



**T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KRONİK BÖBREK HASTALIKLI BİREYLERDE GEÇ VE CİDDİ
SEKONDER HİPERPARATİROİDİZME BAĞLI GELİŞEN KAFA VE YÜZ
DEĞİŞİKLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. İsmail YILDIZ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Yahya SAĞLIKER

TF2008LTP13

ADANA- 2008

TEŞEKKÜR

Hekimliğe başladığım ilk günden itibaren bana güvenen ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli hocam Prof.Dr.Yahya Sağlıker 'e, asistanlık hayatım sırasında eğitimime katkısı olan başta Anabilimdalı başkanımız Prof.Dr.Hikmet Akkız olmak üzere tüm değerli hocalarıma ve bu süre zarfında beraber çalıştığımız bütün mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalışmamın bütün aşamalarında büyük bir özveri ile katkıda bulunan Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilimdalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Osman Demirhan'a, Dok.Öğr.Deniz Taştanir ve Öğr.Gör.A.İrfan Güzel'e, tezimin gelişme aşamalarında değerli ve yeni önerileri ile katkıda bulunan Prof.Dr. Tamer Tetiker'e, bugüne kadar maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen canımdan çok sevdiğim aileme, sevgili eşim ve biricik kızıma teşekkür ederim.

Dr.İsmail YILDIZ

Adana-2008

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLolar LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
KISALTMALAR LİSTESİ.....	VI
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT.....	X
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kronik Böbrek Hastalığı Tanımı, Evreleri ve Nedenleri	2
2.2. Kronik Böbrek Hastalığı Fizyopatolojisi ve klinik özellikler.....	4
2.2.1. Kronik Böbrek Hastalığında Sodyum Metabolizması	5
2.2.2. Kronik Böbrek Hastalığında Potasyum Metabolizması	5
2.2.3. Kronik Böbrek Hastalığında Su Metabolizması	6
2.2.4. Kronik Böbrek Hastalığında Asit Metabolizması	7
2.2.5. Kronik Böbrek Hastalığında Üre ve Kreatinin Metabolizması	8
2.2.6. Kronik Böbrek Hastalığında Anemi	9
2.2.7. Kronik Böbrek Hastalığında Trombositler	10
2.2.8. Kronik Böbrek Hastalığında Kardiyovasküler Bozukluklar	10
2.2.9. Kronik Böbrek Hastalığında Gastrointestinal Problemler	11
2.2.10. Kronik Böbrek Hastalığında Dermatolojik Problemler	12
2.2.11. Kronik Böbrek Hastalığında Nörolojik Problemler.....	12
2.2.12. Kronik Böbrek Hastalığında Endokrinolojik Problemler.....	13
2.2.13. Kronik Böbrek Hastalığında Kalsiyum ve Fosfat Metabolizması.....	14

2.2.14. Kronik Böbrek Hastalığının Kalsiyum Metabolizması Üzerine Etkisi	16
2.2.15. Kronik Böbrek Hastalığının Fosfat Metabolizması Üzerine Etkileri.....	20
2.2.16. Kronik Böbrek Hastalığında Vitamin D Metabolizması.....	24
2.2.17. Sağliker sendromu.....	25
2.2.18. GNAS 1 geni.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	36
3.1 Hormonal, Biyokimyasal Parametreler.....	36
3.2 Radyolojik Parametreler	36
3.3.Sitogenetik Çalışmalar.....	37
3.3.1. 72 Saatlik Kan Kültürünün yapılışı ve Kromozomların Analizi	37
3.4. Moleküler Çalışmalar.....	38
3.4.1. DNA eldesi	38
3.4.1.1. Doymuş Tuz Çözeltisi ile Çöktürme Yöntemi ile Kandan DNA izolasyonu.....	38
3.4.1.2. GNAS 1 Geni Ekzon 7 ve Ekzon 13’ deki olası mutasyonların Dizi Analizi ile Tespiti.....	39
4. BULGULAR	43
4.1. Hormonal ve Biyokimyasal Bulgular	43
4.2. Radyolojik Bulgular.....	47
4.3.Sitogenetik Bulguları.....	48
4.4.Moleküler Genetik Bulguları	53
5. TARTIŞMA	57
SONUÇLAR	61
KAYNAKLAR	63
EKLER	66
EK-1. DNA izolasyonunda Kullanılan Çözeltiler.....	66
EK-2. Sitogenetik Çalışmalarda Kullanılan Besiyeri ve Çözeltiler	68
ÖZGEÇMİŞ	69

