin 25'er µl'si üzerine 200 µl Çalışma Çözeltisi (BCA çözeltisi: Cu çözeltisi, 50:1 h/h) eklenmiştir.

Plaka mikropłaka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalanmıştır ve 37°C'de 30

dakika inkübe edilmiştir.

Plakanın optik dansitesi 562 nm'de spektrofotometrede okunarak standart doğru çizilmiş ve örneklerin protein içerikleri saptanmıştır.

3.10. Oksidatif Stres Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Plazma örneklerinde protein tayini yapıldıktan sonra oksidatif stres göstergelerinden SOD, CAT, GPx, GSH, MDA, 8-OHdG plazma düzeyleri ELISA test kitleri kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Birimleri ise şu şekildedir: SOD, CAT, GPx, 8-OHdG için ng/ml; GSH, MDA için nmol/ml.

3.10.1. SOD Enzim Düzeyinin Ölçümü

Yöntem temel olarak enzim aracılığıyla antikor-antijen kompleksinden oluşan ürünün belirlenmesi esasına dayanır. SOD-1'e özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara SOD-1 eklenir ve inkübasyon yapılır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş SOD-1 antikorları eklenir ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanır. Enzim işaretli antikor kompleksi oluşur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiliye asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilerek sarı renkli çözeltili oluşması sağlanır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan SOD enzim düzeyi arasında pozitif bir korelasyon vardır.

Yönteminin Uygulanışı

1. Stok standartın 1:1 dilüsyonları ile (80, 40, 20, 10, 5, 0 ng/ml) (6 adet) standart serisi hazırlanır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 µl numune ve sonra 10 µl SOD antikor ve 50 µl Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 µL seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilir (diğer işlemler aynıdır)).

5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikropilaka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kağıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır.
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılır.
16. SOD düzeyi ng/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

3.10.2. CAT Düzeyini Ölçümü

Özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara CAT eklenerek inkübe edilir. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş CAT antikorları eklenir ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilir ve sarı renkli çözelti oluşması sağlanır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan CAT enzim düzeyi arasında pozitif bir korelasyon vardır.

.Yönteminin Uygulanışı

1. Stok CAT çözeltisinin 1:1 dilüsyonları ile 200, 100, 50, 25, 12,5, 0 ng/ml (6 adet) standart serisi hazırlanır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 µl numune ve sonra 10 µl CAT antikor ve 50 µl Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 µL seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilir (diğer işlemler aynıdır)).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikrolaka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kâğıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.

10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür. .
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denkleminde uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılır.
16. CAT düzeyi ng/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

3.10.3. Glutasyon Peroksidaz Düzeyini Ölçümü

Glutasyon Peroksidaza özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara GPx eklenir ve inkübasyon yapılır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş GPx antikorları eklenir ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiliye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilir ve sarı renkli çözeltili oluşması sağlanır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan GPx enzim düzeyi arasında pozitif bir korelasyon vardır.

Yönteminin Uygulanışı

1. Stok GPx çözeltisinin 1:1 dilüsyonları ile 120, 60, 30, 15, 7,5, 0 ng/ml (6 adet)

standart serisi hazırlanır.

2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 µl numune ve sonra 10 µl GPx antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 µL seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilir (diğer işlemler aynıdır).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikroparka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kağıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon

denklemine uygulanmıştır.

15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılır
16. GPx düzeyi ng/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

3.10.4. Glutasyon Düzeyini Ölçümü

Glutatyona özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara GSH eklenir ve inkübasyon yapılır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş GSH antikorları eklenir ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilir ve sarı renkli çözelti oluşması sağlanır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan GSH konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon vardır.

Yönteminin Uygulanışı

1. Stok standartın 1:1 dilüsyonları ile 12, 6, 3, 1,5, 0,75, 0 nmol/ml (6 adet) standart serisi hazırlanır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 μ l standart ve 50 μ l Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 μ l numune ve sonra 10 μ l GSH antikor ve 50 μ l Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 μ L seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilir (diğer işlemler aynıdır)).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.

6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikropilaka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kâğıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denklemine uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılır.
16. GSH düzeyi nmol/ml olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

3.10.5. MDA Düzeyini Ölçümü

MDA'ye özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara MDA eklenir ve inkübasyon yapılır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş MDA antikorları eklenir ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilir ve sarı renkli çözelti oluşması sağlanır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan MDA konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon vardır.

Yönteminin Uygulanışı

1. Stok standartın 1:1 dilüsyonları ile 64, 32, 16, 8, 4, 0 nmol/ml (6 adet) standart serisi hazırlanır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 µl numune ve sonra 10 µl MDA antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 µL seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilir (diğer işlemler aynıdır)).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikrolaka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kâğıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe

edilmiştir.

10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denkleminde uygulanmıştır.
15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılır.
16. MDA düzeyi nmol/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

3.10.6. 8-OHdG Düzeyinin Ölçümü

8-OHdG'e özgül monoklonal antikor kaplı kuyucuklara 8-OHdG eklenir ve inkübasyon yapılır. Daha sonra biyotinle işaretlenmiş 8-OHdG antikorları eklenir ve immün kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilmesi sağlanır. Primer enzim işaretli antikor kompleksi oluşur. Yıkama ile bağlanmayan enzimler uzaklaştırılır. Kromojen çözelti A ve B eklenerek oluşan mavi renkli çözeltiliye bir asit çözeltisi reaksiyonun durdurulması amacı ile ilave edilir ve sarı renkli çözelti oluşması sağlanır. Oluşan renk şiddetinin absorbansı 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk şiddeti ile örneklerde bulunan 8-OHdG konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon vardır.

Yönteminin Uygulanışı

1. Stok standartın 1:1 dilüsyonları ile 64, 32, 16, 8, 4, 0 nmol/ml (6 adet) standart serisi hazırlanır.
2. Standart uygulanacak kuyucuklara 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenmiştir.
3. Örnek uygulanacak kuyucuklar için 40 µl numune ve sonra 10 µl 8-OHdG antikor ve 50 µl Streptavidin-HRP ilave edilmiştir.
4. Kör uygulama için 50 µL seyreltme çözeltisi eklenmiştir (sadece kromojen solüsyonu A ve B reaksiyon durdurma çözeltisine izin verilir (diğer işlemler aynıdır)).
5. Ekleme yapılırken kuyucukların iç yüzeyine dokunmaktan ve köpük oluşturmaktan kaçınılmıştır.
6. Daha sonra plaklar film ile kapatılmıştır ve mikroparka çalkalayıcı üzerinde hafifçe çalkalayarak 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda çözeltiler atılmıştır. Tüm kuyucuklara 350 µl 1X yıkama tamponu eklenmiştir. 1 ~ 2 dakika bekletildikten sonra çözeltiler atılmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kere tekrarlanmıştır.
8. Son yıkama basamağından sonra, kuyucukları boşaltılmıştır ve plakaya kâğıt havlu üzerine hafifçe vurarak fazla miktardaki yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır.
9. Her kuyuya kromojen solüsyonu A 50 µl, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklenmiştir. Hafifçe karıştırılıp, ışıktan uzakta 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
10. İnkübasyon sonunda reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa Durdurma Çözeltisi 50 µl eklenmiştir (mavi hemen sarıya dönüşür).
11. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içinde 450 nm dalga boyunda kuyucukların optik yoğunluğu (OD) ölçülmüştür.
12. Standart, kör ve numune çift olarak çalışılmıştır.
13. Standartların ve örneklerin ortalama absorbans değerleri hesaplanmıştır. 0 ng/ml konsantrasyondaki (kör) standartın ortalama absorbans değeri, kendisinden ve diğer standartlardan çıkarılmıştır
14. Standartların konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğri doğrusal regresyon denklemi hesaplanmıştır ve ardından ilgili numunenin

konsantrasyonunu hesaplamak için numunenin OD değerlerini regresyon denkleminde uygulanmıştır.

15. Numunelerin kantitatif analizinde simetrik sigmoidal kalibratörlerden elde edilen konsantrasyonları hesaplamak üzere Dört Parametre Lojistik eğrisi kullanılmıştır. Bu yöntem, ELISA'lar için veri analizinde yaygın olarak kullanılır.
16. 8-OHdG düzeyi nmol/ml olarak ifade edilmiştir.
17. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (aralık) olarak verilmiştir.

3.11. Tek Hücre Jel Elektroforez Yöntemi ile DNA Hasarının Belirlenmesi

1. DNA hasarının belirlenmesi için tek hücre jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır (224,229).
2. *Ficoll-hypaque* gradient santrifüj yöntemi ile periferik kan mononükleer hücreleri (*Peripheral Blood Mononuclear Cell*, PBMC) elde edilmiştir. Heparinli tüpe alınan 5 ml kan örneği, 5 ml PBS ile 1:1 oranında seyreltilmiştir. 2 ml Ficoll üzerine seyreltilmiş kan örneği pastör pipeti ile yavaşça yayılmıştır. Ficoll-kan karışımı oda sıcaklığında 2000 rpm'de 20 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonunda Ficoll üzerindeki interfazda ince bir tabaka halinde bulunan PBMC'ler pastör pipeti ile dikkatle toplanmıştır.
3. İzole edilen hücreler PBS ile iki kere yıkanmıştır. Yıkama işlemi için, izole edilen hücreler steril tüpe alınarak üzerine PBS eklenmiştir. 2300 rpm'de 10 dk süre ile santrifüje edilerek süpernatant atılmıştır. Yıkama işleminin ardından çöken kısımdaki hücreler *Neubauer* lamında sayıldıktan sonra PBS ile seyreltilerek hücre konsantrasyonları yaklaşık 2×10^5 hücre/ml olarak ayarlanmıştır. Hücre canlılığı tripan mavisi ile kontrol edilmiştir ve % 85'in üzerinde olduğu doğrulanmıştır.
4. $37 \pm 0,5$ °C'de eritilmiş 75 μ l % 1'lik LMPA, 50 μ l hücre süspansiyonu ile karıştırıldıktan sonra, daha önceden hazırlanan % 1'lik NMPA çözeltisine daldırılıp agar ile kaplanmış lamlara yayılmıştır ve üzerine lamel kapatılmıştır.
5. Lamlar, soğuk metal üzerinde 5 dakika bekletilerek ağarın katılaşması

sağlanmıştır. Ardından agar üzerindeki lamel zedelenmeden alınmıştır.

6. Lamlar, önceden hazırlanıp 4°C’de saklanan soğuk lizis çözeltisine daldırılarak en az 1 saat 4°C’de bekletilmiştir.
7. Lizis çözeltisinden çıkarıldıktan sonra lamlar süzülerek elektroforez için hazır hale getirilmiştir.
8. Elektroforez işlemi için tank soğuk elektroforez çözeltisi ile doldurulmuştur.
9. Lamlar agar yayılan kısımları üste gelecek şekilde elektroforez tankının içine yerleştirilerek akım uygulanmadan elektroforez kuvvetinin içerisinde 20 dakika bekletilmiştir.
10. Elektroforez 25volt ve 300 mA akım uygulayarak 20 dakika 4°C’de elektroforez uygulanmıştır.
11. Elektroforez işlemi bittikten sonra alınan lamlar 5 dakika distile suda, takiben 15 dakika nötralizasyon tampon çözeltisinde bekletilmiştir. Ardından lamlar sırası ile 5’er dakika % 50, % 75 ve % 98’lik etanol çözeltisinde tutulmuştur ve okuma öncesinde lamlar kurumasi için en az 1 gün bekletilmiştir.
12. Okuma sırasında kurutulmuş lamlar üzerine 35 µl 20 µg/ml EtBr çözeltisi ilave edilmiştir.
13. Her bir gönüllü için 2 lama uygulama yapılmıştır ve agaroz jeldeki DNA fragmanlarının elektroforetik göçünden sonra DNA hasarının boyutunu belirlemek için toplam 100 hücre 400x büyütme ile floresan mikroskopunda bilgisayarlı görüntüleme sistemi ile (Comet Analysis Software, version 4.0, Kinetic Imaging Ltd., Liverpool, İngiltere) değerlendirilmiştir.
14. DNA hasar derecesinde kuyruk yoğunluğu esas alınmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Tüm işlemler ek bir DNA hasarını önlemek amacı ile karanlıkta yapılmıştır.

3.12. ICP-MS Yöntemi

1. Plazma örneklerinde Al, As, Cd, Hg ve Pb miktar tayini İndüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS) (Thermo Scientific ICAP Qc Serisi (Bremen, Almanya) ile yapılmıştır. Analizler T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eczacılık Fakültesi laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.
2. Yöntemde kullanılan tüm malzemeler bir gün boyunca HNO₃⁻ (%10 v/v) içinde

ıslatılarak, dört kez ultra saf su ile durulanarak ve 40 °C'de etüvde kurutularak temizlenmiştir.

3. Örnekler (1 ml plazma örnekleri) analize kadar +4 °C'de kapaklı polipropilen tüplerde saklanmıştır..
4. Metal stok çözeltileri (her biri 1 g/L) Merck®'ten temin edilmiştir. Hazırlanan tüm standart çözeltileri yüksek yoğunluklu polipropilen şişelerde saklanmıştır.
5. Seri standart solüsyonlar, stok standart solüsyonların %2 HNO₃ içinde istenen kalibrasyon aralıklarına seyreltilmesiyle taze olarak hazırlanmıştır.
6. Hg analizinde kullanılan standart çözeltiler, numune çözeltileri ve yıkama çözeltisi 200 ppb Au standardı olacak şekilde ayarlanmıştır.
7. Her bir numune %65'lik Suprapure Nitrik asit ile hazırlanan %2 Nitrik asit ile 1:20 oranında seyreltikten sonra doğrudan cihaza uygulanmıştır. Cihaz ayarları aşağıdaki gibidir. Metal analizinde operasyonel parametreler Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Metal analizinde operasyonel parametreler

Parametre	Değer
Peristaltik pompa hızı	40 rpm
Pumpa tubing	Örnek taşınması için turuncu/yeşil tubing
Nebulizer	PFA-ST
Interfaz konları	Nikel
RF Güç	1550 W
Soğutma gaz akışı	14 L/dk
Yardımcı gaz akışı	0.8 L/dk
Nebulizer gaz akışı	0.97 L/dk
Dwell Zamanı	0.001 - 0.02 ms
Ölçüm tekrarı	3

ICP-MS verilerin analizinde Qtegra™ Intelligent Scientific Data Solution™ (ISDS) (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Almanya) Software programı kullanılmıştır.

3.13. İstatistiksel Yöntemler

Verilerin analizinde *SPSS for Windows 20.0* bilgisayar programı kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmiştir. Varyansın homojenliği ise Levene testi ile araştırılmıştır. Sürekli değişkenler için veriler ortalama \pm standart sapma ve kategorik değişkenler ise vaka sayısı (n) ve yüzdesi (%) olarak ifade edilmiştir.

Normal dağılıma sahip gruplar arasındaki farklılıklar ANOVA (*One-Way Variance Analysis*) testi ile değerlendirilmiştir ve grup farklılıklarının post-hoc analizi LSD (*Least Significant Difference*) testi ile gerçekleştirilmiştir.

Normal dağılım göstermeyen gruplar arasındaki farklılıklar iki grup için Mann-Whitney U ve ikiden fazla grup için Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir.

Doğrusal ilişkinin büyüklüğü Pearson korelasyon analizi ile hesaplanmıştır. Parametreleri belirlemek için çoklu doğrusal regresyon analizi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler için z-testi uygulanmıştır. 0,05'ten küçük p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Bulgular

Çalışma grubumuz aynı coğrafi bölgede yaşayan, benzer yaşam koşullarına sahip ve aynı hastaneye başvuran takipli hastalardan seçilmiştir. Çalışma grubumuz diyalize giren ve girmeyen SDBY hastaları ile sağlıklı kontrol grubu bireylerden oluşmaktadır.

Diyalize giren hastaların (n=43), diyalize girmeyen hastaların (n=31) ve kontrol grubundaki (n=41) her bir bireye ait yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ), sigara ve alkol kullanma alışkanlığı, hastalık süresi ve var ise diabetes mellitus, hipertansiyon ve kalp yetmezliğine ilişkin bulgular hasta takip formuna kaydedilmiş ve Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Diyalize giren SDBY hastaları, diyalize girmeyen SDBY hastaları ve kontrol grubunun yaş ortalamaları sırasıyla 59,43±16,88 (32-83) yıl, 67,55±17,69 (37-87) yıl ve 61,73±18,06 (33-87) yıldır. Diyalize giren SDBY hastaları, diyalize girmeyen SDBY hastaları ve kontrol grubunun ortalama VKİ sırasıyla 2,46 ± 0,48 (0,53-3,29), 2,79 ± 0,52 (1,85-4,30) ve 2,74 ± 0,53 (1,76-4,10) idi. Erkek oranı diyalize giren SDBY hastalarında, diyalize girmeyen SDBY hastalarında ve kontrol grubunda sırasıyla %62,79, %45,16 ve %51,22'dir. Hasta ve sağlıklı kontroller arasında yaş, VKİ ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Günlük ortalama sigara tüketiminin diyalize giren SDBY hastaları, diyalize girmeyen SDBY hastaları ve kontrol grubunun sırasıyla 2,09±6,00 (10-20) sigara/gün (n=5, %11,53), 3,33±7,58 (20-20) sigara/gün (n=5, %16,13) ve 2,50±8,09 (20-40) sigara/gün (n=4, %12,43) olduğu ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin tamamı hiç alkol kullanmadıklarını ifade etmiştir. (Tablo 4.1).