TABLÖLAR LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: KBH belirti ve bulguları	2
Tablo 2: Kronik böbrek hastalığı evreleri	3
Tablo 3: Kronik böbrek hastalığı nedenleri	4
Tablo 4: Sağliker sendromu kriterleri	26
Tablo 5: Sağliker sendromu evreleri.....	28
Tablo 6: Sağliker sendromlu hastaların nörolojik bulgular.....	30
Tablo 7: Sağliker sendromlu hastalarda radyolojik bulgular.....	33
Tablo 8: Hasta sonuçları.....	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. KBH' da kemik, kalsiyum ve fosfor anormalliklerinin gelişim şeması	15
Şekil 2. Kalsiyumun hücre içinde uyardığı yollar.....	16
Şekil 3. PTH' un kalsiyum üzerine etkisi.....	18
Şekil 4. Epitel hücrelerinden kalsiyum transportu.....	19
Şekil 5. NaPi taşıyıcı proteinlerin çalışma mekanizmaları.....	21
Şekil 6. Böbrek proksimal tübüllerin epitel hücrelerinde PTH' un NaPi-IIa taşıyıcı proteinlerinin yoğunluğunu belirleme mekanizmaları.....	22
Şekil 7. Sağliker sendromlu hastaların eski ve yeni fotoğrafları	27
Şekil 8. Normal insan ve Sağliker sendromlu hastanın sefalometri görüntüleri	28
Şekil 9. Ciddi klas II maloklüzyonu olan Sağliker sendromlu hastalar	29
Şekil 10. Sağliker sendromlu hastaların yüz görünüşleri	31
Şekil 11. Sağliker sendromlu hastaların yüz görünüşleri	32
Şekil 12. GNAS 1 geninin 20. kromozom üzerindeki lokalizasyonu	35
Şekil 13. GNAS 1 geni ekzon 7 ve ekzon 13'ün dizi analizinde kullanılan primerler..	39
Şekil 14. GNAS 1 geni ekzon 7 ve ekzon 13 için (a) optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR reaksiyonu ve (b) ısı döngüleri	40
Şekil 15. (a) Dizi analizinde kullanılan reaksiyon karışımı ve (b) Thermal cycler programı	41
Şekil 16. Sağliker sendromlu bir hastanın kemik dansitometrisi.....	47
Şekil 17. Hastaların karyotip sonuçları	48
Şekil 18. Hastaların 1. derece yakınlarının karyotip sonuçları	49
Şekil 19. Hasta ve yakınlarında görülen kromozom anomalilerinden bazıları.....	52
Şekil 20. BLAST veri tabanına göre elde edilen görüntüler	54
Şekil 21. Ekzon 7 ve Ekzon 13' e ait kısmi elektroforegram görüntüleri.....	55

KISALTMALAR LİSTESİ

- KBH** : Kronik böbrek hastalığı
- GFO** : Glomeruler filtrasyon oranı
- ABD**: Amerika Birleşik Devletler
- PTH**: Parathormon
- Hb** : Hemoglobin
- HT** : Hipertansiyon
- BUN**: Kan Üre Azotu
- EEG**: Elektroensefalografi
- TSH** : Tiroid Stimulan Hormon
- pH** : Hidrojen iyonlarının eksi logaritması
- H⁺** : Hidrojen iyonu
- Hb** : Hemoglobin
- LDL** : Low Density Lipoprotein
- IDL** : Intermediate Density Lipoprotein
- HDL** : High Density Lipoprotein
- VLDL** : Very Low Density Lipoprotein
- BLAST** : Basic Local Alignment Search Tool
- PCR** : Polimeraz Chain Reaxion
- Ca⁺²** : Kalsiyum iyonu
- Pi** : Fosfor iyonu
- CaSR**: kalsiyuma duyarlı reseptör
- FGF23**: Fibroblast büyüme faktörü 23
- PHEX** : fosfat düzenleyici gen
- MEPE** : Matriks ekstraselüler fosfoglikoprotein
- DMP 1** : Dentin matriks protein 1

PKC : Protein kinaz C

cAMP: siklik adenozinmonofosfat

VDR: Vitamin D reseptörü

DNA : Deoksiribonükleik asit

sT₃ : Serbest T₃

sT₄ : Serbest T₄

FSH: Folikül Stimulan hormon

GH : Growth Hormon

LH: Luteinizan Hormon

ALP : Alkalen Fosfataz

ÖZET

Kronik Böbrek Hastalıklı Bireylerde Geç ve Ciddi Sekonder Hiperparatiroidizme Bağlı Gelişen Kafa ve Yüz Değişikliklerinin Değerlendirmesi

Giriş ve Amaç: Kronik böbrek hastalığının ilerlemiş ve geç bir sonucu olarak ortaya çıkan sekonder hiperparatiroidizm ve bunun özel bir klinik durumunu belirten Sağlıker sendromunun etyopatogenezinin açıklığa kavuşturulması amacıyla bu çalışma düzenlenmiştir. Bu konuda elimizde varolan demansratif ve radyolojik en yeni bilgilerin 30 yıl öncesine dayanması böyle bir çalışmaya günümüzde ihtiyaç olduğunun bir göstergesidir.

Materyal ve Metod : Aslında uluslar arası olan (Hindistan, Malezya, Mısır, Romanya,Çin ve Tayvan) ve 45 hastayı kapsayan bu çalışmaya bu aşamada yurtiçinden yakın bölgelerden ulaşılabilen sadece 15 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların 4'ü bayan ve 11' i erkekti. Çalışmaya katılan hastalardan alınan serum örneklerinden Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi merkez biyokimya laboratuarında Parathormon, serbest T₃, serbest T₄, Tiroid Stimulan Hormon, kalsitonin, alkalen fosfataz, kalsiyum, fosfor, Folikül Stimulan Hormon, Luteinizan Hormon, Total testosteron, büyüme hormonu, D vitamini ve Hemoglobin elektroforezi çalışılmıştır. Hastaların osteoporoz açısından değerlendirilmesi için kemik dansitometrisi ölçümleri yapılmıştır. Hastalardan ve hastanın 1. derece yakınlarından venöz kan örneği alınarak kromozom defektlerinin araştırılması amacıyla sitogenetik analiz yapılmıştır. Ayrıca aynı örnekten akondroplazilerde görülen GNAS 1 gen mutasyonunun araştırılacağı moleküler genetik çalışması yapılmıştır. Heriki çalışmanın yürütülmesi Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilimdalı ile İç Hastalıkları Nefroloji kliniği tarafından ortak olarak yapılmıştır.

Sonuçlar: Tahminen 4 yıl sürmesi planlanan bu geniş ve uluslararası çalışmanın ilk aşamasında Sağlıker sendromlu hastalarda kemik deformasyonlarının sebebi olarak suçlanan 25-OH Vitamin D₃ eksikliği görülmemiştir. Yine bu aşamada bu tip hastalarda gelişme geriliğine neden olduğu düşünülen tiroid fonksiyon bozukluğu yoktur. Bu hastalarda epifiz hatlarının erken kapanmasına yol açabilecek herhangi bir eşey hormon bozukluğu saptanmamıştır. Yine bu aşamada bu sendromlu hastalarda sekonder hiperparatiroidizmin bir sonucu olan osteoporoz bulunmuştur. Moleküler ve genetik çalışmalarda hastalarımızda ve birinci derece yakınlarında major

kromozom defekti olmadığı görülmüştür. En son olarakda bu sendrom bulunan hastalarda akondroplazilerde görülen GNAS 1 gen mutasyonuna rastlanmamıştır.

Tartışma: Sagliker sendromu literatüre 2000 yılında girmiş olan ve sıklığı % 0,5 olarak bildirilen yeni bir sendromdur. Sendroma neden olan faktörler henüz kesin olarak bilinmemekte ve bu konuda halen çalışmalar devam etmektedir. Bizim çalışmamızda da bu amaca yönelik olarak bakılan kromozom defektları ve GNAS 1 gen mutasyonu yönünden bu sendromlu hastalarda patoloji saptanmamıştır. Sendroma yol açabileceği ileri sürülen hormonal ve biyokimyasal parametrelerinde normal bulunması bu sendromun gerçek nedeninin tespiti için yeni araştırmalar gerektiğinin bir göstergesidir. Bu son aşamada hastalarda bulunan osteoporozun temel nedeninin sekonder hiperparatiroidi ve bunun yetersiz tedavisi olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle sendromun gelişimini önlemek amacı ile mutlaka hastaların erken ve yeterli tedavi edilmeleri gerekmektedir. Bu bir olmazsa olmaz insanlık görevidir.

Anahtar sözcükler: Kronik böbrek hastalığı, sekonder hiperparatiroidi, Sagliker sendromu, sitogenetik analiz, GNAS 1 gen mutasyonu, endokrin değişiklikler, dansitometrik çalışma.

ABSTRACT

The Evaluation of Uglyfying Head and Face Appearances in Late and Severe Secondary Hyperparathyroidism in Chronic Renal Disease

Aim: This study was designed for trying to explain the possible pathogenesis of secondary hyperparathyroidism which occurs in late and severe chronic renal disease as a unique entity called Sagliker syndrom. Our knowledge about skull and face differences in late and severe secondary hyperparathyroidism has stil been based on the thirty years earlier' s textbooks. This old definitions shows that there is a very big necessity for new investigations about secondary hyperparathyroidism.

Material and Methods : Essentially this is an international study and contains 45 patients from different parts of the globe such as (Turkey, India, Maleysia, Romania, Egypt, China and Taiwan) and we only could include 15 patients who have arrived easily from our near region. We included 4 females and 11 males patient into our study. Serum samples taken from patients examined at Cukurova University Medical School Central Biochemistry Laboratory for parathyroid hormone, free T₃ and T₄, Thyroid Stimulating Hormone, calcitonin, alkalen phosphatase, calcium, phosphorus, Follicul Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone, total testosteron and vitamin D . Evaluation of patients for osteoporosis was made by Cukurova University Medical School Radiology Department with bone densitometer device. We have taken additional serum samples from patients and their first degree relatives to investigate particularly major chromosom abnormalities by cytogenetic analyses. In an additional study we also have examined the same samples for GNAS 1 gene mutation which was published to be responsible for achondroplasies especially McCune-Albright syndrome. Both two studies were performed by Cukurova University Medical School Medical Biology and Genetic Department and Cukurova University Medical School Nephrology Department.

Results: We have thought this wide and international study to continuefor four years. At first stage there was no striking results at all for vitamin D deficiency which has been so far thought to be responsible for bone deformities in Sagliker syndrome. Again at this stage of the study we

didn't find any thyroid function defect which could be responsible for growing deficiency for this syndrome. We didn't also find any sex hormone disease that produce early cicatrization of epyphysis in this syndrome. But as expected we have shown osteoporosis which has been thought to be caused by secondary hyperparathyroidism almost in all syndrome patients. More importantly again at least at this early first stage we couldn't find any chromosomal abnormalities in patients and their first degree relatives in cytogenetical studies. And moreover lastly again as a second step we didn't found GNAS 1 gene mutation in our patients at all.

Discussion: This new entity called Sagliker syndrome was published in 2000 first for the frequency around % 0,5 in the mentioned poor and miserable patients. The exact causes of this entity are not totally understood yet and new studies are underway and going on about this goal. In our study we didn't find any preliminary chromosomal abnormality and GNAS 1 gene mutations. Almost all the hormonal and biochemical causes were ruled out by our study. This finding shows that we need some new studies at this subject to enlighten real pathogenesis. We thought the cause of osteoporosis and bone diseases in those patients was severe, late and untimely late treatment modalities particularly due to monetary deficiencies, socioeconomic insufficiencies and moreover unwanted –innocent but unfortunately iatrogenic mistreatments for secondary hyperparathyroidism. Treatments must start as early and proper as possible by the skilled personnel in sophisticated medical centers with the most advanced technologically designed medical novel tools. And this is a sine qua non humanity task.