Diyalize giren SDBH hastalarında ve diyaliz almayan SDBY hastalarında böbrek hastalığı süresi sırasıyla 8,16±3,69 (2-16) yıl ve 5,07±1,70 (2-8) yıl idi (Tablo 4.1).

Diyalize giren SDBY hastalarının %53,4'ünde hipertansiyon, %74,5'inde diyabet, %93,03'ünde kalp yetmezliği ek hastalık olarak mevcuttur. Diyaliz almayan

SDBY hastalarının %48,4'ünde diyabet, %66,5'inde hipertansiyon, %90,33'ünde kalp yetmezliği ek hastalık olarak bulunmaktadır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Çalışma gruplarının özellikleri.

	Diyalize giren hastalar (n=43)	Diyalize girmeyen hastalar (n=31)	Sağlıklı kontroller (n=41)
Yaş (yıl)	59,43±16,88 (32-83)	67,55±17,69 (37-87)	61,73±18,06 (33-87)
Cinsiyet [n (%)]			
Erkek	27 (%62,79)	14(%45,16)	21(%51,22)
Kadın	16 (%37,21)	17 (%54,83)	19 (%48,78)
Vücut kütle indeksi (VKI) (kg/m ²)	2,46 ± 0,48 (0,53-3,29)	2,79 ± 0,52 (1,85-4,30)	2,74± 0,53 (1,76-4,10)
Sigara içme durumu [n (%)]			
Sigara içmeyen	38 (%88,37)	26 (%83,87)	37 (%87,57)
Sigara içen	5 (%11,53)	5 (%16,13)	4 (%12,43)
Sigara/gün*	2,09±6,00 (10-20)	3,33± 7,58 (20-20)	2,50±8,09 (20-40)
Alkol alımı [n(%)]			
Hayır	43 (%100)	31 (%100)	41 (%100)
Evet	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
Diabetes Mellitus [n(%)]			-
Hayır	20 (%46,6)	16 (%51,6)	
Evet	23 (%53,4)	15 (%48,4)	
Hipertansiyon [n(%)]			-
Hayır	11 (%25,5)	11 (%35,5)	
Evet	32(%74,5)	20 (%66,5)	
Kalp yetmezliği [n(%)]			-
Hayır	3 (6,97%)	3 (9,67%)	
Evet	40 (93,03%)	28 (90,33%)	
Hastalık süresi (yıl)	8,16±3,69 (2-16)	5,07±1,70 (2-18)	0

* Tüm grupta en az 1 yıl sigara içen bireyler sigara içen olarak kabul edildi. n: birey sayısı. Değerler ortalama ± standart sapma (min-maks) olarak verilmiştir. ^ap<0,05, diyalize giren SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır; ^bp<0,05, diyalize girmeyen SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır, ^cp<0,05, diyalize giren SDBY hastaları diyalize girmeyen SDBY hastaları ile karşılaştırılmıştır.

4.2. Hemogram ve Biyokimyasal Sonuçlara İlişkin Bulgular

Çalışma gruplarının tam kan sayımı parametrelerine ilişkin bulgular Tablo 4.2'de verilmiştir. RBC, Hb ve HCT değerleri diyalize giren son dönem böbrek hastalarında en düşük iken, kontrol grubunda en yüksektir. RBC düzeyi diyalize giren hasta grubunda $3,51 \pm 0,63$ (2,23-4,78) iken, diyalize girmeyen hasta grubunda $3,92 \pm 0,57$ (2,75-5,31) ve kontrol grubunda ise $4,41 \pm 0,79$ (2,45-6,10)'dur. Hb değerleri diyalize giren hasta grubunda $10,43 \pm 1,84$ (6,20-14,60) iken diyalize girmeyen hasta grubunda $11,40 \pm 1,53$ (8,20-16,20) ve kontrol grubunda ise $12,83 \pm 2,75$ (3,80-18,00) dir. HCT değerleri de diyalize giren hastalarda $31,68 \pm 5,57$ (18,10-43,20) iken diyalize girmeyen hastalarda $34,40 \pm 4,90$ (24,70-49,60), kontrol grubunda $38,99 \pm 6,28$ (22,90-51,80) dir. Sağlıklı kontrollere göre karşılaştırıldığında, diyalize giren SDBY hastalarında RBC (1,25 kat), Hb (1,23 kat), HCT (1,23 kat), LYM (1,54 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarında RBC değerleri (1,12), Hb (1,12 kat), HCT (1,13 kat) anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Bununla birlikte diyalize giren SDBY hastaları ile diyalize girmeyen hastalar arasında tüm hemogram parametrelerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Diğer hemogram değerleri: WBC, PLT, MCV, MCH, MCHC, RDW-SD, RDW-CV, MPV, NEU, MO, EOS ve BASO, açısından çalışma grupları arasında fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Tüm çalışma gruplarının biyokimyasal parametrelerine ilişkin bulgular Tablo 4.3'de verilmiştir. AST değerlerinde çalışma grupları arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Diyalize giren SDBY hastalarında ALT düzeyleri (1,83 kat) sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,05$), ancak diyalize giren SDBY hastaları ile diyalize girmeyen SDBY hastalar arasında ve diyalize girmeyen SDBY hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında ALT düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 4.3).

Çalışma grupları arasında glikoz, sodyum (Na) ve potasyum (K) düzeyleri açısından fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.2. Çalışma gruplarının hemogram sonuçları

Parametreler	Diyalize giren SDBY hastaları (n=43)	Diyalize girmeyen SDBY hastaları (n=31)	Sağlıklı kontroller (n=41)	p ^a	p ^b	p ^c
WBC (10 ³ /μl)	9,56±4,92 (3,40-28,50)	8,75±4,33 (3,80-26,20)	8,65±7,38 (1,30-49,50)	0,486	0,763	0,726
RBC (10 ⁶ /μl)	3,52±0,63 (2,23-4,78)	3,95±0,57 (2,75-5,31)	4,41±0,80 (2,45-6,10)	□0,001*	0,004*	0,112
Hb (g/dl)	10,44±1,84 (6,20-14,60)	11,44±1,56 (8,20-16,20)	12,83±2,86 (3,30-18,0)	□0,001*	0,007*	0,148
PLT (10 ³ /μl)	208,05±76,38 (95-368)	227,40±65,80 (39-345)	234,66±70,52 (108-366)	0,109	0,455	0,447
HCT (%)	31,68±5,58 (18,10-43,20)	34,48±4,97 (24,70-49,60)	39,00±6,29 (22,90-51,80)	□0,001*	0,001*	0,144
MCV (fl)	89,64±14,65 (74,9-100,9)	87,62±4,99 (76,80-100,60)	88,81±4,97 (78,20-97,60)	0,246	0,966	0,255
MCH (pg)	29,56±1,84 (23,40-33,80)	29,00±2,18 (24,40-32,60)	29,07±4,69 (3,80-33,70)	0,491	0,945	0,562
MCHC (g/dl)	33,00±1,06 (31,10-36,50)	32,51±2,69 (23,20-35,10)	33,52±1,03 (31,00-35,70)	0,166	0,113	0,207
RDW-SD (fl)	49,08±15,33 (39,40-419)	46,98±6,60 (39,40-66,90)	46,41±11,93 (0,00-84,0)	0,112	0,786	0,216
RDW-CV (%)	10,90±6,96 (12,08-18,80)	15,23±2,36 (12,70-22,10)	14,82±2,85 (11,70-25,40)	0,683	0,438	0,685
MPV (fl)	8,95±1,13 (6,80-11,30)	9,05±0,92 (7,00-11,00)	9,07±1,27 (6,10-11,40)	0,638	0,970	0,629
NEU (%)	63,81±24,46 (3,22-96,60)	70,02±11,47 (52,50-95,80)	65,62±17,78 (5,45-91,50)	0,638	0,970	0,629
MO (%)	6,65±3,77 (0,32-14,00)	7,68±2,29 (2,90-12,20)	6,76±2,34 (0,50-13,00)	0,858	0,226	0,160
LYM (%)	15,06±10,95 (0,80-43,50)	19,35±9,51 (0,80-36,20)	23,12±13,28 (2,23-53,20)	0,002*	0,185	0,108
EOS (%)	2,18±2,08 (0,01-7,60)	2,45±2,01 (0,10-7,60)	1,53±1,42 (0,00-6,60)	0,123	0,055	0,610
BASO (%)	0,59±0,40 (0,02-1,80)	0,64±0,33 (0,10-1,50)	0,56±0,34 (0,03-1,50)	0,708	0,274	0,443

Değerler ortalama ± standart sapma (min-maks) olarak verilmiştir. BASO, Bazofil; EOS, Eozinofil; HCT, SDBY, son dönem böbrek yetmezliği hastalığı. hematokrit; Hb, Hemoglobulin; LYM, Lenfosit; MCH, Ortalama Corpuscular Hemoglobin; MCHC, Ortalama Corpusküler Hemoglobin Konsantrasyonu; MCV, Ortalama Parçacık Hacmi; MO, Monosit; MPV, Ortalama Trombosit Hacmi; NEU, Nötrofil; PLT, Trombosit; RBC, Kırmızı Kan Hücresi; RDW-SD, Kırmızı Hücre Dağıtım Genişliği-Standart Sapma; WBC, Beyaz Kan Hücresi. ^ap<0,05, diyalize giren SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır; ^bp<0,05, diyalize girmeyen SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır, ^cp<0,05, diyalize giren SDBY hastaları diyalize girmeyen SDBY hastaları ile karşılaştırılmıştır. *, istatistiksel anlamlıdır.

Tablo 4.3. Çalışma gruplarının biyokimyasal parametreleri.

Parametreler	Diyalize giren SDBY hastaları (n=43)	Diyalize girmeyen SDBY hastaları (n=31)	Sağlıklı kontroller (n=41)	p ^a	p ^b	p ^c
AST (U/l)	22,85±19,40 (7-107)	25,52±19,99 (6-287)	25,38±14,42 (4-74)	0,719	0,245	0,127
ALT (U/l)	15,71±10,98 (4-64)	19,97±10,81 (5-57)	28,76±39,61 (5-192)	0,022*	0,221	0,363
Glukoz (mg/dl)	127,59±74,40 (52-392)	136,11±71,76 (53-321)	129,00±85,88 (71-477)	0,768	0,941	0,867
Sodyum (Na) (mmol/l)	136,14±5,08 (117-149)	137,70±5,24 (126-143)	136,89±37,58 (129-146)	0,332	0,175	0,633
Potasyum (K) (mmol/l)	4,90±1,03 (3,83-6,23)	4,62±0,69 (3,08-6,09)	4,25±0,89 (3,46-5,80)	0,159	0,060	0,558

Değerler ortalama ± standart sapma (min-maks) olarak verilmiştir. ALT, Alanin aminotransferaz; AST, Aspartat aminotransferaz. ^ap<0,05, diyalize giren SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır; ^bp<0,05, diyalize girmeyen SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır, ^cp<0,05, diyalize giren SDBY hastaları diyalize girmeyen SDBY hastaları ile karşılaştırılmıştır. *, istatistiksel anlamlıdır.

4.3. Böbrek Fonksiyon Parametrelerine İlişkin Bulgular

Çalışma gruplarının böbrek fonksiyon parametrelerine ilişkin bulguları Tablo 4.4'de verilmiştir. Serum kreatinin düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, diyalize giren SDBY hastalarında (4,8 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarında (1,87 kat) anlamlı olarak yüksektir. Ayrıca, diyalize giren SDBY hastaların kreatinin düzeyi (2,34 kat) diyalize girmeyen SDBY hastalarına göre anlamlı olarak daha yüksektir (p<0,05) (Tablo 4.4).

Üre düzeyleri kontrol gruba karşılaştırıldığında, diyalize giren SDBY hastalarında (2,37 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarında (1,93 kat) anlamlı olarak yüksektir. Bununla birlikte, diyalize giren SDBY hastaların üre düzeyi (1,23 kat) diyalize girmeyen SDBY hastalarına göre anlamlı olarak daha yüksektir (p<0,05) (Tablo 4.4).

Kontrol gruba karşılaştırıldığında, GFR değerleri diyalize giren SDBY hastalarında (0.18 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarında (0.41 kat) anlamlı

olarak düşüktür. Bununla birlikte, diyalize giren SDBY hastaların GFR değeri (0.43 kat) diyalize girmeyen SDBY hastalarına göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Çalışma gruplarının böbrek fonksiyon parametreleri.

Parametreler	Diyalize giren SDBY hastaları (n=43)	Diyalize girmeyen SDBY hastaları (n=31)	Sağlıklı kontroller (n=41)	p ^a	p ^b	p ^c
Kreatinin (mg/dl)	6,36±3,60 (0,58-15,30)	2,70±1,60 (0,76-7,66)	1,44±1,46 (0,53-8,81)	□0,001 *	0,049*	□0,001 *
Ure (mg/dl)	120,62±48,70 (32,0-225,0)	98,00±51,18 (31,0-215,0)	50,82±36,76 (21,0-205,0)	□0,001 *	□0,001 *	0,023*
GFR (ml/min/1,73 m ²)**	12,29±10,90 (4,0-52,0)	28,67±13,86 (6,0-80,0)	69,50±31,07 (5,58-136,0)	□0,001 *	□0,001 *	0,001*

Değerler ortalama ± standart sapma (min-maks) olarak verilmiştir. ^a $p<0,05$, diyalize giren SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır; ^b $p<0,05$, diyalize girmeyen SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır, ^c $p<0,05$, diyalize giren SDBY hastaları diyalize girmeyen SDBY hastaları ile karşılaştırılmıştır; *, istatistiksel anlamlıdır. **, Tahmini glomerüler filtrasyon hızı (GFR), yaş, cinsiyet, etnik köken ve serum kreatininini içeren 4 değişkenli Böbrek Hastalığında Diyet Modifikasyonu (MDRD) denklemi kullanılarak hesaplandı (238,239).

4.4. Ağır Metal Düzeylerine İlişkin Bulgular

Çalışma gruplarının ağır metal düzeylerine ilişkin bulguları Tablo 4.5'te verilmiştir.

Sağlıklı kontrollerin Al düzeyleri tespit sınır değerinin altında bulunmuştur, ancak diyalize giren SDBY hastalarının %47,8'inde (n=11) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarının %3,57'sinde (n=1) Al düzeyleri sırasıyla 3,58±0,72 ppm ve 3,80 ppm olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen Al düzeyleri hasta gruplarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p<0.05$), hasta grupları arasında Al düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4.5).

Al düzeyleri ve GFR değerleri arasında güçlü bir korelasyon yoktur. Diyaliz alan ve almayan tüm hastalar dahil edildiğinde Al düzeyleri ile GFR değerleri arasında orta derecede negatif korelasyon bulunmuştur ($r=-0,331$). Hasta grupları ile GFR

arasında ayrı ayrı korelasyon analizi yapıldığında, diyalize girmeyen hastaların sadece Al düzeyleri ile GFR arasında orta derecede anlamlı negatif korelasyon bulundu ($r = -0,495$). Hasta grubunda Al düzeyleri ile GFR arasındaki negatif korelasyonun diyalize girmeyen hasta grubundan kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Tablo 4.5. Çalışma gruplarının ağır metal düzeyleri.

Parametreler	Diyalize giren SDBY hastaları	Diyalize girmeyen SDBY hastaları	Sağlıklı kontroller	p ^a	p ^b	p ^c
Alüminyum (Al) (ppb)	n=11/23 (%47,8) 3,58±0,72 (2,94-5,50)	n=1/28 (%3,57) 3,80 (3,80-3,80)	n=0/32 (%0,0) 0 ND	-	-	
Kadmiyum (Cd) (ppb)	n=17/23 (%73,9) 8,07±15,76 (0,05-49,36)	n=21/28 (%75,0) 0,67±0,98 (0,05-4,25)	n=17/32 (%53,1) 0,16±0,12 (0,05-0,45)	0,007*	0,851	0,049*
Kurşun (Pb) (ppb)	n=10/23 (%43,5) 13,57±9,03 (3,34-35,29)	n=11/28 (%39,3) 20,41±15,11 (5,67-52,25)	n=1/32 (%3,12) 0,38 (0,38-0,38)	□0,001*	0,780	0,225
Arsenik (As) (ppb)	n=23/23 (%100) 4,35±0,93 (2,85-6,35)	n=26/28 (%92,9) 3,86±1,67 (2,19-10,45)	n=32/32 (%100) 2,35±0,78 (1,23-5,46)	□0,001*	□0,001*	0,132
Cıva (Hg) (ppb)	ND	ND	ND	-	-	-

Değerler ortalama ± standart sapma (min-maks) olarak verilmiştir. ^ap<0,05, diyalize giren SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır; ^bp<0,05, diyalize girmeyen SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır, ^cp<0,05, diyalize giren SDBY hastaları diyalize girmeyen SDBY hastaları ile karşılaştırılmıştır. *, istatistiksel anlamlıdır. ND: non- detectable, n=number of samples.