Key words : Chronic renal disease, secondary hyperparathyroidism, Sagliker syndrome, endocrinologic abnormalities, densitometric studies, cytogenetic analyses, GNAS 1 gene mutation.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kronik böbrek hastalığına (KBH) bağlı olarak gelişen kemik ve kafa değişiklikleri uzun zamandır bilinmektedir ancak bu konuya ait literatür bilgileri özellikle demansratif ve radyolojik anlamda otuz yıl öncesine dayanmaktadır^{1,2,3}. Otuz yıldır ihmal edilmiş olan kafa değişiklikleri konusunda son sekiz yıldır Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji bilimdalı tarafından önemli çalışmalar yapılmış ve konunun bilinmeyen yönleri araştırılmaya başlanmıştır. Öncelikle son sekiz yılda yapılan çalışmalarla hastalarda daha önce tarif edilmemiş olan yüz ve çene değişiklikleri, boy kısalığı, ağır diş anomalileri, nörolojik bozukluklar, psikiatrik bozukluklar ve işitme bozuklukları tespit edilmiş ve bunların tamamı yeni bir sendrom olarak ele alınmıştır.

Bu sendrom özellikle gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde görülmektedir ve sıklığı % 0,5 olarak bildirilmiştir. Sendromun etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır ancak buna yönelik çalışmalar devam etmektedir. Özellikle geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde görülmesi nedeniyle öncelikle yetersiz medikal tedavi ve hemodiyalize geç başlanması suçlanmaktadır. Ayrıca sendroma yol açabileceği düşünülen orak hücreli anemi, talasemi, kretenizm, akromegali, vitamin D eksikliği gibi faktörlerinde klinik çalışmalarının yapılması planlanmıştır.

Son olarak sendroma neden olabilecek genetik anomaliler araştırılmaya başlanmış ve buna yönelik olarak yapılan sitogenetik analizde sendrom görülen hastalar ve birinci derece yakınlarında major kromozom anomalisi saptanmamıştır. Bundan sonraki aşamada hastalarda gen düzeyinde patolojilerin araştırılması kararlaştırılmış ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilimdalı ile birlikte çalışma yapılmasına karar verilmiştir. Sendromun daha çok iskelet sistemi üzerinde değişiklikler yaparak ortaya çıkardığı klinik tablo düşünülerek iskelet sisteminin genetik hastalıkları öncelikle ele alınmıştır. Akondroplaziler bu genetik hastalıkların en önde gelen kısmını oluşturmaktadır ayrıca Hindistan'da bu sendromlu vakaların bildirildiği bir bölgeden Akondroplazili hastalarında bildirilmiş olması bu şüphelerimizi sanki doğrular nitelikte görünmektedir. Tüm bunlar göz önüne alınarak akondroplazilerde görülen genetik anomalilerden GNAS 1 genindeki mutasyonların araştırılması gerçekleştirilmiş ve hemen akabinde de karyotip çalışmaları planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Böbrek Hastalığı Tanımı, Evreleri ve Nedenleri

Kronik böbrek hastalığı, çeşitli nedenlere bağlı olarak nefronların progresif ve irreversibl kaybı ile karakterize olan bir sendromdur⁴. Glomeruler filtrasyon oranındaki (GFO) azalmanın hızı 3-6 aydan daha uzundur. GFO, genellikle yıllar içinde azalır. Böbrek yetmezliği olan bir hastada; üç aydan uzun süren azotemi, uzun süreli üremik belirti ve bulgular, renal osteodistrofi belirti ve bulguları, anemi, hiperfosfatemi, hipokalsemi, idrar sedimentinde geniş silindirler ve radyolojik incelemede bilateral küçük böbrekler kronik hastalık göstergeleridir⁴. Bu özellikler kronik böbrek yetmezliğini akut böbrek yetmezliğinden ayırır. (Tablo 1)

Tablo 1. KBH belirti ve bulguları

	KBH’ da klinik belirti ve bulgular
1	Böbrek hastalığı bilinen bir hastada üç aydan uzun süren azotemi
2	Renal osteodistrofi, Sekonder hiperparatiroidizm
3	Anemi, Hipokalsemi, Hiperfosfatemi
4	Hipertansiyon
5	Üremik sendrom bulguları (kanama, perikardial efüzyon, nörolojik bulgular gibi)
6	Radyolojik incelemede bilateral küçük böbrekler
7	İdrar sedimentinde geniş silindirler

Klinik açıdan KBH, asemptomatik böbrek fonksiyon azalmasından üremiye kadar değişen bir spektrum gösterir. Aslında böbrek yetmezliğinin evreleri birbiri içine girmiş olup kesin sınırlarla ayrılması mümkün değildir. Ancak fonksiyonel değişikliklere göre evrelendirmek klinik açıdan yararlıdır. Böbrek hastalığının evreleri Tablo 2 de gösterilmiştir.

Tablo 2. Kronik Böbrek Hastalığı Evreleri²

EVRE	Glomeruler Filtrasyon Oranı (%)
Evre 0 Normal	100
Evre 1 KBH	≥ 90
Evre 2 KBH	60- 89
Evre 3 KBH	30- 59
Evre 4 KBH	15- 29
Evre 5 KBH	< 15

Kronik böbrek hastalığının erken evresinde sadece böbreğin fonksiyonel rezervinde azalma vardır. Böbreğin regulatuar, biyosentez ve ekskresyon fonksiyonları genellikle iyi olduğu için klinik belirti ve bulgu yoktur. Orta evrede azotemi oluşur ve anemi gibi bazı klinik belirtiler ortaya çıkabilirse de çoğunlukla hastalar asemptomatiktir. Ancak, infeksiyon, hipovolemi, obstrüksiyon ve nefrotoksik ilaç kullanımı gibi araya giren akut stresler hastayı hızla üremik tabloya sokar. Reversibl faktörlerin düzeltilmesiyle hasta sıklıkla eski durumuna döner. İleri evre böbrek yetmezliğinde GFO % 30' un altındadır. Böbreğin regulatuar, biyosentez ve ekskresyon fonksiyonlarının büyük ölçüde bozulması, halsizlik, noktüri ve kemik ağrıları gibi klinik belirti ve bulguların ortaya çıkmasına neden olur. Son dönem böbrek hastalığında, böbrek fonksiyonlarının ileri derecede kaybı sonucunda giderek artan azotemi ve hemen hemen her organ sistemi ile ilgili belirti ve bulgular ortaya çıkar. Terminal dönemde ortaya çıkan bu klinik sendrom üremi olarak tanımlanır⁴.

Kronik böbrek hastalığının çok çeşitli nedenleri vardır. Toplumlar arasında büyük değişkenlikler görülür. Genel olarak en sık görülen nedenler arasında kronik glomerulonefritler, diyabetik nefropati, hipertansiyon, polikistik böbrek hastalığı, obstrüktif üropati ve interstisyel nefritler yer alır⁴. Hastaların önemli bir kısmı hekime üremik tablo ile başvurduğu için temelde yatan hastalığın bulunması böbrek biyopsisi yapılması halinde bile mümkün olmayabilir. Ülkemizde de bu grubun oranı halen yüksek seyretmektedir.

Kronik böbrek hastalığının ABD’ de en sık rastlanılan nedenleri diyabetik nefropati ve hipertansiyon iken diğer ülkelerin çoğunda glomerulonefritler ve pyelonefrit/interstisyel nefritler gelmektedir⁴. Avusturalya da ise analjezik nefropatisi önemli bir hastalık olarak görünmektedir. Ülkemizde son yıllarda yapılan çalışmalarda. KBH’ lı olguların % 30’ unda etiyolojinin belirsiz olduğu, önde gelen belirli nedenler arasında sırasıyla kronik glomerulonefrit, kronik pyelonefrit/interstisyel nefrit, hipertansiyon ve diyabetik nefropatinin bulunduğu dikkati çekmiştir. KBH’ nın çeşitli ülkelerdeki nedenleri Tablo 3’ de gösterilmiştir.

Tablo 3. Kronik Böbrek Hastalığı Nedenleri⁴

Hastalık	Avrupa %	ABD %	Türkiye%
Glomerulonefrit	25	17	20.7
Diyabetes Mellitus	12	33	9.4
Hipertansiyon	10	29	13.2
Polikistik Böbrek Hastalığı	8	4	3.3
Analjezik nefropatisi	2	1	0.7
Pyelonefrit/interstisyel nefrit	17	?	19.7
Nedeni belirsiz	15	15	29.9

2.2. Kronik Böbrek Hastalığının Fizyopatolojisi ve Klinik Özellikleri

Canlılarda böbrek dokusunda azalma olduğu zaman geri kalan nefronlarda bir adaptasyon oluşur. Sağlam kalan nefronlarda hipertrofi ve glomerüler filtrasyonda artma olur. Nefrektomiye takiben geri kalan böbrek dokusu renal plazma akımının %80’ ini alır⁴. Hücre kitlesindeki en belirgin artış proksimal tübüllerde olmasına karşın, tüm nefron hipertrofiye olur. Tek nefron glomerüler filtrasyon oranı artarak diğer nefronların yapamadığı görevi yüklenmiş olur. Hayvan deneylerinde böbreğin bir kısmının çıkarılmasını takiben geri kalan böbrekte büyüme, glomerüllerde hipertrofi ve GFO de artma gözlenmiştir. Aslında tek bir nefrondaki GFO artışı hastanın yaşamı için kısa dönemde yararlı olsa da nefronların yaşam sürelerini kısaltmaktadır. GFO artışı olan nefronlarda intrakapiller basınç artmıştır, bu durum glomerüllerin tedrici olarak skleroza gitmelerine neden olacaktır. Bu nedenle skleroza gidişi hızlandırabilecek olan sistemik

hipertansiyon, hiperlipidemi, proteinüri, hiperglisemi, nefrotoksik ilaçlar ve diğer etkenlerin klinik olarak süratle kontrol altına alınması gerekmektedir.