Kadmiyum düzeyleri diyalize giren hastaların %73,9'unda (n=17) 8,07±15,76 (0,05-49,36) ppm, diyalize girmeyen hastaların %75,0'inde (n=21) 0,67±0,98 (0,05-4,25) ppm ve sağlıklı kontrol grubunda ise %53,1'inde (n=17) 0,16±0,12 (0,05-0,45) ppm olarak tespit edilmiştir.

Diyaliz alan SDBY hastalarında Cd düzeyi, diyaliz almayan SDBY hastalarına (12,14 kat) ve sağlıklı kontrol grubuna (50,43 kat) göre anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$). Diyaliz tedavisi görmeyen SDBY hastaları ile sağlıklı kontroller arasında Cd düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Cd düzeyleri ile GFR değerleri arasında güçlü bir korelasyon yoktur. Diyalize giren hastaların Cd düzeyleri ile GFR'si arasında çok düşük negatif korelasyon ($r=-0,06$), diyalize girmeyen hastaların Cd düzeyleri ile GFR'si arasında ise düşük negatif korelasyon bulunmuştur ($r=-0,16$). Diyaliz alan ve almayan tüm hastalar dahil edildiğinde Cd düzeyleri ile GFR değerleri arasında düşük düzeyde negatif korelasyon bulunmuştur ($r=-0,19$).

Kurşun düzeyleri diyalize giren hastaların %43,5'inde ($n=10$) $13,57\pm 9,03$ (3,34-35,29) ppm, diyalize girmeyen hastaların %39,3'ünde ($n=11$) $20,41\pm 15,11$ (5,67-52,25) ppm ve sağlıklı kontrol grubun %3,12'sinde ($n=1$) ise 0,38 ppm olarak tespit edilmiştir. Sağlıklı kontrollere göre Pb düzeyleri diyalize giren SDBY hastalarında (35,71 kat) ve diyaliz almayan SDBY hastalarında (53,71 kat) anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$). Diyalize giren SDBY hastaları ile diyalize girmeyen SDBY hastaları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Pb düzeyleri ile GFR değerleri arasında güçlü bir korelasyon yoktur. Diyalize giren hastaların Pb düzeyleri ile GFR'si arasında çok düşük negatif korelasyon ($r=-0,02$), diyalize girmeyen hastaların Pb düzeyleri ile GFR'si arasında ise pozitif yönde düşük korelasyon bulunmuştur ($r=0,22$). Diyaliz alan ve almayan tüm hastalar dahil edildiğinde Pb düzeyleri ile GFR değerleri arasında düşük düzeyde negatif korelasyon bulunmuştur ($r=-0,19$).

Arsenik düzeyleri diyalize giren hastaların %100'ünde ($n=23$) $4,35\pm 0,93$ (2,85-6,35) ppm, diyalize girmeyen hastaların %92,9'unda ($n=26$) $3,86\pm 1,67$ (2,19-10,45) ppm ve sağlıklı kontrol grubun %100'ünde ($n=32$) ise $2,35\pm 0,78$ (1,23-5,46) ppm olarak saptanmıştır. Sağlıklı kontrol grubuna göre As düzeyleri diyalize giren SDBY hastalarında (1,85 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarında (1,64 kat) anlamlı derecede yüksektir ($p<0,05$). Diyalize giren SDBY hastaları ile diyalize girmeyen SDBY hastaları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). As düzeyleri ile GFR arasında güçlü bir korelasyon yoktur. Diyalize giren hastaların As düzeyleri ile GFR değerleri arasında orta derecede pozitif korelasyon ($r=0,42$), diyalize girmeyen hastaların As düzeyleri ile GFR değerleri arasında ise düşük pozitif korelasyon

($r=0,10$) bulunmuştur. Diyaliz alan ve almayan tüm hastalar dahil edildiğinde As düzeyleri ile GFR değerleri arasında çok düşük negatif korelasyon saptanmıştır ($r=0,01$).

Çalışma gruplarına ait örneklerde Hg düzeyleri tespit limitlerinin altında olduğundan gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

4.5. Oksidatif Stres Parametrelere İlişkin Bulgular

Çalışma grubunun oksidatif stres göstergeleri olan SOD, CAT, GPx, GSH, MDA ve 8-OHdG düzeyleri Tablo 4.6’da verilmiştir.

Diyalizdeki SDBY hastalarının (3,15 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarının (1,66 kat) SOD düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diyalize giren SDBY hastalarının SOD düzeyleri (1,90 kat), diyalize girmeyen SDBY hastalarına göre anlamlı derecede yüksek belirlenmiştir ($p<0,05$).

Diyalizdeki SDBY hastalarının (1,36 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarının (1,49 kat) CAT düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diyalize giren SDBY hastaları ile diyalize girmeyen SDBY hastaları arasında CAT düzeyleri açısından fark bulunmamıştır ($p<0,05$).

Diyalizdeki SDBY hastalarının (1,41 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarının (1,46 kat) GPx düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diyalize giren SDBY hastaları ile diyalize girmeyen SDBY hastaları arasında GPx düzeyleri açısından fark bulunmamıştır ($p<0,05$).

Diyalizdeki SDBY hastalarının (3,13 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarının (2,33 kat) GSH düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diyalize giren SDBY hastaları ile diyalize girmeyen SDBY hastaları arasında GSH düzeyleri açısından fark bulunmamıştır ($p<0,05$).

Diyalizdeki SDBY hastalarının (2,86 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarının (1,83 kat) MDA düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diyalize giren SDBY hastalarının MDA düzeyleri (1,56 kat), diyalize girmeyen SDBY hastalarına göre anlamlı derecede yüksek belirlenmiştir ($p<0,05$).

Diyalizdeki SDBY hastalarının (4,09 kat) ve diyalize girmeyen SDBY hastalarının (2,06 kat) 8-OHdG düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diyalize giren SDBY hastalarının 8-OHdG düzeyleri (1,98 kat), diyalize girmeyen SDBY hastalarına göre anlamlı derecede yüksek belirlenmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.6. Çalışma gruplarının oksidatif stres parametreleri.

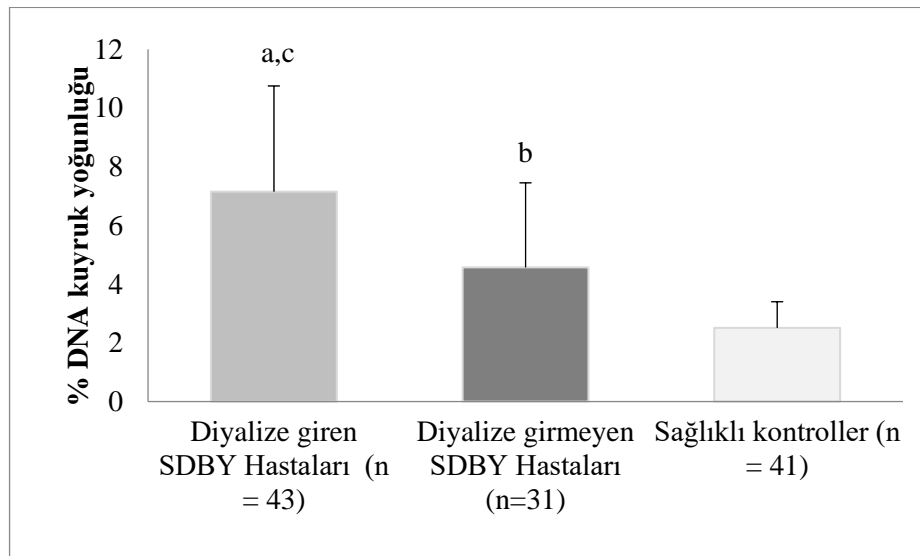
Parametreler	Diyalize giren SDBY hastaları (n=43)	Diyalize girmeyen SDBY hastaları (n=31)	Sağlıklı kontroller (n=41)	p ^a	p ^b	p ^c
SOD (ng/ml)	39,14±42,02 (2,57-158,60)	20,59±15,61 (6,89-68,27)	12,44±6,36 (4,20-28,93)	□0,001 *	0,050*	0,011*
CAT (ng/ml)	34,54±20,15 (13,83-106,80)	37,76±26,91 (18,04-151,10)	25,40±7,88 (18,04-151,10)	0,046*	0,021*	0,530
GPx (ng/ml)	55,80±33,31 (19,93-136,30)	57,87±21,14 (12,47-124,0)	39,62±12,40 (10,70-60,51)	0,010*	0,007*	0,746
GSH (nmol/l)	1,54±0,86 (0,14-3,52)	2,07±0,77 (1,01-3,84)	4,83±3,60 (1,60-15,51)	□0,001 *	0,011*	0,355
MDA (nmol/l)	32,97±25,97 (9,15-90,80)	21,11±10,57 (9,15-58,04)	11,49±6,05 (1,17-21,09)	□0,001 *	0,041*	0,010*
8-OHdG (ng/ml)	30,45±27,64 (8,41-98,20)	15,36±12,60 (6,99-71,29)	7,43±3,01 (0,75-14,94)	□0,001 *	0,048*	0,002*

Değerler ortalama ± standart sapma (min-maks) olarak verilmiştir. SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; GPx, glutathione peroxidase; GSH, glutathione; MDA, malondialdehide; 8-OHdG: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. ^a $p<0,05$, diyalize giren SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır; ^b $p<0,05$, diyalize girmeyen SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır, ^c $p<0,05$, diyalize giren SDBY hastaları diyalize girmeyen SDBY hastaları ile karşılaştırılmıştır. *, istatistiksel anlamlıdır.

4.6. Tek Hücre Jel Elektroforez Yöntemiyle DNA Hasarına İlişkin Bulgular

Diyalize giren ve girmeyen son dönem böbrek yetmezliği hastalarının ve kontrollerinin periferik lenfositlerindeki DNA hasar dereceleri, % DNA kuyruk yoğunluğu olarak verilmiştir. Çalışma gruplarının DNA hasar dereceleri Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Diyalize giren ve girmeyen SDBY hastalarında ve kontrol grubunda DNA hasar düzeyleri sırasıyla 7.15 ± 3.60 (2.30-16.61), 4.57 ± 2.88 (1.19-13.22) ve 2.51 ± 0.89 (0.81-4.91)’dur. DNA hasarı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, diyalize giren ve girmeyen tüm SDBY hastalarında anlamlı derecede yüksek belirlenmiştir; ayrıca diyalizdeki SDBY hastalarında bu hasar daha dramatik bir şekilde artmıştır ($p < 0.05$).

Diyalizdeki SDBY hastalarında ve diyalize girmeyen SDBY hastalarında DNA kuyruk yoğunluğu sağlıklı kontrollere göre sırasıyla 2,85 kat ve 1,82 kat daha yüksek belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 4.1). Diyalizdeki SDBY hastalarında DNA kuyruk yoğunluğu diyalize girmeyen SDBY hastalarına göre 1,56 kat daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Çalışma gruplarının lenfositlerindeki DNA hasarı.

DNA hasarı % DNA kuyruk yoğunluğu olarak ifade edildi. Değerler ortalama \pm standart sapma (min-maks) olarak verilmiştir. ^a $p < 0,05$, diyalize giren SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır; ^b $p < 0,05$, diyalize girmeyen SDBY hastaları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır, ^c $p < 0,05$, diyalize giren SDBY hastaları diyalize girmeyen SDBY hastaları ile karşılaştırılmıştır.

4.7. Böbrek Hastalığı ve Diyaliz Süresine İlişkin Bulgular

Son dönem böbrek yetmezliği hastaları hastalık sürelerine göre (kısa:2-5 yıl, orta:6-9 yıl ve uzun:10-16 yıl) gruplandırılarak ağır metal düzeyleri, oksidatif stres ve DNA hasarı parametreleri ile ilişkilerine yönelik bulgular Tablo 4.7’de verilmiştir.

Uzun süreli hastaların Al ve Cd düzeyleri kısa süreli hastalara göre anlamlı düzeyde (sırasıyla 1,20 kat ve 7,66 kat) yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Kısa ve orta süreli hastalar ile orta ve uzun süreli hastalar arasında Al düzeyleri açısından fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Tüm gruplar arasında Pb ve As düzeyleri açısından fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.7).

Uzun süreli hastaların MDA düzeyleri kısa ve orta süreli hastalara göre anlamlı derecede yüksek (sırasıyla 1,56 kat ve 1,57 kat) ($p<0,05$) olup, kısa ve orta süreli hastalar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Uzun süreli hastaların 8-OHdG düzeyleri kısa ve orta süreli hastalara göre anlamlı derecede yüksek (sırasıyla 1,84 kat ve 1,64 kat) ($p<0,05$) olup, kısa ve orta süreli hastalar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p<0,05$).

Tüm gruplar arasında SOD, CAT, GPx, GSH düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.7).

Uzun süreli böbrek hastalarının lenfositlerindeki DNA hasarı kısa ve orta süreli hastalara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla 1,48 kat ve 1,52 kat) ($p<0,05$). Kısa ve orta süreli hastalar arasında DNA hasarı açısından fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.7).

Hastalık süresi ile Al düzeyleri arasında güçlü pozitif ilişki ($r=0,52$) tespit edilmiştir. Hastalık süresi ile Cd düzeyleri ($r=0,45$) ve DNA hasarı ($r=0,31$) arasında orta pozitif ilişki bulunmuştur. Hastalık süresi ile diğer paramaterler arasında ise (SOD, $r=0,04$; CAT, $r=0,05$; Gpx, $r=0,07$; GSH, $r=-0,17$, MDA, $r=0,12$; 8-OHdG, $r=0,14$; Pb, $r=-0,14$; As, $r=0,25$) zayıf ya da çok zayıf ilişki ($r=0,29$) belirlenmiştir

Diyaliz süresi ile Al ($r=0,48$), Cd ($r=0,39$), SOD ($r=0,33$), GSH ($r=0,38$), 8-OHdG ($r=0,40$) ve DNA hasar ($r=0,36$) düzeyleri arasında orta pozitif ilişki ve diyaliz süresi ile GSH düzeyleri arasında orta negatif ilişki ($r=-0,38$) tespit edilmiştir. Diyaliz süresi ile diğer parametreler (CAT, $r=0,14$; Gpx, $r=0,16$; Pb, $r=-0,23$, As, $r=0,19$) arasında ise zayıf ya da çok zayıf ilişki ($r=0,29$) bulunmaktadır.

Tablo 4.7. Böbrek hastalığının süresine bağlı olarak ağır metal, oksidatif stres ve DNA hasarı parametrelerindeki değişiklikler.

Parametreler	Kısa süre 2-5 yıl (n =29)	Orta süre 6-9 yıl (n=28)	Uzun süre ≥ 10 yıl (n = 17)
Ağır metal düzeyleri			
Al (ppb)	3,13±1,81 (2,94-3,31) ^a	3,60±0,30 (3,17-3,81)	3,76±0,93 (2,94-5,50)
Cd (ppb)	0,75±1,03 (0,05-4,25) ^a	3,14±9,29 (0,05-35,31)	13,42±20,66 (0,12-49,36)
Pb (ppb)	18,22±15,38 (5,67-52,25)	20,22±14,68 (4,22-44,74)	12,15±5,42 (3,34-18,32)
As (ppb)	3,84±1,03 (2,41-6,27)	4,12±1,83 (2,19-10,45)	4,76±0,84 (3,82-6,35)
Oksidatif stres belirteçleri			
SOD (ng/ml)	24,32±22,81 (6,89-158,6)	25,81±27,20 (6,34-127,3)	37,27±36,89 (2,57-112,1)
CAT (ng/ml)	34,13±15,00 (21,28-89,17)	36,87±28,55 (18,04-151,1)	39,30±28,14 (13,83-106,8)
GPx(ng/ml)	57,34±28,88 (12,47-124)	50,86±22,93 (27,09-115,1)	66,30±37,81 (27,59-136,3)
GSH (nmol/l)	1,72±0,83 (0,55-3,84)	1,85±0,84 (0,14-3,52)	1,63±1,01 (0,23-3,46)
MDA (nmol/l)	23,49 ±15,13 (12,57-83,83) ^a	23,43±18,65 (9,15-90,8) ^b	36,74±26,49 (12,75-87,52)
8-OHdG (ng/ml)	17,92±16,54 (6,98-98,2) ^a	20,11±19,95 (9,001-88,3) ^b	32,94±25,66 (8,50-81,63)
DNA hasarı			
Kuyruk yoğunluğu	5,61±3,35 (1,45-13,29) ^a	5,44±3,43 (1,19-16,61) ^b	8,28±3,45 (2,68-12,45)

DNA hasarı, lenfositlerdeki kuyruk yoğunluğu (%kuyruktaki DNA) olarak ifade edildi. Değerler ortalama ± standart sapma (min-maks) olarak verilmiştir. n: denek sayısı. Al, alüminyum; Cd, kadmiyum; Pb, kurşun; As, arsenik. SOD, süperoksit dismutaz; CAT, katalaz; GPx, glutatyon peroksidaz; GSH, glutatyon; MDA, malondialdehit; 8-OHdG, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin. ^ap<0,05, uzun süreye kıyasla kısa süre karşılaştırılmıştır; ^bp<0,05, uzun süreye kıyasla orta süre karşılaştırılmıştır; ^cp<0,05, orta süreye kıyasla kısa süre karşılaştırılmıştır.