2.2.1. Kronik Böbrek Hastalığında Sodyum Metabolizması

Normalde glomerülden filtre olan sodyumun %70' i proksimal tübülden, %15' i henle kulpundan, %10' u distal tübülden reabsorbe olur⁴. Ancak filtre olan sodyumun %1' i toplayıcı tübüllere gider⁴. Bilindiği gibi üre yüksekliği osmotik diürez yapar, total vücut volümünde artmayla birlikte zaten artmış olan tek nefrondaki GFO sonucu proksimal tübülden reabsorbe edilen sodyum ve su miktarında artış meydana gelir fakat bu miktar glomerülden filtre edilen yük ile orantılı değildir. Sonuçta normalden deha fazla miktarda sodyum ve su henle kulpuna ve distal tübüllere gelir. Böylece reabsorbe edilen absolü sodyum miktarı azalır, idrarla kaybedilen miktar artar. Yani her KBH' lı hastada bir miktar sodyum kaybı vardır ancak bu kayıp hastadan hastaya ve renal hastalığın derecesi ve cinsine bağlı olarak değişir⁴. Normal şartlar altında serum sodyum miktarı 129 mEq/L altında ise idrarla sodyum kaybedilmez. Eğer hastada bulantı ve kusma mevcutsa veya diyetteki tuz alımı kısıtlanmışsa kolaylıkla hiponatremi gelişebilir. Bu tablo bilhassa tuz kaybettiren nefriti olan olgularda daha kolaylıkla ve kısa sürede gelişir. KBH eğer özellikle tübüler sistemi etkileyen tübülointerstisyel nefrit, polikistik böbrek hastalığı, medüller kistik böbrek hastalığı veya obstrüktif üropati gibi nedenlere bağlıysa tübüler sistemdeki hasarın derecesine bağlı olarak hiponatremi gelişme riski daha fazla olur⁴. Hiponatremi ciddi ekstraselüler volüm eksikliğine neden olarak yavaş gelişen GFO azalmasına dolayısı ile renal fonksiyonların daha da bozulmasına yol açar. Bu durumdaki hastalara uygun miktarda su ve tuz verilerek hiponatremi düzeltilecek olursa hastanın renal fonksiyonlarında bir miktar düzelme gözlenecektir. Bu olaylar genellikle KBH' nın erken evrelerinde görülür. Böbrek hastalığının derecesi ilerledikçe böbreğin sodyum atma kapasitesi azalır ve hastalar kolaylıkla konjestif kalb yetmezliğine veya aşırı derecede sıvı yüklenmesine maruz kalabilirler.

2.2.2. Kronik Böbrek Hastalığında Potasyum Metabolizması

Total vücut potasyumunun %98' i hücre içinde bulunur ve hücre içi konsantrasyonu 150-160 mEq/L' dir⁴. Böbrek potasyum atılımını çok iyi ayarlayabilen bir organdır. Kronik potasyum eksikliği durumlarında idrarla çıkan potasyum miktarı 5 mEq/L' ye iner. Fazla potasyum alımında ise 100 mEq/L' ye çıkar. Glomerülden filtre olan potasyumun %80-85' i proksimal

tübülden reabsorbe olur, sadece %10-15' i distal tübüllere ulaşır⁴. Diyetle günlük potasyum alımı yaklaşık olarak 80 mEq civarındadır, normal şartlar altında 70 mEq idrarla, 10 mEq ise dışkı yolu ile atılır. Terle kaybedilen miktar önemsizdir. KBH olan hastada renal hastalığın derecesi arttıkça dışkı ile atılan potasyum miktarı artarak oral yoldan alınan miktarın % 30-35' ini elimine eder hale gelir. Vücutta potasyum dengesini böbrek kontrol eder. Böbrek hastalığının erken dönemlerinde potasyum atılımı oldukça normaldir. Hiperkalemi ancak ileri evre renal hastalıkta idrar miktarı 500 ml' nin altına düştüğü zaman problem olmaya başlar. Ancak erken dönem böbrek hastalığında renal medullayı tutan bir patoloji varsa hiperkalemi görülebilir. KBH' da potasyum atılımı dolaşımda artmış olan aldosteronun da etkisi ile toplayıcı tüplerden olmaktadır⁴.

2.2.3. Kronik Böbrek Hastalığında Su Metabolizması

Üremide renal tübül içinde artmış olan üre ve diğer ozmotik olarak aktif metabolitler glomerül filtratının reabsorbsiyonunu azaltarak ozmotik diürece neden olurlar. Bu nedenle KBH gelişirken hastalarda genellikle poliüri ve polidipsi görülür. Bu durum kendini erken dönemlerde noktüri olarak belli eder. Normalde gece oluşan idrar miktarı mesane kapasitesini aşmadığı için kişi aşırı sıvı almadıkça gece idrara çıkılmaz. Halbuki üre yükseldiği zaman ozmotik diürez ilk önce noktüri olarak farkedilir, olay ilerledikçe hastanın günde 2-3 L civarında sıvı aldığı ve çıkardığı görülür⁴. Bu durum sıklıkla yavaş gelişen KBH olanlarda izlenir. Böbrek hastalığı ilerledikçe idrar ozmolaritesi glomerül filtratı ile aynı olur. Bu durum izostenüri olarak adlandırılır ve ileri dönem böbrek hastalığının göstergesidir⁴. Bu durumdaki hastaların kreatinin klirensleri genellikle 10-30 ml/dk arasındadır. Kreatinin klirensi daha fazla düştüğü zaman bu hastalara sıvı yüklemesi yapılırken çok dikkatli olunmalıdır. İleri dönem KBH hastalarında kolaylıkla konjestif kalb yetmezliği gelişebilir.

Serbest su klirensi böbrek hastalığının ileri evrelerine kadar korunur, fakat fazla miktarda su alımı su intoksikasyonuna neden olabilir. İleri dönem böbrek hastalıklarında GFO ve filtre edilen solüt yükü azaldığı için böbreğin dilüsyon kapasitesi de azalmıştır. KBH olan hastalar yeterli sıvı almazlarsa da sıvı eksikliğine rağmen devam eden diürez nedeniyle dehidratasyona girebilirler. Sağlam nefronlarda devam eden ozmotik diürez konsantre idrar yapma yeteneğini bozar. Bu sorun daha çok böbrek medullasını tutan hastalıklarda görülür⁴.

2.2.4. Kronik Böbrek Hastalığında Asid Metabolizması

Nefron kaybı başlangıçta kan pH'ında değişiklik neden olmaz çünkü fonksiyon gören sağlam nefronlar maksimum kapasite ile çalışarak asid atılım hızını artırır. Böylece böbrek yetmezliğinin erken döneminde asid atılımındaki azalma sadece asid yüklemesi yapılan testlerle anlaşılabilir. Nefron kaybı devam ettiği zaman asit atılımında ilerleyici bir azalma olur ve sonuçta metabolik asidoz gelişir. Normal olarak renal tübüler hücreler Hidrojen (H^+) iyonunu tübüler lümen içine sekrete ederler. Aynı esnada glomerülden filtre olan bikarbonat tübüler sıvıya girer. Filtre edilen bikarbonatın reabsorbsiyon kapasitesi ve titre edilebilen asitlerle amonyumun atılabilme durumu tübüler hücrelerin H^+ iyonu sekrete edebilme yeteneğine bağlıdır. Normal şartlar altında filtre edilen bikarbonatın tamamı böbrek tarafından reabsorbe edilir ve bu şekilde önemli bir tampon sistemi korunmuş olur⁴. Böbrek hastalığı geliştiği zaman ise H^+ iyonu sekresyonu azaldığı için asit atılımı bozulur, bikarbonat geri Emilimi azalır, amonyaktan amonyuma dönüşüm azalır, titre edilebilen asit yapımı azalır ve sodyum ve klor geri Emilimi azalır. Bütün bu olaylar neticesinde plazma bikarbonat miktarı azalır ve metabolik asidoz gelişir. Kan pH'ındaki düşmeye bağlı olarak solunum merkezi uyarılarak solunum hızı ve derinliği artırılır ve neticede hiperventilasyon oluşur. Bu duruma Kussmaul solunumu denir⁴. Genellikle oldukça ileri dönem böbrek hastalığı olan hastalarda araya giren enfeksiyon, dehidratasyon, gastrointestinal kanama ve nefrotoksik ilaç kullanımı gibi asidozun derinleşmesine yol açan nedenlerle meydana gelmektedir.

Kronik böbrek hastalığı olanlarda asidoz genellikle kreatinin klirensi 30 ml/dk altına indiği zaman ortaya çıkar⁴. KBH olanlar genellikle kronik asidozu iyi tolere ederler. Şiddetli asidozda istirahatte veya egzersiz sırasında dispne görülür, bu durum bilhassa yaşlı hastalarda daha belirgindir. Yaşlılarda asidoz ayrıca kalb fonksiyonlarını da etkileyerek pulmoner ödem gelişimine öncülük eder. Sonuçta kalb kontraktilitesindeki depresyon ve venokonstriksiyon nedeni ile sıvı santral kardiyopulmoner kompartmana geçer. Metabolik asidoz üre katabolizmasını ve renal osteodistrofinin oluşmasını etkileyen en önemli faktörlerden biridir⁴. Çünkü fazla miktarda olan H^+ iyonu kemikteki tuzlar ile tampon edilir. Hastaların idrar pH'ları oldukça düşüktür ve az miktarda amonyum içerir.

Hastaların serum bikarbonat düzeyleri 15 mmol/L altına indiği zaman asidoz tedavisine başlanmalıdır. Asidozun üre katabolizmasına olan etkileri nedeni ile daha hafif asidozlarda bile

oral olarak tedaviye başlanması önerilmektedir. Erken evrede asidozu düzeltmek için 500-2000 mg/günde üç defa kalsiyum karbonat verilmesi uygundur. Bu tedavi ile aynı zamanda hipokalsemi ve hiperfosfatemide düzeltilmiş olur. Diğer bir tedavi şeklide sodyum bikarbonat veya sodyum sitrattır, günde üç kez 1-2 gram verilebilir. Tedavinin amacı serum bikarbonat miktarını 18 mmol/L üstüne çıkarmak olmalıdır⁴. Sitrata alan hastalarda alüminyum içeren fosfat bağlayıcılar kullanılıyorsa alüminyum intoksikasyonu riski artar, bu nedenle dikkatli olunmalıdır. Çünkü sitrat barsaktan alüminyum emilimini artırmaktadır.

2.2.5. Kronik Böbrek Hastalığında Üre ve Kreatinin Metabolizması

Daha çok iskelet kasında bulunan kreatin ve fosfokreatinden gelen kreatinin yapım hızı direkt olarak kas kitlesi ile ilgilidir. Genellikle de yapım ve böbreklerle atılım hızı oldukça sabit olup kadınlarda 9-27 mg/kg/gün, erkeklerde ise 16-32 mg/kg/gün dür⁴. Kreatinin klirensi klinikte GFO' nı ölçmek için sık kullanılan bir testtir.