5. TARTIŞMA

Yaşamsal işlevlerini sürdürmek için hemodiyaliz gibi renal replasman tedavilerine ihtiyaç duyan SDBY hastalarında böbrek fonksiyonları geri dönülemez şekilde kaybedilir. Oksidatif stres ve ağır metal düzeylerindeki artış, nefronlarda fonksiyon kaybına neden olduğu öne sürülen iki önemli faktördür. Ancak bu zararlı etkilerin altında yatan patofizyolojik mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Ayrıca hemodiyalizin oksidatif stres ve ağır metal maruziyeti üzerine etkileri de SDBY hastalarında aydınlatılması gereken diğer noktalardır (9-12). Bu nedenle bu çalışmada diyalize giren ve diyalize girmeyen SDBY hastalarında ağır metal düzeyleri, DNA hasarı ve oksidatif stres göstergelerindeki değişikliklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anemi SDBY'de beklenen bir klinik sonuçtur. Çalışmamızda da hastalarda RBC, Hb ve HTC düzeyleri sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur. Diyalize giren SDBY hastalarında bu üç parametrenin düzeyleri diyalize girmeyen SDBY hastalarına göre daha düşüktür. Anemi için eşik seviyeleri, Dünya Sağlık Örgütü kriterleri kullanılarak Hb düzeylerinin kadınlarda 12 g/dl ve erkeklerde 13 g/dl olması olarak tanımlanmıştır (240). Saraf ve ark.'nın (241) SDBY ile ilgili geniş kapsamlı bir Kohort çalışmasında 3919 katılımcının 1859'unda (%47) başlangıçta anemi gözlemlendiği bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki SDBY hastalarının yaklaşık yarısının, birikmiş üremik toksinler tarafından eritropoietin sentezinin bozulmasından kaynaklanan eritropoietin eksikliği nedeniyle anemiden muzdarip olduğu rapor edilmiştir (242). Bu çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda da Hb düzeyini diyalize giren SDBY hastalarında 10,44 g/dl, diyalize girmeyen SDBY hastalarında ise 11,44 g/dl bulunmuştur. Bu bulgular hemodiyaliz alan SDBY hastalarında önemli bir aneminin varlığını desteklemektedir.

Çalışmamızda yer alan SDBY hastaları böbrek yetmezliğine eşlik eden kronik hastalıkları olan önemli bir grup olup, takipleri için düzenli laboratuvar incelemelerine ihtiyaç duymaktadırlar. Karaciğer hastalıkları SDBY hastalarında yaygındır (243,244). Bu nedenle çalışmamızda en sık görülen karaciğer fonksiyonları olan AST ve ALT değerlendirilmiştir. Diyalize giren SDBY hastalarının ALT düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşük olduğunu, ancak diyalize giren hastalar ile diyalize girmeyen hastalar arasında ve diyaliz almayan hastalar ile sağlıklı

kontroller arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Ray ve ark. (245) SDBY hastalarında AST ve ALT düzeylerinin daha düşük olduğunu göstermiştir. Önceki diğer çalışmalar da kronik böbrek hastalarında ALT düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğu saptanmıştır (244,246,247). Çalışmamızda hemodiyaliz tedavisi alan SDBY hastalarında ALT düzeylerinin azalması da bu sonuçlarla tutarlıdır. Bu bulgular, ALT'in hepatik fonksiyon kaybına özgü ana enzim olması nedeniyle diyalize giren SDBY hastalarında karaciğer fonksiyonlarının önemli ölçüde bozulduğunu göstermektedir. Düşük serum ALT düzeyi, özellikle diyalize giren SDBY hastalarında su tutulması ve hemodilüsyona bağlı olabilir. SDBY hastalarında diyaliz öncesi üre ve kreatinin değerlerine bakıldığında, beklendiği gibi diyalize giren SDBY hastalarında diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksek üre ve kreatinin değerleri ile daha düşük GFR değerleri tespit edilmiştir.

Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırması (NHANES) 2011-2020'nin 12.412 katılımcıyı içeren çalışmasında, kronik böbrek hastalığı ile ağır metal düzeyleri (Cd, Pb, Hg) arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (248).

Alüminyum diyaliz sıvılarında yaygın olarak bulunur. Diyaliz hastalarında Al ile ilgili nörolojik semptomlar rapor edilmiştir (249). 2003 yılında Ulusal Böbrek Vakfı Böbrek Hastalığı Kalite Sonuçları Girişimi (NKF KDOQI), diyaliz hastalarında ve şiddetli kronik böbrek hastalığı olan hastalarda Al'in ilerleyici birikimini önlemek için serum Al konsantrasyonlarının 20 µg/L'den (ppb) daha az olması gerektiğini bildirmiştir (215). SDBY hastaları diyaliz solüsyonlarından, ilaçlardan ve hatta bazen içme suyundan dolayı Al toksisitesi riski altındadır. Al vücutta birikebilir, çünkü böbrek fonksiyonlarının bozulması metalin atılımını engeller. Çalışmamızda Al düzeyi sağlıklı kontrollerde tespit sınırının altında bulunmuş, ancak diyaliz hastalarında %47,8, diyalize girmeyen SDBY hastaların ise %3,57'sinde tespit edilmiştir. Diyalize giren hastalarda Al düzeyi 3,58±1,88 ppb (2,94-5,50), diyalize girmeyen hastalarda ise ortalama 3,80±0,73(3,80-3,80) ppb idi. Bu nedenle Al düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. İki hasta grubu arasında Al düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Hasta gruplarımızda da GFR değerleri ile Al düzeyleri arasında orta derecede negatif korelasyon ($r=-0,331$) gözlenmiştir.

Kadmiyum önemli bir çevre kirletici ve nefrotoksik maddedir. SDBY hastaları yüksek riskli bir gruptur, çünkü Cd'ye kronik maruz kalma sonrasında metalin yaklaşık %50'si böbrekte birikir (250,251). Cd kaynaklı GFR azalması, diyabet, hipertansiyon veya her ikisine sahip olan hastalarda daha fazla görülmektedir (252). ABD'de yürütülen (NHANES) 2011–2020 araştırmasında (n=1545) kandaki Cd düzeylerinin $\geq 0,53$ $\mu\text{g/L}$ olmasının GFR azalması riskinde 2,21 kat artışla ilişkili olduğu rapor edilmiştir (253). Çalışmamızda diyalize girmeyen SDBY hastalarında ve sağlıklı kontrollerde Cd düzeyleri benzer bulunmuştur. Ancak diyalize giren SDBY hastalarında Cd düzeyleri diğer iki çalışma grubuna göre anlamlı derecede $7,94 \pm 13,62$ (0,05-49,36) ppb kadar yüksek ölçülmüştür. Amerikan Devlet Endüstriyel Hijyen Uzmanları Konferansı, Cd için biyolojik maruz kalma indeksi değerlendirmesinde; 5 ppb'lik kronik Cd maruziyetinin böbrek fonksiyonuyla ilişkili olduğunu tanımlamaktadır (254). Bu nedenle çalışmamızda diyalize giren SDBY hastalarında Cd düzeylerinin de bu toksik düzeylerle uyumlu olması, böbreklerde Cd'nin toksik birikimini desteklemektedir.

Kurşun sinir, dolaşım, iskelet, böbrek, hematopoietik ve endokrin sistemler üzerinde ciddi sonuçları olan toksik bir metaldir. Pb'ye maruz kalma aynı zamanda nefropati ve renal adenokarsinomla da sonuçlanabilir (255). Yaşamın erken dönemlerinde düşük düzeyde Pb'ye maruz kalmanın glomerüler hipertrofiye yol açtığı gösterilmiştir. Pb'a kronik maruz kalma, KBH'ye yol açan ilerleyici tübülointerstisyel nefrite yol açabilir. Pb'ye maruz kalmanın birincil hücrel etkilerinden biri böbrek hücrelerinde oksidatif stresin indüklenmesidir. Pb'ye maruz kalmanın aynı zamanda lipid oksidasyonuna ve DNA fragmentasyonuna yol açtığı da gösterilmiştir (256). Çalışmamızın sonuçları, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında her iki SDBY hasta grubunda Pb düzeylerinin yüksek olduğunu göstermiştir. SDBY hastalarındaki bu yüksek Pb konsantrasyonları, hasta gruplarımızdaki artan oksidatif stres ve DNA hasarının nedenlerinden biri olabilir. Kronik inflamasyon, oksidatif stresin artmasına önemli bir katkıda bulunur. KBH'de proinflamatuvar faktörlerin varlığı oksidatif stresin artmasına neden olurken aynı zamanda vücutta bozulan redoks dengesi inflamasyonu artırır. Podkowińska ve ark.'nın (257) çalışması SDBY hastalarında artan oksidatif stres ve inflamasyona dikkat çekmektedir. Yüksek Pb seviyeleri ve oksidatif stresin birleşimi, DNA hasarı da dâhil olmak üzere hücrel hasarı şiddetlendiren sinerjistik

bir etki yaratabilir. Dokularda Pb birikiminin, Pb'ye maruz kalan işçilerde DNA iplik kırılmaları da dâhil olmak üzere oksidatif DNA hasarlarına neden olduğu rapor edilmiştir (258). Dolayısıyla çalışmamızdaki yüksek Pb seviyeleri aynı zamanda inflamasyonun ve DNA hasarının artmasına neden olmuş olabilir.

İdrarla atılım, As eliminasyonunun ana yolunu temsil eder. Absorbe edilen As'nin büyük bir kısmı böbreklerde filtrelendiğinden, böbrekler As alımı ve birikimi için önemli organlardır. İçme suyunun As ile kirlenmesi, hipertansiyon ve böbrek hasarının gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. As'a maruz kalmanın albüminüri ve proteinüriye neden olduğu gösterilmiştir, ancak KBH ile ilişkili diğer sonuçları (örneğin; anemi, hiperkalemi, hipokalsemi) düzeltmemiştir. As'a maruz kalma böbrek hasarına neden oluyor gibi görünse de As'a maruz kalma ile KBH gelişimi arasında kesin bir ilişki yoktur (259,260). Önceki bir çalışmada, toplam As düzeyi ile özellikle toplam As düzeyi 11,78 mikrog/g kreatinin veya daha az olan bireylerle karşılaştırıldığında 20,74 ppb'den yüksek olan katılımcılarda KBH ile doz-yanıt şeklinin önemli ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir (261). Palaneeswari ve ark. SDBY hastasının kan As düzeylerini 50 sağlıklı kontrolle karşılaştırmışlar ve sonuçlarımızla uyumlu olarak SDBY hastalarında anlamlı derecede daha yüksek As düzeyleri bulmuşlardır (262). Ancak SDBY hastalarını hemodiyaliz durumu açısından karşılaştırmamışlardır. Sonuçlarımız, iki hasta grubu arasındaki As düzeyleri benzer olmasına rağmen, As düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla SDBY hastalarında yüksek As düzeylerinin bulunduğu ve bunun da böbrek yetmezliğinin nedenlerinden biri olabileceği var sayılabilir.

Oksidatif stresin KBH ilerlemesinin ve çeşitli böbrek hastalıklarının patofizyolojisinde yer aldığı bilinmektedir. Kronik tübülointerstisyel nefropatinin altında yatan kesin patofizyolojik mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Oksidatif stres, fibroz ve inflamasyonun SDBY'nin gelişiminde ve ilerlemesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Biyomoleküllerin ROS tarafından oksidasyonu KBH'de çok erken başlar, böbrek fonksiyonunun bozulmasına paralel olarak ilerler ve SDBY'de daha da şiddetlenir (263,264). Çalışmamızda SDBY hastalarında GSH düzeylerinin diyaliz durumuna bakılmaksızın SDBY hastalarında anlamlı düzeyde azaldığı ve ancak beklenen aksine temel antioksidan enzimler olan SOD, CAT, GPx'in

anlamli düzeyde arttiğı grlmŖtir. SDBY hastalarında oksidatif stresin artması beklenen bir sonuçtur. SOD ve CAT ana antioksidan enzimler olduğundan, seviyelerindeki artıŖ, vücudun artan oksidatif strese karŖı koruma mekanizmasında bir artıŖa iŖaret edebilir. Çok sayıda alıŖma, ilerlemiŖ böbrek yetmezliği olan hastalarda oksidatif stresin anlamli derecede arttığını, ancak bu durumun hemodiyaliz ile daha da ktleŖtiđini gstermiŖtir (265-267).

nceki alıŖmalara benzer Ŗekilde sonuçlarımız, diyalize girmeyen SDBY hastalarına ve sağlıklı kontrol grubuna kıyasla diyalize giren SDBY hastalarında en yüksek SOD, CAT ve GPx seviyeleri tespit edilmiŖtir (268-271). alıŖmamızda iki hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamli fark olmasa da SOD, CAT ve GPx düzeyleri hemodiyaliz grubunda daha yüksek bulunmuŖtur. Enflamasyon, remik toksinler ve diyaliz sürecinin kendisi de dâhil olmak üzere eŖitli faktörlere bağlı olarak SDBY hastalarında oksidatif stres sıklıkla artar. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA da SDBY hastalarında sağlıklı kontrollerle karŖılaŖtırıldıđında ykselmiŖtir. alıŖma gruplarımızda diyalize giren SDBY hastalarında MDA düzeyleri diyalize girmeyen gruba göre anlamli derecede yüksek deđerlendirilmiŖtir. Bu durum, bu hasta grubunda artmıŖ bir oksidatif yanıtta iŖaret etmektedir.  alıŖma grubu arasında bulunan anlamli farklılıklar, SDBY hastalarında, özellikle diyalize giren grupta, artmıŖ oksidatif stresin ve nükleofilik ROS ataklarının bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

nceki bir alıŖmada, diyalizdeki SDBY hastalarının, diyaliz ncesi KBH evre 4'e kıyasla önemli ölçüde artan oksidatif stres sergilediği gzlemlenmiŖtir. Bu artıŖ, eŖitli faktörlere bağlanabilir. Genel olarak tedavide hekimler, hiperkalemiyi önlemek için potasyum açısından zengin meyve ve sebzelerin tüketiminden kaçınmak için diyaliz hastalarına katı diyet kısıtlamaları uygular, bu da diyetle antioksidan, vitamin ve flavonoid alımının azalmasına neden olur. Ayrıca her hemodiyaliz seansında yüksek miktarda antioksidan (C vitamini ve eser elementler gibi) kaybedilmekte ve her diyaliz seansından sonra beyaz kan hücrelerinin aktivasyonu, inflamasyon ve aŖırı ROS retimi görülmektedir (271). Plazma MDA düzeylerinin ykselmiŖ seviyeleri Valentini ve ark. tarafından da rapor edilmiŖtir (272).

Oksidatif stresin neden olduğu DNA hasarı, DNA'nın tek veya çift sarmal kırılmasına, baz modifikasyonlarına, deoksiriboz modifikasyonlarına ve DNA apraz

bağlanmasına neden olabilir. Guanine, DNA bazları arasında en düşük elektron oksidasyon potansiyeline sahiptir ve bu nedenle nükleik asitlerin oksidatif bozunması ile ilgili olarak DNA'daki oksidatif hasarın ana hedefidir. *8-Okso-7,8-dihidro-2-deoksiguanozin (8-OHdG)*, guaninin en sık görülen modifikasyonudur ve genellikle oksidatif DNA hasarının bir biyobelirteç olarak ölçülmesi gerektiğinde ölçülür. Sitokinezi durdurulmuş mikronükleus analizi ve comet yöntemi ile elde edilen verilerle uyumlu olarak, 8-OHdG düzeylerinin diyaliz hastalarında arttığı gösterilmiştir. Bu verilere benzer şekilde, bulgularımız kronik böbrek hastalığı olan hastalarda yüksek 8-oksodG seviyelerini doğrulayan önceki çalışmaları desteklemektedir (273,274). Çalışmamızda diyalize giren SDBY'de hem 8-OHdG düzeyleri hem de DNA hasarı artmıştır. Bu seviyeler SDBY hastalarında diyalize girmeyenlere göre daha düşük, ancak yine de sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

Kronik böbrek yetmezliğinde genotoksik hasarın hem prediyaliz hem de diyaliz aşamasında arttığı çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir (275-279). Yaş ve cinsiyet açısından eşleştirilmiş 24 sağlıklı denek, ileri derecede böbrek yetmezliği olan 22 diyalize girmeyen hasta ve 42 kronik periton diyalizi hastası ile yapılan bir çalışmada, kronik böbrek yetmezliği sırasında periferik lökosit DNA örneklerinde 8-OHdG düzeylerinde ciddi bir artış meydana geldiği ve hastalığın ilerlemesiyle birlikte düzeyin giderek arttığı gösterilmiştir (277). Böbrek hastalığının ciddiyeti diyalize giren hastalarda DNA hasarı ile bağlantılıdır (278). Kan ve ark. bulgularımıza benzer şekilde, alkali Comet yöntemi kullanarak sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında 36 hemodiyaliz hastasında lenfosit DNA hasarında artış olduğunu göstermişlerdir (276).

Gandhi ve ark. diyalize giren 55 SDBY hastasında ve 39 sağlıklı kontrol ile yaptıkları çalışmada, hastalarda DNA hasarı ve mikronükleus frekansındaki artışlar olduğunu bildirmişlerdir. SDBY hastalarında DNA hasarında ve mikronükleus sıklığında görülen önemli artışlar, üremik toksik maddelerin birikmesine bağlanmıştır. Bu rapora göre SDBY hastalarında eşlik eden hastalıklara karşı zamanında müdahale başlatmak için DNA ve kromozom hasarının yararlı prognostik biyobelirteçler olabileceği öne sürülmüştür (279).

Böbrek hastalığı durumu, oksidatif stres, inflamatuvar yanıtlar ve tedavi prosedürünün genetik materyal üzerinde zararlı etkileri olabilir. Tung ve ark. (280)

evre V Kronik Böbrek Hastalığı olan (diyaliz alan ve diyaliz önerilen ancak henüz başlamamış) hastaların (n=200) periferik kan lökositlerinde comet yöntemini kullanarak DNA hasarını araştırmışlar ve sonuçları sağlıklı kontrollerle (n=210) karşılaştırmışlardır. Haftada iki kez diyaliz alan hastaların, diyaliz almayanlara ve haftada bir kez diyaliz alan grubuna kıyasla anlamlı derecede daha yüksek DNA hasarına sahip olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma, diyalizin neden olduğu mekanik stresin ve kan-diyaliz cihazı membran etkileşimlerinin DNA hasarındaki artışlara katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Bu bulgular, böbrek hastalığı olan hastaların yaşam beklentisini artırmak için hastalığın ilerlemesini ve ilişkili komorbiditeleri geciktirmek için girişimsel tedavilerin iyileştirilmesi ve geliştirilmesi gerektiğine işaret etmiştir.

Son dönem böbrek yetmezliği hastalarında antioksidan enzimlerin düzeyleri, hastaya, SDBY'nin evresine ve diğer komplikasyonların varlığına bağlı olarak değişebilmektedir. Bazı durumlarda, artan oksidatif strese tepki olarak seviyeleri yükselebilir, diğer durumlarda ise antioksidan kapasitenin azalması da dâhil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlı olarak azalabilir. Bu çalışmada hastalık süresi 10 yıldan fazla olan hastalarda Al ve Cd dâhil her iki metalin düzeyleri daha yüksek ölçülmüştür. Ağır metallerin böbrek yoluyla atıldığı ve nefronların fonksiyonel kaybının bu metallerin vücutta birikmesine neden olabileceği bilinmektedir. Bu, SDBY hastalarında uzun süre boyunca ağır metal birikiminin bir işareti olabilir ve toksik metallerin böbreklerden eliminasyonunun azaldığına işaret edebilir. Oksidatif stres parametreleri hastalık süresine göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılık göstermemiştir. Ancak hastalık süresi kısa ve uzun olan hastalar ile orta ve uzun hastalık süresi olan hastalar arasında MDA düzeyleri açısından farklılıklar tespit edilmiştir. MDA düzeyleri 10 yıldan uzun süredir hastalığı olan SDBY hastalarında en yüksek bulunmuştur. Lipidlerin ROS ve ağır metallerin ana hedeflerinden biri olduğu bilinmektedir. Lipit peroksidasyonu dolayısıyla da oksidatif stres artışına neden olur. Draai ve ark, uzun süreli hemodiyaliz hastalarında MDA düzeylerinin yükseldiğini belirtmiştir (281). Aynı durum 8-OHdG seviyeleri için de mevcuttur. Bu bulgular, hastalığın uzun süreli seyri boyunca artan lipit peroksidasyonunu ve DNA hasarını gösterebilir. Hastalık süresi arttıkça genotoksik etkilerin arttığı açıktır.

Çalışmamız kapsamlı olsa da çalışmamızı sınırlandıran bazı hususlar bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi sınırlı örneklem büyüklüğüne sahip olmasıdır. Bireyler farklı meslek gruplarından olduğu için ağır metallerin toksik etkileri hastaların farklı mesleklerine göre ve katılımcıların diyetleri ve sigara içme durumları standardize edilememiştir. Daha geniş hasta sayısı ile yapılacak daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Diyalize giren ve diyalize girmeyen SDBY hastalarında oksidatif stresle ilişkili genotoksik olaylara odaklanan çok sınırlı sayıda detaylı çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda SDBY hastalarında genotoksisite, oksidatif stres ve Hg dışındaki ağır metal düzeylerinin anlamlı olarak arttığı ve diyalize giren hastalarda diyaliz almayanlara göre Al ve Cd düzeylerinin, DNA hasarının, 8-OHdG ve MDA düzeylerinin anlamlı derecede arttığı, GSH düzeylerin ise anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Al ve Cd düzeyleri açısından hastaların çevresel toksite, kullandıkları ilaçlar ve diyaliz sıvısından akümülyasyon olma ihtimali diyalize giren SDBY hastalarında yakın takip edilmesi gerektiği bulgularımızla desteklenmektedir. Su kaynaklarının ve kullandıkları ilaçlarda bu toksitenin düşünülmesi ve kaynağının tespiti ülkemizde gerektiği kanaati oluşmaktadır. Diyalize giren hastalarda renal transplant adayı olduğu unutulmamalı ve toksitenin önlenmesi nakil şansını artırıp yaşam sürelerini artırması kaçınılmazdır. Çalışma grubumuzdaki SDBY hastalarında oksidatif stres biyomarkarlarındaki artışın birçok sebebi olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla yeni yapılacak çalışmalarda antioksidan tedavi kullanımının etkisi merak uyandırmaktadır. Mevcut hastalarda DNA hasarı üzerine olacak etkiside yeni çalışmalar için heyecan doğurmaktadır. Böbrek hastalığının ciddiyeti diyalize giren hastalarda DNA hasarı ile bağlantılı olduğu bilinmektedir. Bizim çalışmamızda desteklemektedir. Ancak bu konuda mortalite üzerine ve KDIGO evrelemesindeki rolü net değildir. Bu konuda verilerimiz böbrek yetmeliğinin evrelemesinde DNA hasarının bir gösterge olabileceği konusunda yeterli kanıtlarımız ve verimiz yoktur. Bundan sonraki çalışmalara bu konuda yön gösteren bir çalışma olabileceğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak çalışmamız son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda ağır metallerin, oksidatif stresin ve genotoksik hasarın rolünü tartışan öncü bir çalışmadır. Bu değişikliklerin böbrek hasarının ilerlemesinde önemli bir rol oynayabileceği varsayılmaktadır. SDBY hastalarında oksidatif strese bağlı DNA hasarını ve ağır metal yükünü azaltmaya yönelik yaklaşımlar tedaviye yardımcı olabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Jager KJ, Kovesdy C, Langham R, Rosenberg M, Jha V, Zoccali C. A single number for advocacy and communication—worldwide more than 850 million individuals have kidney diseases. *Kidney Int.* 2019 Nov;96(5):1048–50.
2. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl.* 2013; 3:1–150.
3. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *The Lancet.* 2012 Jan;379(9811):165–80.
4. Mamur S, Unal F, Altok K, Deger SM, Yuzbasioglu D. DNA damage in hemodialysis patients with chronic kidney disease; a test of the role of diabetes mellitus; a comet assay investigation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2016 Apr;800–801:22–7.
5. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc.* 1998 Feb;75(2):199–212.
6. Nguyen AT, Lethias C, Zingraff J, Herbelin A, Naret C, Descamps-Latscha B. Hemodialysis membrane-induced activation of phagocyte oxidative metabolism detected in vivo and in vitro within microamounts of whole blood. *Kidney Int.* 1985 Aug;28(2):158–67.
7. Gyurászová M, Gurecká R, Bábíčková J, Tóthová Ľ. Oxidative Stress in the Pathophysiology of Kidney Disease: Implications for Noninvasive Monitoring and Identification of Biomarkers. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Jan 28; 2020:1–11.
8. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2003 Jul 1;18(7):1272–80.
9. Johri N, Jacquillet G, Unwin R. Heavy metal poisoning: the effects of cadmium on the kidney. *BioMetals.* 2010 Oct 31;23(5):783–92.
10. Soderland P, Lovekar S, Weiner DE, Brooks DR, Kaufman JS. Chronic Kidney Disease Associated with Environmental Toxins and Exposures. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2010 May;17(3):254–64.
11. Edwards JR, Prozialeck WC. Cadmium, Diabetes and chronic kidney disease. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009 Aug 1;238(3):289–93.
12. Li SJ, Zhang SH, Chen HP, Zeng CH, Zheng CX, Li LS, et al. Mercury-Induced Membranous Nephropathy. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* 2010 Mar;5(3):439–44.
13. Xu J, Wise JTF, Wang L, Schumann K, Zhang Z, Shi X. Dual Roles of Oxidative Stress in Metal Carcinogenesis. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology.* 2017;36(4):345–76.
14. Nuran Ercal BSP, Hande Gurer-Orhan BSP, Nukhet Aykin-Burns BSP. Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Metal induced Oxidative Damage. *Curr Top Med Chem.* 2001 Dec 1;1(6):529–39.

15. Coulliette AD, Arduino MJ. Hemodialysis and Water Quality. *Semin Dial.* 2013 Jul 17;26(4):427–38.
16. Humudat YR, Al-Naseri SK. Heavy Metals in Dialysis Fluid and Blood Samples from Hemodialysis Patients in Dialysis Centers in Baghdad, Iraq. *J Health Pollut.* 2020 Sep;10(27).
17. Muntner P, Menke A, Batuman V, Rabito FA, He J, Todd AC. Association of tibia lead and blood lead with end-stage renal disease: A pilot study of African–Americans. *Environ Res.* 2007 Jul;104(3):396–401.
18. Colleoni N, Arrigo G, Gandini E, Corigliano C, Dersquo; Amico G. Blood Lead in Hemodialysis Patients. *Am J Nephrol.* 1993;13(3):198–202.
19. Hernández-Cruz EY, Amador-Martínez I, Aranda-Rivera AK, Cruz-Gregorio A, Pedraza Chaverri J. Renal damage induced by cadmium and its possible therapy by mitochondrial transplantation. *Chem Biol Interact.* 2022 Jul ;361:109961.
20. Thévenod F. Nephrotoxicity and the Proximal Tubule. *Nephron Physiol.* 2003 May 9;93(4):p87–93.
21. Azqueta A, Ladeira C, Giovannelli L, Boutet-Robinet E, Bonassi S, Neri M, et al. Application of the comet assay in human biomonitoring: An hCOMET perspective. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research.* 2020 Jan; 783:108288.
22. Anderson D, Dhawan A, Laubenthal J. The Comet Assay in Human Biomonitoring. In 2013. p. 347–62.
23. Cemeli E, Baumgartner A, Anderson D. Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research.* 2009 Jan;681(1):51–67.
24. Plantinga LC, Boulware LE, Coresh J, Stevens LA, Miller ER, Saran R, et al. Patient Awareness of Chronic Kidney Disease. *Arch Intern Med.* 2008 Nov 10;168(20):2268.
25. Levey AS, et al. KDOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *American Journal of Kidney Diseases.* 2002;39(2): Suppl. 1.
26. Bikbov B, Purcell CA, Levey AS, Smith M, Abdoli A, Abebe M, et al. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet.* 2020 Feb;395(10225):709–33.
27. Brück K, Stel VS, Gambaro G, Hallan S, Völzke H, Ärnlöv J, et al. CKD Prevalence Varies across the European General Population. *Journal of the American Society of Nephrology.* 2016 Jul;27(7):2135–47.
28. Holmen J, Midthjell K, Krüger Ø, Langhammer A, Langaas Holmen T, Bratberg GH, et al. The Nord-Trøndelag Health Study 1995-97 (HUNT 2): Objectives, contents, methods and participation. Vol. 13, *Norsk Epidemiologi.* 2003.
29. John U, Hensel E, Lüdemann J, Piek M, Sauer S, Adam C, et al. Study of Health in Pomerania (SHIP): A health examination survey in an east German region: Objectives and design. *Sozial- und Preventivmedizin SPM.* 2001 May;46(3):186–94.

30. Suleymanlar G, Utas C, Arinsoy T, Ates K, Altun B, Altiparmak MR, et al. A population-based survey of Chronic RENal Disease In Turkey--the CREDIT study. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2011 Jun 1;26(6):1862–71.
31. Seyahi N, Ates K, Suleymanlar G. Current Status of Renal Replacement Therapy in Turkey: A Summary of the Turkish Society of Nephrology Registry Report. *Turkish Journal of Nephrology*. 2020 Feb 12;29(1):6–11.
32. Plani E. Türkiye böbrek hastalıkları önleme ve kontrol programı [Internet]. 2018. Available from: www.hsgm.saglik.gov.tr
33. Erek E. Nephrology, dialysis and transplantation in Turkey. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2002 Dec 1;17(12):2087–93.
34. Gilbert SJ, Weiner DE, Gipson DS, Perazella MA, Tonelli M, National Kidney Foundation. National Kidney Foundation's primer on kidney diseases. 646 p.
35. Smith ER, Cai MMX, McMahon LP, Wright DA, Holt SG. The value of simultaneous measurements of urinary albumin and total protein in proteinuric patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2012 Apr;27(4):1534–41.
36. Wen CP, Matsushita K, Coresh J, Iseki K, Islam M, Katz R, et al. Relative risks of chronic kidney disease for mortality and end-stage renal disease across races are similar. *Kidney Int*. 2014 Oct;86(4):819–27.
37. Staples A, Wong C. Risk factors for progression of chronic kidney disease. *Curr Opin Pediatr*. 2010 Apr;22(2):161–9.
38. Parsa A, Kao WHL, Xie D, Astor BC, Li M, Hsu C yuan, et al. *APOL1* Risk Variants, Race, and Progression of Chronic Kidney Disease. *New England Journal of Medicine*. 2013 Dec 5;369(23):2183–96.
39. Daugirdas JT, Meyer K, Greene T, Butler RS, Poggio ED. Scaling of Measured Glomerular Filtration Rate in Kidney Donor Candidates by Anthropometric Estimates of Body Surface Area, Body Water, Metabolic Rate, or Liver Size. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2009 Oct;4(10):1575–83.
40. Berg UB. Differences in decline in GFR with age between males and females. Reference data on clearances of inulin and PAH in potential kidney donors. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2006 Sep 1;21(9):2577–82.
41. Ji H, Zheng W, Menini S, Pesce C, Kim J, Wu X, et al. Female protection in progressive renal disease is associated with estradiol attenuation of superoxide production. *Gend Med*. 2007 Mar;4(1):56–71.
42. Silbiger S, Neugarten J. Gender and human chronic renal disease. *Gend Med*. 2008 Jan; 5: S3–10.
43. Garcia-Garcia G, Jha V, Tao Li PK, Garcia-Garcia G, Couser WG, Erk T, et al. Chronic Kidney Disease (CKD) in disadvantaged populations. *Clin Kidney J*. 2015 Feb 1;8(1):3–6.
44. Van den Beukel TO, de Goeij MCM, Dekker FW, Siegert CEH, Halbesma N. Differences in Progression to ESRD between Black and White Patients Receiving Predialysis Care in a Universal Health Care System. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2013 Sep;8(9):1540–7.

45. Hamet P, Haloui M, Harvey F, Marois-Blanchet FC, Sylvestre MP, Tahir MR, et al. PROX1 gene CC genotype as a major determinant of early onset of type 2 diabetes in slavic study participants from Action in Diabetes and Vascular Disease. *J Hypertens*. 2017 May;35(Supplement 1): S24–32.
46. Everett CJ, Thompson OM, Dismuke CE. Exposure to DDT and diabetic nephropathy among Mexican Americans in the 1999–2004 National Health and Nutrition Examination Survey. *Environmental Pollution*. 2017 Mar; 222:132–7.
47. Prasad R, Jha RK, Keerti A. Chronic Kidney Disease: Its Relationship with Obesity. *Cureus*. 2022 Oct 21
48. Kopple JD. Obesity and Chronic Kidney Disease. *Journal of Renal Nutrition*. 2010 Sep;20(5): S29–30.
49. Ku E, Lee BJ, Wei J, Weir MR. Hypertension in CKD: Core Curriculum 2019. *American Journal of Kidney Diseases*. 2019 Jul;74(1):120–31.
50. Hamrahan SM, Falkner B. Hypertension in Chronic Kidney Disease. In 2016. p. 307–25.
51. A Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control. *New England Journal of Medicine*. 2015 Nov 26;373(22):2103–16.
52. Sarafidis PA, Khosla N, Bakris GL. Antihypertensive Therapy in the Presence of Proteinuria. *American Journal of Kidney Diseases*. 2007 Jan;49(1):12–26.
53. Weir MR, Fink JC. Salt intake and progression of chronic kidney disease: An overlooked modifiable exposure? A commentary. *American Journal of Kidney Diseases*. 2005 Jan;45(1):176–88.
54. Bakris GL, Weir MR, Secic M, Campbell B, Weis-McNulty A. Differential effects of calcium antagonist subclasses on markers of nephropathy progression. *Kidney Int*. 2004 Jun;65(6):1991–2002.
55. Mehmood HR, Khan Z, Jahangir HMS, Hussain A, Elahi A, Askari SMH. Assessment of serum biochemical derangements and associated risk factors of chronic kidney disease. *J Taibah Univ Med Sci*. 2022 Jun;17(3):376–83.
56. Abboud H, Henrich WL. Stage IV Chronic Kidney Disease. *New England Journal of Medicine*. 2010 Jan 7;362(1):56–65.
57. Perkovic V, Jardine MJ, Neal B, Bompoint S, Heerspink HJL, Charytan DM, et al. Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy. *New England Journal of Medicine*. 2019 Jun 13;380(24):2295–306.
58. Stefanski A, Schmidt KG, Waldherr R, Ritz E. Early increase in blood pressure and diastolic left ventricular malfunction in patients with glomerulonephritis. *Kidney Int*. 1996 Oct;50(4):1321–6.
59. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C yuan. Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization. *New England Journal of Medicine*. 2004 Sep 23;351(13):1296–305.
60. Cheung AK, Chang TI, Cushman WC, Furth SL, Hou FF, Ix JH, et al. KDIGO 2021 Clinical Practice Guideline for the Management of Blood Pressure in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2021 Mar;99(3): S1–87.

61. Mills KT, Chen J, Yang W, Appel LJ, Kusek JW, Alper A, et al. Sodium Excretion and the Risk of Cardiovascular Disease in Patients with Chronic Kidney Disease. *JAMA*. 2016 May 24;315(20):2200.
62. Snyder JJ, Collins AJ. Association of Preventive Health Care with Atherosclerotic Heart Disease and Mortality in CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2009 Jul;20(7):1614–22.
63. Andrassy KM. Comments on ‘KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease.’ *Kidney Int*. 2013 Sep;84(3):622–3.
64. Official Journal of The International Society Of Nephrology KDIGO Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease KDIGO Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease [Internet]. Available from: <http://www.kidney-international.org>
65. Zoccali C, Mallamaci F, Adamczak M, de Oliveira RB, Massy ZA, Sarafidis P, et al. Cardiovascular complications in chronic kidney disease: a review from the European Renal and Cardiovascular Medicine Working Group of the European Renal Association. *Cardiovasc Res*. 2023 Sep 5;119(11):2017–32.
66. Hsu C yuan, McCulloch CE, Curhan GC. Epidemiology of Anemia Associated with Chronic Renal Insufficiency among Adults in the United States. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2002 Feb;13(2):504–10.
67. Nutritional anaemias. Report of a WHO scientific group. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1968; 405:5–37.
68. Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB, Smith DH. Longitudinal Follow-up and Outcomes Among a Population with Chronic Kidney Disease in a Large Managed Care Organization. *Arch Intern Med*. 2004 Mar 22;164(6):659.
69. Van der Meer P. Erythropoietin in cardiovascular diseases. *Eur Heart J*. 2004 Feb;25(4):285–91.
70. Kotecha D, Ngo K, Walters JAE, Manzano L, Palazzuoli A, Flather MD. Erythropoietin as a treatment of anemia in heart failure: Systematic review of randomized trials. *Am Heart J*. 2011 May;161(5):822-831.e2.
71. Moe S, Drüeke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position statement from KidneyDisease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2006 Jun;69(11):1945–53.
72. Levin A, Bakris GL, Molitch M, Smulders M, Tian J, Williams LA, et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: Results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int*. 2007 Jan;71(1):31–8.
73. Paoian NJ, Giachelli CM. A current understanding of vascular calcification in CKD. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2014 Oct 15;307(8): F891–900.
74. Kendrick J, Ix JH, Targher G, Smits G, Chonchol M. Relation of Serum Phosphorus Levels to Ankle Brachial Pressure Index (from the Third National Health and Nutrition Examination Survey). *Am J Cardiol*. 2010 Aug;106(4):564–8.

75. Hsu CH, Patel SR, Young EW, Vanholder R. The biological action of calcitriol in renal failure. *Kidney Int.* 1994 Sep;46(3):605–12.
76. Moe SM, Seifert MF, Chen NX, Sinderson RM, Chen X, Duan D, et al. R-568 reduces ectopic calcification in a rat model of chronic kidney disease-mineral bone disorder (CKD-MBD). *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2009 Aug 1;24(8):2371–7.
77. Bushinsky DA. Tolerance to Sodium in Patients With CKD-Induced Metabolic Acidosis: Does the Accompanying Anion Matter? *American Journal of Kidney Diseases.* 2019 Jun;73(6):858–65.
78. Chapter 3: Management of progression and complications of CKD. *Kidney Int Suppl.* 2011;3(1):73–90.
79. Appel G. Lipid abnormalities in renal disease. *Kidney Int.* 1991 Jan;39(1):169–83.
80. Athobari J, Brantsma AH, Gansevoort RT, Visser ST, Asselbergs FW, van Gilst WH, et al. The effect of statins on urinary albumin excretion and glomerular filtration rate: results from both a randomized clinical trial and an observational cohort study. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2006 Sep 12;21(11):3106–14.
81. Haynes R, Lewis D, Emberson J, Reith C, Agodoa L, Cass A, et al. Effects of Lowering LDL Cholesterol on Progression of Kidney Disease. *Journal of the American Society of Nephrology.* 2014 Aug;25(8):1825–33.
82. Garg AX, Blake PG, Clark WF, Clase CM, Haynes RB, Moist LM. Association between renal insufficiency and malnutrition in older adults: Results from the NHANES III. *Kidney Int.* 2001 Nov;60(5):1867–74.
83. Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. K/DOQI, National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis.* 2000 Jun;35(6 Suppl 2): S17–104.
84. Ahmed K, Kopple J. Nutritional management of kidney disease. In: *Primer on Kidney Diseases*, Greenberg A (Ed), Academic Press, San Diego 1994. p.289.
85. Goniak HC, Kleeman CR, Rubin ME, Maxwell MH. Functional impairment in chronic renal disease III. Studies of potassium excretion. *Am J Med Sci.* 1971 May;261(5):281–90.
86. Allon M. Hyperkalemia in end-stage renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology.* 1995 Oct;6(4):1134–42.
87. Kaptein EM, Quion-Verde H, Chooljian CJ, Tang WW, Friedman PE, Rodriguez HJ, et al. The Thyroid in End-Stage Renal Disease. *Medicine.* 1988 May;67(3):187.
88. Cooper BA, Branley P, Bulfone L, Collins JF, Craig JC, Fraenkel MB, et al. A Randomized, Controlled Trial of Early versus Late Initiation of Dialysis. *New England Journal of Medicine.* 2010 Aug 12;363(7):609–19.
89. Kopple JD. National Kidney Foundation K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Nutrition in Chronic Renal Failure. *American Journal of Kidney Diseases.* 2001 Jan;37(1): S66–70.
90. Nesheiwat Z, Lee JJ. Uremic Pericarditis. 2024.
91. Palmer BF. Sexual dysfunction in uremia. *J Am Soc Nephrol.* 1999 Jun;10(6):1381–8.

92. Demirtaş G, Ersoy FF. Kronik böbrek hastalarının renal replasman tedavisine hazırlanması, modalite seçimi üzerine etkili faktörler. *Kron Böbrek Hast Güncel Yaklaşım Türkiye Klin.* 2020;87–94.
93. Teitelbaum I, Burkart J. Peritoneal dialysis. *American Journal of Kidney Diseases.* 2003 Nov;42(5):1082–96.
94. Hemodialysis Adequacy 2006 Work Group. Clinical practice guidelines for hemodialysis adequacy, update 2006. *Am J Kidney Dis.* 2006 Jul;48 Suppl 1: S2-90.
95. Dirks JH, De Zeeuw D, Agarwal SK, Atkins RC, Correa-Rotter R, D’Amico G, et al. Prevention of chronic kidney and vascular disease: Toward global health equity—The Bellagio 2004 Declaration. *Kidney Int.* 2005 Sep; 68: S1–6.
96. Greenberg KI, Choi MJ. Hemodialysis Emergencies: Core Curriculum 2021. *American Journal of Kidney Diseases.* 2021 May;77(5):796–809.
97. Ricci Z, Romagnoli S, Ronco C. Renal Replacement Therapy. *F1000Res.* 2016 Jan 25; 5:103.
98. Murdeshwar HN, Anjum F. Hemodialysis. 2024.
99. Lang T, Zawada AM, Theis L, Braun J, Ottlinger B, Kopperschmidt P, et al. Hemodiafiltration: Technical and Medical Insights. *Bioengineering.* 2023 Jan 21;10(2):145.
100. Schytz PA, Mace ML, Soja AMB, Nilsson B, Karamperis N, Kristensen B, et al. Impact of extracorporeal blood flow rate on blood pressure, pulse rate and cardiac output during haemodialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2015 Dec;30(12):2075–9.
101. Wimmer J, Bachler I, Haditsch B, Stadlbauer V, Holzer H, Schneditz D. Device and Technique for Extracorporeal Blood Volume Sequestration During Hemodialysis. *ASAIO Journal.* 2006 Nov;52(6):662–9.
102. Golper TA, Fissell R, Fissell WH, Hartle PM, Sanders ML, Schulman G. Hemodialysis: Core Curriculum 2014. *American Journal of Kidney Diseases.* 2014 Jan;63(1):153–63.
103. Abe M, Masakane I, Wada A, Nakai S, Kanda E, Nitta K, et al. High-performance dialyzers and mortality in maintenance hemodialysis patients. *Sci Rep.* 2021 Jun 10;11(1):12272.
104. Ronco C, La Manna G. Expanded Hemodialysis: A New Therapy for a New Class of Membranes. In 2017. p. 124–33.
105. Storr M, Ward RA. Membrane innovation: closer to native kidneys. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2018 Oct 1;33(suppl_3): iii22–7.
106. Keshaviah P. Technology and clinical application of hemodialysis. In *The principles and Practice of Nephrology*, Jacopson HAR, Striker GE, Klahr S(Eds), BC Decker, Philadelphia 1991. P.740.
107. Hulko M, Haug U, Gauss J, Boschetti-de-Fierro A, Beck W, Krause B. Requirements and Pitfalls of Dialyzer Sieving Coefficients Comparisons. *Artif Organs.* 2018 Dec 3;42(12):1164–73.

108. Temel Nefroloji. Prof. Dr. Yavuz Yeniçeroğlu DDÖG, Prof. Dr. Mustafa Arıcı, editor 2019. 408 p.
109. Suzuki MN, Fregonesi BM, Machado CS, Zagui GS, Kusumota L, Suzuki AK, et al. Hemodialysis Water Parameters as Predisposing Factors for Anemia in Patients in Dialytic Treatment: Application of Mixed Regression Models. *Biol Trace Elem Res.* 2019 Jul 14;190(1):30–7.
110. Munoz Mendoza J, Sun S, Chertow GM, Moran J, Doss S, Schiller B. Dialysate sodium and sodium gradient in maintenance hemodialysis: a neglected sodium restriction approach? *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2011 Apr 1;26(4):1281–7.
111. Kovesdy CP, Regidor DL, Mehrotra R, Jing J, McAllister CJ, Greenland S, et al. Serum and Dialysate Potassium Concentrations and Survival in Hemodialysis Patients. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* 2007 Sep;2(5):999–1007.
112. Eknoyan G, Levin N. NKF-K/DOQI Clinical Practice Guidelines: Update 2000. Foreword. *Am J Kidney Dis.* 2001 Jan;37(1 Suppl 1): S5-6.
113. Eknoyan G, Levin A, Levin NW. Bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *American Journal of Kidney Diseases.* 2003 Oct; 42:1–201.
114. Nalesso F, Claudio R. Dialyzers. In: *Handbook of Dialysis*, Nissensen A, Fine R (Eds), Elsevier, Philadelphia 2017. p.227.
115. Boure T. Which dialyser membrane to choose? *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2004 Feb 1;19(2):293–6.
116. Eduok U, Abdelrasoul A, Shoker A, Doan H. Recent developments, current challenges and future perspectives on cellulosic hemodialysis membranes for highly efficient clearance of uremic toxins. *Mater Today Commun.* 2021 Jun ;27:102183.
117. Mollahosseini A, Abdelrasoul A, Shoker A. A critical review of recent advances in hemodialysis membranes hemocompatibility and guidelines for future development. *Mater Chem Phys.* 2020 Jul; 248:122911.
118. Tzamaloukas AH, Malhotra D, Murata GH. Indicators of body size in peritoneal dialysis: their relation to urea and creatinine clearances. *Perit Dial Int.* 1998;18(4):366–70.
119. Pellegrino D, La Russa D, Marrone A. Oxidative Imbalance and Kidney Damage: New Study Perspectives from Animal Models to Hospitalized Patients. *Antioxidants.* 2019 Nov 28;8(12):594.
120. Ratliff BB, Abdulmahdi W, Pawar R, Wolin MS. Oxidant Mechanisms in Renal Injury and Disease. *Antioxid Redox Signal.* 2016 Jul 20;25(3):119–46.
121. Daenen K, Andries A, Mekahli D, Van Schepdael A, Jouret F, Bammens B. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology.* 2019 Jun 13;34(6):975–91.
122. Cammack, R., 1987. Electron Spin Resonance. In: *The Biochemistry of Plants*, I3. New York: Academic press: 229-57.
123. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med.* 1992 Jun;119(6):598–620.

124. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007 Jan;39(1):44–84.
125. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci.* 2008 Jun;4(2):89–96.
126. Sardesai VM. Role of Antioxidants in Health Maintenance. *Nutrition in Clinical Practice.* 1995 Feb;10(1):19–25.
127. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000 Nov 9;408(6809):239-47. doi: 10.1038/35041687.
128. Ito F, Sono Y, Ito T. Measurement and Clinical Significance of Lipid Peroxidation as a Biomarker of Oxidative Stress: Oxidative Stress in Diabetes, Atherosclerosis, and Chronic Inflammation. *Antioxidants.* 2019 Mar 25;8(3):72.
129. Mugoni V, Postel R, Catanzaro V, De Luca E, Turco E, Digilio G, et al. Ubiad1 Is an Antioxidant Enzyme that Regulates eNOS Activity by CoQ10 Synthesis. *Cell.* 2013 Jan;152(3):504–18.
130. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet.* 1994 Sep;344(8924):721–4.
131. Shinde A, Ganu J, Naik P. Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review. *Journal of Dental and Allied Sciences.* 2012;1(2):63.
132. Karihtala P, Soimi Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS.* 2007 Feb 5;115(2):81–103.
133. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;49(3):481–93.
134. Moslen MT. Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phagocytosis. In 1994. p. 17–27.
135. Espín JC, Soler-Rivas C, Wichers HJ. Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical. *J Agric Food Chem.* 2000 Mar 1;48(3):648–56.
136. Kaur G, Tuli R, Chintamaneni M. Aantioxidat Poteetial of Methaaolic Aad Hydrolyzed Extracts Of Eclipta Alba.
137. Aslan R. Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller-Antioksidanlar [Internet]. 1999. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/291829224>
138. Aydemir B, Sarı EK. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal.* 2009;2(2):56-60.
139. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest Radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi.* 2016;4(1).
140. Sen, Saikat & Chakraborty, Raja. (2011). The role of antioxidants in human health. 10.1021/bk-2011-1883.ch001.
141. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem.* 1969 Nov 25;244(22):6049–55.

142. Keele BB, McCord JM, Fridovich I. Further characterization of bovine superoxide dismutase and its isolation from bovine heart. *Journal of Biological Chemistry*. 1971 May 10;246(9):2875–80.
143. Young IS. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*. 2001 Mar 1;54(3):176–86.
144. Blackney MJ, Cox R, Shepherd D, Parker JD. Cloning and expression analysis of *Drosophila* extracellular Cu Zn superoxide dismutase. *Biosci Rep*. 2014 Dec 1;34(6).
145. Miller AF. Superoxide dismutases: Ancient enzymes and new insights. *FEBS Lett*. 2012 Mar 9;586(5):585–95.
146. Uysal, M., 1998. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidanantioksidan dengelyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*; 11: 336-341.
147. Holmström KM, Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014 Jun 23;15(6):411–21.
148. Baeza S, Vejar N, Gulppi M, Azocar M, Melo F, Monsalve A, et al. new evidence on the role of catalase in *Escherichia coli*-mediated biocorrosion. *Corros Sci*. 2013 Feb; 67:32–41.
149. Lončar N, Fraaije MW. Catalases as biocatalysts in technical applications: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2015 Apr 12;99(8):3351–7.
150. Kirkman HN, Galiano S, Gaetani GF. The function of catalase-bound NADPH. *J Biol Chem*. 1987 Jan 15;262(2):660–6.
151. Zámocký M, Koller F. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Prog Biophys Mol Biol*. 1999 Jun;72(1):19–66.
152. Chelikani P, Fita I, Loewen PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci*. 2004 Jan 1;61(2):192–208.
153. Goyal MM, Basak A. Human catalase: looking for complete identity. *Protein Cell*. 2010 Oct 9;1(10):888–97.
154. Meister A, Anderson ME. GLUTATHIONE. *Annu Rev Biochem*. 1983 Jun;52(1):711–60.
155. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem*. 2005 Oct;16(10):577–86.
156. Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, Tata V De, Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem Pharmacol*. 2003 Oct;66(8):1499–503.
157. Kurokawa T, Kobayashi H, Nonami T, Harada A, Nakao A, Takagi H. Mitochondrial Glutathione Redox and Energy Producing Function during Liver Ischemia and Reperfusion. *Journal of Surgical Research*. 1996 Nov;66(1):1–5.
158. Duffus JH. “HEAVY METALS”-A MEANINGLESS TERM? (IUPAC Technical Report). Vol. 74, *Pure Appl. Chem*. W. A. Temple; 2002.
159. Järup L. Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull*. 2003 Dec 1;68(1):167–82.

160. Farooq, Muhammad & Anwar, Farooq & Rashid, Ts. Dr. Umer. (2008). Appraisal of heavy metals in different vegetables grown in the vicinity of an industrial area. *Pak. J. Bot.* 40. 2099-2106.
161. Bakar C, Baba A, Onsekiz Mart Üniversitesi Ç, Fakültesi T, Sağlık Terzioğlu Yerleşkesi HA, Yüksek Teknoloji Enstitüsü İ, et al. *Metaller Ve İnsan Sağlığı: Yirminci Yüzyıldan Bugüne Ve Geleceğe Miras Kalan Çevre Sağlığı Sorunu Heavy Metals and Human Health: Environmental Health Problem From Twenty Centuries To Future Generation.*
162. Özbolat G, Tuli A. Ağır Metal Toksikitesinin İnsan Sağlığına Etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi.* 2016 Dec 31;25(23783):502–21.
163. Spiro TG, Purvis Roberts KL, Stigliani WM. *Chemistry of the Environment*, 3rd edition. US, University Science Books,1996. In.
164. Mandal BK, Suzuki KT. Arsenic round the world: a review. *Talanta.* 2002 Aug 16;58(1):201–35.
165. Doušová B, Machovič V, Koloušek D, Kovanda F, Dorničák V. Sorption of As (V) Species from Aqueous Systems. *Water Air Soil Pollut.* 2003;149(1/4):251–67.
166. Aliyev V. Plasenta ve anne biyolojik örneklerinde arsenik düzeyinin belirlenmesi ve glutatyon transferaz polimorfizminin arsenik düzeyine etkisi (Doktora tezi). Ankara, Ankara Üniversitesi, 2011.
167. Yağmur F, Hancı İH. Arsenik. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi.* 2002; 11:250-1.
168. Tseng CH, Huang YK, Huang YL, Chung CJ, Yang MH, Chen CJ, et al. Arsenic exposure, urinary arsenic speciation, and peripheral vascular disease in blackfoot disease-hyperendemic villages in Taiwan. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005 Aug;206(3):299–308.
169. Claudio, E. S.; Magyar, J. S.; Godwin, H. A. *Fundamental Coordination Chemistry, Environmental Chemistry, and Biochemistry of Lead (II).* *Prog. Inorg. Chem* 2003; 51, 1-144.
170. Sezgin C. *Otistik Çocuklarda Toksik Ağır Metaller Ve Esansiyel Eser Elementlerin İrdelenmesi [Uzmanlık Tezi]*, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrah Paşa Tıp Fakültesi; 2009.
171. Rooney BL, Hayes EB, Allen BK, Strutt PJ. Development of a screening tool for prediction of children at risk for lead exposure in a midwestern clinical setting. *Pediatrics.* 1994 Feb;93(2):183–7.
172. Willers S, Attewell R, Bensryd I, Schutz A, Skarping G, Vahter M. Exposure to Environmental Tobacco Smoke in the Household and Urinary Cotinine Excretion, Heavy Metals Retention, and Lung Function. *Archives of Environmental Health: An International Journal.* 1992 Oct;47(5):357–63.
173. Kranz BD, Simon DL, Leonardi BG. The behavior and routes of lead exposure in pregrasping infants. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2004 Jul 1;14(4):300–11.
174. Lewendon G. Should children with developmental and behavioural problems be routinely screened for lead? *Arch Dis Child.* 2001 Oct 1;85(4):286–8.

175. Işıklı B, Demir TA, Berber A, Kalyoncu C. Yol Kenarı Toprak ve Bitkilerinde Kurşun Birikimi. VI Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, 414, 1998.
176. Kenntner N, Tataruch F, Krone O. Heavy Metals In Soft Tissue Of White-Tailed Eagles Found Dead Or Moribund In Germany And Austria From 1993 To 2000. *Environ Toxicol Chem.* 2001;20(8):1831.
177. Grandjean P. Health significance of metals-lead. *Maxcy-Rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine* Ed: Last JM, Wallace RB, 13. Baskı: 389- 391, 1992.
178. Schütz A, Olsson M, Jensen A, Gerhardsson L, Börjesson J, Mattsson S, et al. Lead in finger bone, whole blood, plasma and urine in lead-smelter workers: extended exposure range. *Int Arch Occup Environ Health.* 2005 Feb 26;78(1):35–43.
179. Winker R, Ponocny-Seliger E, Rüdiger HW, Barth A. Lead exposure levels and duration of exposure absence predict neurobehavioral performance. *Int Arch Occup Environ Health.* 2006 Feb 9;79(2):123–7.
180. Mameli O, Caria MA, Melis F, Solinas A, Tavera C, Ibba A, et al. Neurotoxic effect of lead at low concentrations. *Brain Res Bull.* 2001 May;55(2):269–75.
181. SAKAI T, USHIO K, IKEYA Y. Mobilized Plasma Lead as an Index of Lead Body Burden and Its Relation to the Heme-related Indices. *Ind Health.* 1998;36(3):240–6.
182. Gökcal AC: Konya Organize Sanayi Bölgesi Arıtma Çamurlarının Ağır Metaller Açısından İncelenmesi ve Değerlendirilmesi. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2014.
183. Kahvecioğlu Ö, Kartal G, Güven A, Timur S: Metallerin çevresel etkileri-I. *Metaller Dergisi.* 136: 47-53, 2009.
184. Demirci R: Manyetik kompozit malzeme hazırlanması ve ağır metal adsorpsiyonunda Kullanımı. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, p.45, 2012.
185. Arslanbaş E: Türkiye’de Organik ve Geleneksel Olarak Üretilen Bazı Hayvansal ve Bitkisel Ürünlerdeki Metal (Kurşun, Kadmiyum, Bakır, Çinko, Demir) Düzeylerinin Karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Ankara, 2010.
186. Örün E, Yalçın S: Kurşun, civa, kadmiyum: çocuk sağlığına etkileri ve temasın belirlenmesinde saç örneklerinin kullanımı. *Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi.* 3(2): 73-81, 2011.
187. Akbal A, Reşorlu H, Savaş Y. Toxic Effects of Heavy Metals on Bone Tissue. *Türk Osteoporoz Dergisi.* 2015 Apr 5;21(1):30–3.
188. Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass. IARC (The International Agency for Research on Cancer) monographs on the evaluation of carcinogenic risk to Humans. 58: 119-238, 1993.
189. Hochadel JF, Waalkes MP. Sequence of exposure to cadmium and arsenic determines the extent of toxic effects in male Fischer rats. *Toxicology.* 1997 Jan;116(1–3):89–98.
190. Cuypers A, Plusquin M, Remans T, Jozefczak M, Keunen E, Gielen H, et al. Cadmium stress: an oxidative challenge. *BioMetals.* 2010 Oct 2;23(5):927–40.
191. Counter SA, Buchanan LH. Mercury exposure in children: a review. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004 Jul;198(2):209–30.

192. Küçükeşmen Ç. Dental amalgamın insan organizması üzerindeki etkileri. *Med J SDU*. 2009;14(3):52-61.
193. Şengül İ: Civa zehirlenmesine dikkat, *Popüler Bilim*.2006; 13: 144.
194. Schutte, N. P., Knight, A. L., & Jahn, O. (1994). Mercury and its compounds. *Occupational medicine*, 3, 549-57.
195. Horowitz Y. Acrodynia: a case report of two siblings. *Arch Dis Child*. 2002 Jun 1;86(6):453–453.
196. Risher JF, Amler SN. Mercury Exposure: Evaluation and Intervention. *Neurotoxicology*. 2005 Aug;26(4):691–9.
197. Ngim CH, Foo SC, Boey KW, Jeyaratnam J. Chronic neurobehavioural effects of elemental mercury in dentists. *Occup Environ Med*. 1992 Nov 1;49(11):782–90.
198. Bayrakçı B. Kronik zehirlenmeler. *Katkı Pediatri Dergisi*. 2001; 431- 49.
199. Langford N, Ferner R. Toxicity of mercury. *J Hum Hypertens*. 1999 Oct 1;13(10):651–6.
200. Önal B: Restoratif Dişhekimliğinde Maddeler Bilgisi. 2001; Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Yayınları No:15. 2.
201. Clarkson TW. The Toxicology of Mercury. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1997 Jan 27;34(4):369–403.
202. Langan DC, Fan PL, Hoos AA. The use of mercury in dentistry: a critical review of the recent literature. *The Journal of the American Dental Association*. 1987 Dec;115(6):867–80.
203. Risher J, World Health Organization., United Nations Environment Programme., International Labour Organisation., Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals., International Program on Chemical Safety. Elemental mercury and inorganic mercury compounds : human health aspects. World Health Organization; 2003. 61 p.
204. Huggins HA, Levy TE. Cerebrospinal fluid protein changes in multiple sclerosis after dental amalgam removal. *Altern Med Rev*. 1998 Aug;3(4):295–300.
205. Mutter J, Naumann J, Schneider R, Walach H, Haley B. Mercury and autism: accelerating evidence? *Neuro Endocrinol Lett*. 2005 Oct;26(5):439–46.
206. NG DK, CHAN C, SOO M, LEE RS. Low-level chronic mercury exposure in children and adolescents: Meta-analysis. *Pediatrics International*. 2007 Feb 22;49(1):80–7.
207. Etzel RA. Environmental Risks in Childhood. *Pediatr Ann*. 2004 Jul;33(7):431–6.
208. Ekstrand J, Björkman L, Edlund C, Sandborgh-Englund G. Toxicological aspects on the release and systemic uptake of mercury from dental amalgam. *Eur J Oral Sci*. 1998 Apr 28;106(2p2):678–86.
209. Jones KC, Bennett BG. Exposure of man to environmental aluminium — an exposure commitment assessment. *Science of The Total Environment*. 1986 Jun;52(1–2):65–82.

210. European Food Safety Authority (EFSA). Safety of aluminium from dietary intake - Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). *EFSA J.* 2008 Jul;6(7):754.
211. WHO (World Health Organization) Aluminium. International programme on chemical safety (IPCS), environmental health criteria 194. Genf: WHO1997. www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc194.htm (last accessed on 13 Feb 2024).
212. Bikbov B, Bieber B, Andrusev A, Tomilina N, Zemchenkov A, Zhao J, et al. Hemodialysis practice patterns in the Russia Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS), with international comparisons. *Hemodialysis International.* 2017 Jul 27;21(3):393–408.
213. Nolan CR, Califano JR, Butzin CA. Influence of calcium acetate or calcium citrate on intestinal aluminum absorption. *Kidney Int.* 1990 Nov;38(5):937–41.
214. Pierides AM, Edwards Jr. WG, Cullum Jr UX, McCall JT, Ellis HA. Hemodialysis encephalopathy with osteomalacic fractures and muscle weakness. *Kidney Int.* 1980 Jul;18(1):115–24.
215. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: S1.
216. Barreto FC, Araújo SMHA, Sociedade Brasileira de Nefrologia. [Aluminium intoxication in chronic kidney disease]. *Jornal brasileiro de nefrologia.* 2011 Apr;33 Suppl 1:21–5.
217. Milliner DS. Use of the Deferoxamine Infusion Test in the Diagnosis of Aluminum-Related Osteodystrophy. *Ann Intern Med.* 1984 Dec 1;101(6):775.
218. Kausz AT, Antonsen JE, Hercz G, Pei Y, Weiss NS, Emerson S, et al. Screening Plasma Aluminum Levels in Relation to Aluminum Bone Disease Among Asymptomatic Dialysis Patients.
219. Clinical Experience with Desferrioxamine in Dialysis Patients with Aluminium Toxicity. *QJM: An International Journal of Medicine.* 1990 Mar
220. Sherrard DJ, Walker J V., Boykin JL. Precipitation of Dialysis Dementia by Deferoxamine Treatment of Aluminum-Related Bone Disease. *American Journal of Kidney Diseases.* 1988 Aug;12(2):126–30.
221. McCauley J, Sorkin MI. Exacerbation of aluminium encephalopathy after treatment with desferrioxamine. *Nephrol Dial Transplant.* 1989;4(2):110–4.
222. Jalili C, Kazemi M, Cheng H, Mohammadi H, Babaei A, Taheri E, et al. Associations between exposure to heavy metals and the risk of chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Toxicol.* 2021 Feb 7;51(2):165–82.
223. Dolar-Szczasny J, Flieger J, Kowalska B, Majerek D, Tatarczak-Michalewska M, Zakrocka I, et al. Hemodialysis Effect on the Composition of the Eye Fluid of Cataract Patients. *J Clin Med.* 2021 Nov 23;10(23):5485.
224. Fevrier-Paul A, Soyibo AK, Mitchell S, Voutchkov M. Role of Toxic Elements in Chronic Kidney Disease. *J Health Pollut.* 2018 Dec;8(20).
225. Ward RA. Dialysis water as a determinant of the adequacy of dialysis. *Semin Nephrol.* 2005 Mar;25(2):102–11.

226. Pirsahab M, Naderi S, Lorestani B, Khosrawi T, Sharafi K. Efficiency of Reverse Osmosis System in the Removal of Lead, Cadmium, Chromium and Zinc in Feed Water of Dialysis Instruments in Kermanshah Hospitals.
227. Wills MR, Savory J. Water content of aluminum, dialysis dementia, and osteomalacia. *Environ Health Perspect.* 1985 Nov; 63:141–7.
228. Jaffe JA, Liftman C, Glickman JD. Frequency of Elevated Serum Aluminum Levels in Adult Dialysis Patients. *American Journal of Kidney Diseases.* 2005 Aug;46(2):316–9.
229. Palaneeswari M S. Blood Lead in End-Stage Renal Disease (ESRD) Patients who were on Maintenance Haemodialysis. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH.* 2012;
230. Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, et al. Single cell gel/comet assay: Guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen.* 2000 Jun 6;35(3):206–21.
231. Dinçer Y, Yıldız A, Kankaya S. DNA hasarının belirlenmesinde Comet assay. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences.* 2010;30(4):1365-73.
232. OECD. Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay. OECD Publishing; 2016.
233. Uno Y, Kojima H, Omori T, Corvi R, Honma M, Schechtman LM, et al. JaCVAM-organized international validation study of the in vivo rodent alkaline comet assay for detection of genotoxic carcinogens: II. Summary of definitive validation study results. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2015 Jul;786–788:45–76.
234. Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1984 Aug;123(1):291–8.
235. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res.* 1988 Mar;175(1):184–91.
236. Olson BJSC, Markwell J. Assays for Determination of Protein Concentration. *Curr Protoc Protein Sci.* 2007 May;48(1).
237. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem.* 1985 Oct;150(1):76–85.
238. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang Y (Lucy), Hendriksen S, et al. Using Standardized Serum Creatinine Values in the Modification of Diet in Renal Disease Study Equation for Estimating Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med.* 2006 Aug 15;145(4):247–54.
239. Stevens LA, Coresh J, Feldman HI, Greene T, Lash JP, Nelson RG, et al. Evaluation of the Modification of Diet in Renal Disease Study Equation in a Large Diverse Population. *Journal of the American Society of Nephrology.* 2007 Oct;18(10):2749–57.

240. Vmnis. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity.
241. Saraf SL, Hsu JY, Ricardo AC, Mehta R, Chen J, Chen TK, et al. Anemia and Incident End-Stage Kidney Disease. *Kidney360*. 2020 Jul;1(7):623–30.
242. Hamza E, Metzinger L, Metzinger-Le Meuth V. Uremic Toxins Affect Erythropoiesis during the Course of Chronic Kidney Disease: A Review. *Cells*. 2020 Sep 6;9(9):2039.
243. Hrستیć I, Ostojić R. [Chronic liver diseases in patients with chronic kidney disease]. *Acta Med Croatica*. 2011;65(4):349–53.
244. Reddy G, Dakshinamurthy K, Neelaprasad P, Gangadhar T, Lakshmi V. Prevalence of HBV and HCV dual infection in patients on haemodialysis. *Indian J Med Microbiol*. 2005;23(1):41.
245. Ray L, Nanda S, Chatterjee A, Sarangi R, Ganguly S. A comparative study of serum aminotransferases in chronic kidney disease with and without end-stage renal disease: Need for new reference ranges. *Int J Appl Basic Med Res*. 2015;5(1):31.
246. Hung K, Lee K, Yen C, Wu K, Tsai T, Chen W. Revised cutoff values of serum aminotransferase in detecting viral hepatitis among CAPD patients: experience from Taiwan, an endemic area for hepatitis B. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1997 Jan 1;12(1):180–3.
247. Al-Wakeel J, Malik GH, Al-Mohaya S, Mitwalli A, Baroudi F, El Gamal H, et al. Liver disease in dialysis patients with antibodies to hepatitis C virus. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1996 Nov 1;11(11):2265–8.
248. Liang J hong, Pu Y qi, Liu M ling, Bao W wen, Zhang Y shan, Hu L xin, et al. Synergistic impact of co-exposures to whole blood metals on chronic kidney disease in general US adults: a cross-sectional study of the National Health and Nutrition Examination Survey 2011–2020. *Environmental Science and Pollution Research*. 2023 Oct 19;30(53):113948–61.
249. Alfrey AC, LeGendre GR, Kaehny WD. The Dialysis Encephalopathy Syndrome. *New England Journal of Medicine*. 1976 Jan 22;294(4):184–8.
250. Orr S, Bridges C. Chronic Kidney Disease and Exposure to Nephrotoxic Metals. *Int J Mol Sci*. 2017 May 12;18(5):1039.
251. Nordberg GF, Goyer R, Nordberg M. Comparative toxicity of cadmium-metallothionein and cadmium chloride on mouse kidney. *Arch Pathol (Chic)*. 1975 Apr;99(4):192–7.
252. Madrigal JM, Ricardo AC, Persky V, Turyk M. Associations between blood cadmium concentration and kidney function in the U.S. population: Impact of sex, diabetes and hypertension. *Environ Res*. 2019 Feb; 169:180–8.
253. Lin YS, Ho WC, Caffrey JL, Sonawane B. Low serum zinc is associated with elevated risk of cadmium nephrotoxicity. *Environ Res*. 2014 Oct; 134:33–8.
254. Park Y, Lee SJ. Association of Blood Heavy Metal Levels and Renal Function in Korean Adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 May 29;19(11):6646.

255. Zalups RK. Autometallographic localization of inorganic mercury in the kidneys of rats: Effect of unilateral nephrectomy and compensatory renal growth. *Exp Mol Pathol.* 1991 Feb;54(1):10–21.
256. Blake KCH, Mann M. Effect of calcium and phosphorus on the gastrointestinal absorption of ²⁰³Pb in man. *Environ Res.* 1983 Feb;30(1):188–94.
257. Podkowińska A, Formanowicz D. Chronic Kidney Disease as Oxidative Stress- and Inflammatory-Mediated Cardiovascular Disease. *Antioxidants.* 2020 Aug 14;9(8):752.
258. Xi-Biao Ye HFJLZ. A Study on Oxidative Stress In Lead-Exposed Workers. *J Toxicol Environ Health A.* 1999 May;57(3):161–72.
259. Zalups RK. Enhanced Renal Outer Medullary Uptake of Mercury Associated with Uninephrectomy: Implication of a Luminal Mechanism. *J Toxicol Environ Health.* 1997 Jan 20;50(2):173–94.
260. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic Kidney disease: global dimension and perspectives. *The Lancet.* 2013 Jul;382(9888):260–72.
261. Hsueh YM, Chung CJ, Shiu HS, Chen JB, Chiang SS, Yang MH, et al. Urinary Arsenic Species and CKD in a Taiwanese Population: A Case-Control Study. *American Journal of Kidney Diseases.* 2009 Nov;54(5):859–70.
262. Palaneeswari M S. Blood Arsenic and Cadmium Concentrations in End-Stage Renal Disease Patients who were on Maintenance Haemodialysis. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH.* 2013;
263. Batuman V. Fifty years of Balkan endemic nephropathy: daunting questions, elusive answers. *Kidney Int.* 2006 Feb;69(4):644–6.
264. Dubois-Deruy E, Peugnet V, Turkieh A, Pinet F. Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. *Antioxidants.* 2020 Sep 14;9(9):864.
265. Russa D La, Pellegrino D, Montesanto A, Gigliotti P, Perri A, Russa A La, et al. Oxidative Balance and Inflammation in Hemodialysis Patients: Biomarkers of Cardiovascular Risk? *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Feb 11; 2019:1–7.
266. Tepel M, Echelmeyer M, Orle NN, Zidek W. Increased intracellular reactive oxygen species in patients with end-stage renal failure: Effect of hemodialysis. *Kidney Int.* 2000 Aug;58(2):867–72.
267. Boaz M, Matas Z, Biro A, Katzir Z, Green M, Fainaru M, et al. Serum malondialdehyde and prevalent cardiovascular disease in hemodialysis. *Kidney Int.* 1999 Sep;56(3):1078–83.
268. Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thévenin M, Jaudon MC, et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med.* 1996 Jan;21(6):845–53.
269. Jin K, Vaziri ND. Salt-sensitive hypertension in mitochondrial superoxide dismutase deficiency is associated with intra-renal oxidative stress and inflammation. *Clin Exp Nephrol.* 2014 Jun 10;18(3):445–52.
270. de Haan JB, Stefanovic N, Nikolic-Paterson D, Scurr LL, Croft KD, Mori TA, et al. Kidney expression of glutathione peroxidase-1 is not protective against

- streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2005 Sep;289(3): F544–51.
271. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Gorny X, Dounousi E, Mertens PR. Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017:1–22.
272. Valentini J, Grotto D, Paniz C, Roehrs M, Burg G, Garcia SC. The influence of the hemodialysis treatment time under oxidative stress biomarkers in chronic renal failure patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2008 Jul;62(6):378–82.
273. Schupp N, Stopper H, Heidland A. DNA Damage in Chronic Kidney Disease: Evaluation of Clinical Biomarkers. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016:1–10.
274. Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafter U, Iaina A, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2000 Oct;356(9237):1213–8.
275. Gandhi G, Tung G. Sensitivity and specificity prediction of the buccal micronucleus cytome assay in end-stage renal disease patients on dialysis: A case-control study. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2017 Oct; 822:1–9.
276. Kan E, Ündeğer Ü, Bali M, Başaran N. Assessment of DNA strand breakage by the alkaline COMET assay in dialysis patients and the role of Vitamin E supplementation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2002 Sep;520(1–2):151–9.
277. Tarng DC, Wen Chen T, Huang TP, Chen CL, Liu TY, Wei YH. Increased Oxidative Damage to Peripheral Blood Leukocyte DNA in Chronic Peritoneal Dialysis Patients. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2002 May;13(5):1321–30.
278. Stopper H, Boullay F, Heidland A, Vienken Jrg, Bahner U. Comet-assay analysis identifies genomic damage in lymphocytes of uremic patients. *American Journal of Kidney Diseases*. 2001 Aug;38(2):296–301.
279. Gandhi G, Mehta T, Contractor P, Tung G. Genotoxic damage in end-stage renal disease. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2018 Nov; 835:1–10.
280. Tung GK, Gandhi G. Baseline and oxidatively damaged DNA in end-stage renal disease patients on varied hemodialysis regimens: a comet assay assessment. *Mol Cell Biochem*. 2023 Apr 1;
281. Drai J, Bannier E, Chazot C, Hurot JM, Goedert G, Jean G, et al. Oxidants and antioxidants in long-term haemodialysis patients. *Il Farmaco*. 2001 Jul;56(5–7):463–5.

8. EKLER

EK-1: Orjinallik Raporu

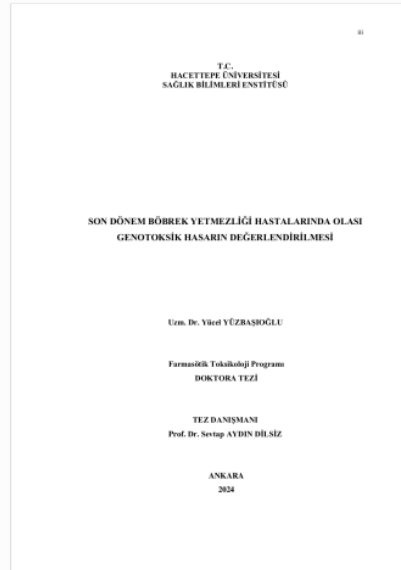


Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Yücel Yüzbaşıoğlu
Ödev başlığı: SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA OLASI GE...
Gönderi Başlığı: SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA OLASI GE...
Dosya adı: Tez_Y_cel_Y_ZBA_IO_LU_benzerlik.pdf
Dosya boyutu: 910.94K
Sayfa sayısı: 96
Kelime sayısı: 25,873
Karakter sayısı: 168,258
Gönderim Tarihi: 23-Şub-2024 04:32ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 2302407991



SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA OLASI GENOTOKSİK HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 17	% 16	% 7	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 8
2	www.ncbi.nlm.nih.gov İnternet Kaynağı	% 1
3	prezi.com İnternet Kaynağı	% 1
4	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<% 1
5	issuu.com İnternet Kaynağı	<% 1
6	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
7	dspace.trakya.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
8	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1

EK-2: Etik Kurul İzin Belgesi

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 / 956
Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 31 MAYIS 2022 SALI
Toplantı No : 2022/09
Proje No : GO 21/884 (Onay Tarihi: 29.06.2021)
Karar No : 2022/09-03

Kurulumuzun 29.06.2021 tarihli toplantısında GO 21/884 kayıt numarası ile onaylanmış olan, Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Sevtap Aydın DİLSİZ'in sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Ayşe Nurşen BAŞARAN, Doç. Dr. Merve HAZAR ile birlikte çalışacakları ve Doç. Dr. Yücel YÜZBAŞIOĞLU'nun doktora tezi olan, GO 21/884 kayıt numaralı "*Son Dönem Böbrek Yetmezliği Hastalarında Olası Genotoksik Hasarın Değerlendirilmesi*" başlıklı projeniz için vermiş olduğunuz 09.05.2022 tarihli sorumlu araştırmacı revizyonu dilekçeniz Kurulumuzun 31.05.2022 tarihli toplantısında görüşülmüş ve Prof. Dr. Ayşe Nurşen BAŞARAN'ın feragat dilekçesi incelenmiş olup, proje ekibinden çıkarılması **uygun bulunmuştur**. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

1. Prof. Dr. G. Burça A	(Başkan)	8. Doç. Dr. Betül Çelebi SALTIK	
2. Prof. Dr. M. Özgür UYANIK	(Üye)	9. Doç. Dr. Hande Güney DENİZ	
3. Prof. Dr. Ayşe Kin İŞLER	(Üye)	10. Doç. Dr. Merve BATUK	(Üye)
4. Prof. Dr. Sibel PEHLİVAN	(Üye)	11. Doç. Dr. Gülten KOÇ	(Üye)
5. Prof. Dr. Nüket Pa	(Üye)	12. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR	
6. Prof. Dr. Tolga YILDIRIM	(Üye)	13. Av. Buket ÇINAR	(Üye)
7. Doç. Dr. H. Tuna Çak El	(Üye)		

EK-3: Anket Formu**ANKET FORMU****SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA OLASI GENOTOKSİK HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ****Çalışma Formu**

Sayın Katılımcı,

“Son Dönem Böbrek Yetmezliği Hastalarında Olası Genotoksik Hasarın Değerlendirilmesi” başlıklı bu araştırma, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji AD tarafından yapılmaktadır. Araştırma son dönem böbrek yetmezliği hastalarında olası çevresel kimyasal maruziyeti olan bölümlerde çalışanlarda erken genotoksik hasar bulgularının saptanması ve bu durumların önlenmeye yönelik alınabilecek tedbirlere katkı amacıyla planlanmıştır. Sizin yanıtlarınızdan elde edilecek sonuçlarla genotoksik hasarın gelişim nedenleri ve önlemeye yönelik öneriler planlanabilecektir. Bu nedenle soruların tümüne ve içtenlikle cevap vermeniz büyük önem taşımaktadır.

Araştırmaya katılmanız gönüllülükesasına dayalıdır. Bu form aracılığı ile elde edilecek bilgiler gizli kalacaktır ve sadece araştırma amacıyla (veya “bilimsel amaçlar için”) kullanılacaktır. **Çalışmaya katılmamayı tercih edebilirsiniz** veya anketi doldururken istemezseniz son verebilirsiniz.

Çalışma formunu yanıtladığınız için teşekkür ederiz.

Çalışma ile ilgili herhangi bir sorunuz olduğunda aşağıdaki kişi(ler) ile iletişim kurabilirsiniz:

Sorumlu Öğretim Üyesi:

Prof Dr SEVTAP AYDIN DİLSİZ

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Araştırma Ekibi

Prof. Dr. A. Nurşen BAŞARAN
 Prof.Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ
 Doç Dr Yücel YÜZBAŞIOĞLU
 ECZ MERVE HAZAR

Çalışmaya katılmayı kabul ediyorsanız aşağıdaki kutucuğu X ile işaretleyiniz ve devam ediniz.

Kabul ediyorum.

Anket Sorular:**Tarih:****Ad Soyad:****Adres (il/ilçe olarak belirtiniz):****Ankarada ne kadarsüredir ikamet etmektesiniz:****Doğum Tarihi:****Boy:** M**Ağırlık:** kg**Meslek:****Sistemik hastalıklar:****Ailede böbrek yetmezliği var mı?****Kaç yıldır böbrek yetmezliği mevcut?****Son dönem böbrek yetmezliği tanısı ne zaman almış?****Hemodiyalize giriyormusunuz? evet () hayır ()****Hemodiyalize giriyorsanız kaç yıldır ve haftada kaç kere giriyorsunuz?****Alkol Kullanımı: evet () hayır () Kaç yıldır:.....****Sigara Kullanımı: evet () hayır () Kaç yıldır:.....****İlaç Kullanımı: evet () hayır () Kaç yıldır:.....****Kullanılan ilaçlar:****Labratuvar değerleri:**

EK-4: Tez Çalışması ile İlgili Yayın



Article

Biomonitoring of Oxidative-Stress-Related Genotoxic Damage in Patients with End-Stage Renal Disease

Yücel Yüzbaşıoğlu ^{1,*}, Merve Hazar ², Sevtap Aydın Dilsiz ³, Çiğdem Yücel ⁴, Mesudiye Bulut ⁵, Serdar Cetinkaya ⁶, Onur Erdem ⁶ and Nursen Basaran ⁷

¹ Department of Emergency Medicine, Ankara Gülhane Training and Research Hospital, Health Sciences University, Ankara 06018, Türkiye

² Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Ağrı Ibrahim Hecen University, Ağrı 04100, Türkiye;

³ Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, Ankara 06100, Türkiye;

⁴ Department of Clinical Biochemistry, Ankara Gülhane Training and Research Hospital, Health Sciences University, Ankara 06018, Türkiye;

⁵ Department of Nephrology, Ankara Gülhane Training and Research Hospital, Health Sciences University, Ankara 06018, Türkiye;

⁶ Department of Pharmaceutical Toxicology, Gülhane Faculty of Pharmacy, Health Sciences University, Ankara 06018, Türkiye;

⁷ Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Başkent University, Ankara 06790, Türkiye;

* Correspondence:



Citation: Yüzbaşıoğlu, Y.; Hazar, M.; Aydın Dilsiz, S.; Yücel, C.; Bulut, M.; Cetinkaya, S.; Erdem, O.; Basaran, N. Biomonitoring of Oxidative-Stress-Related Genotoxic Damage in Patients with End-Stage Renal Disease. *Toxics* **2024**, *12*, 69. <https://doi.org/10.3390/toxics12010069>

Academic Editor: Davor Zeljko and Goran Klobučar

Received: 5 December 2023

Revised: 27 December 2023

Accepted: 12 January 2024

Published: 14 January 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Chronic kidney disease (CKD), a common progressive renal failure characterized by the permanent loss of functional nephrons can rapidly progress to end-stage renal disease, which is known to be an irreversible renal failure. In the therapy of ESRD, there are controversial suggestions about the use of regular dialysis, since it is claimed to increase oxidative stress, which may increase mortality in patients. In ESRD, oxidative-stress-related DNA damage is expected to occur, along with increased inflammation. Many factors, including heavy metals, have been suggested to exacerbate the damage in kidneys; therefore, it is important to reveal the relationship between these factors in ESRD patients. There are very few studies showing the role of oxidative-stress-related genotoxic events in the progression of ESRD patients. Within the scope of this study, genotoxic damage was evaluated using the comet assay and 8-OHdG measurement in patients with ESRD who were undergoing hemodialysis. The biochemical changes, the levels of heavy metals (aluminum, arsenic, cadmium, lead, and mercury) in the blood, and the oxidative biomarkers, including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), and malondialdehyde (MDA) levels were evaluated, and their relationship with genotoxic damages was revealed. Genotoxicity, oxidative stress, and heavy-metal levels, except mercury, increased significantly in all renal patients. DNA damage, 8OHdG, and MDA significantly increased, and GSH significantly decreased in patients undergoing dialysis, compared with those not having dialysis. The duration and the severity of disease was positively correlated with increased aluminum levels and moderate positively correlated with increased DNA damage and cadmium levels. In conclusion, this study revealed that the oxidative-stress-related DNA damage, and also the levels of Al and Cd, increased in ESRD patients. It is assumed that these changes may play an important role in the progression of renal damage. Approaches for reducing oxidative-stress-related DNA damage and heavy-metal load in ESRD patients are recommended.

Keywords: end-stage renal disease; dialysis; heavy metals; DNA damage; oxidative stress

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Yücel YÜZBAŞIOĞLU