Üre protein metabolizmasının esas son ürünüdür ve karaciğerde kompleks bir kimyasal reaksiyon sonucu oluşur. Üre yapım hızı doğrudan protein katabolizma hızı ve diyetle alınan protein miktarı ile ilişkilidir. Normalde günde 30 gram civarında üre oluşur ve aynı miktar böbrekler yolu ile atılır⁴. Bir hastada akut böbrek yetmezliği geliştiği takdirde arada katabolizmayı hızlandıran başka bir durum yoksa günde diyetle 40 gram protein alınırsa günlük BUN artışı 42 mg civarında olur⁴. KBH olan hastada üre ve kreatinin değerleri arasında 10'a 1 oranı vardır⁴. Yani kreatinin değeri 10 mg ise üre değeri 80-100 mg civarında olmalıdır. Fakat hastada enfeksiyon, gastrointestinal kanama, aşırı proteinli gıda alımı, dehidratasyon gibi durumlar varsa üre değeri kreatinine oranla daha yüksek bulunur⁴. Bunun tersi bir durum ise açlıkta görülür, hasta iyi beslenemiyorsa veya KBH olan hasta çok az proteinli diyet alıyorsa kreatininindeki yükselme üreye oranla yüksek bulunur. O nedenle KBH hastalarında üre ve kreatinin değerlerinin birlikte ölçülmesi daha faydalıdır.

Üremideki toksinler genellikle protein ve aminoasit metabolizmasının son ürünleridir, üreden başka toksinlerde izole edilmiştir. Guanidinosüksinik asit, guanidin, metil ve dimetilguanidin protein metabolizmasının ürünlerinden bazılarıdır. Aminoasit metabolizma ürünleri olan üreat toksik maddelerden biridir. Nükleik asit metabolizma ürünü olan triptofan ,

tirozin ve fenilalanin diğ er üremik toksinlerden bazılarıdır. Bu toksinlerin KBH' daki klinik ve biyokimyasal anormalliklere etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir.

2.2.6. Kronik Böbrek Hastalığında Anemi

KBH' ında en önde gelen problemlerden birisi anemidir. Normokrom, normositer tipte bir anemi g r l r⁴. Hastaların serum hemoglobin (Hb) değeri genellikle 6-8 gram civarındadır ve bu nedenle hastalarda çabuk yorulma, halsizlik ve solukluk ortaya çıkmaktadır. Yaşlı ve konjestif kalb yetmezliği olanlarda yetmezlik bulgularının artmasına, koroner arter hastalığı olanlarda iskemik ağrıların şiddetlenmesine yol açar.

Anemi nedenleri çeşitlidir, fakat esas neden böbrek tübül hücreleri tarafından salınan eritropoetinin yetersizliğidir. Diyalize giren hastalarda plazma eritropoetin düzeyi normalin üzerinde olmasına rağmen Hb düzeyi sağlıklı bir insana göre düşüktür. Bu  remik toksinler hem eritrosit yaşam süresini kısaltmakta hemde kemik iliğine toksik etki göstererek eritropoetinin etkisini azaltmaktadır. Normal insanda eritrosit yaşam süresi 120 gün iken KBH olan hastada 73 g nd r⁴. Diğer bir anemi nedeni ise sekonder hiperparatiroidizm sonucu ortaya çıkan kemik iliği fibrozisine bağlı olarak eritropoezin inhibisyonudur⁴. Bazı olgularda paratiroidektomiye takiben anemide bir miktar düzelme görülebilmektedir.

KBH olan hastaların gastrointestinal sistemden demir emilimi azalmıştır⁴. Bu hem diyetteki demir miktarının azlığı hemde yemeklerle beraber alınan fosfat bağlayıcı antasitlerin kullanımı sonucu oluşmaktadır. Bu nedenle KBH hastalarına demir preperatları yemekden 1-2 saat sonra verilmelidir.

Hemodiyaliz hastalarında suda eriyen vitaminlerin kaybına bağlı olarak periferik yaymada makrositer anemi görülebilir. Bu durumda hastalara diyaliz sonrası folik asid ve vitamin B₁₂ desteği saęlanmalıdır⁴. Diyalize giren hastalarda ciddi anemi olduğu zaman hipersplenizm de akılda tutulmalıdır. Uzun süreli antasit kullanan hastalarda veya diyalizat sıvısında fazla miktarda alüminyum bulunan hastalarda mikrositer anemi g r lebilir⁴. Bazı diyaliz hastalarında pentoz fosfat yolunda kazanılmış defekt görülür. Bu hastalarda enfeksiyon ve primakin, kinidin, sulfonamid gibi ilaçların kullanımı akut hemolitik anemiye neden olabilir. KBH' da anemiye yol açan bir başka neden de diyaliz sıvısında bulunan bakır, çinko ve kloramin gibi oksidan maddelerdir. Tedavide eksik olan eritropoetinin verilmesi gerekir. Genellikle hastaların Hb

değerleri 10 gram civarında tutulacak şekilde ayarlanma yapılır. Eritropoetin alan hastalarda epileptik nöbetler görülebilir, hipertansiyon kontrolü güçleşebilir, fistül trombozu oluşabilir⁴. Hastalar kendilerini iyi hissederler ve daha fazla yemek yerler bundan dolayı da hiperpotasemi meydana gelebilir.

Androjenler eritropoetin yapımını ve kemik iliğinin eritropoetine cevabını artırır⁴. Hastaların Hb değerlerinde tedaviye başladıktan 1-2 ay sonra 1 gram civarında artma olması beklenir. Ancak kadınlarda kıllanma artışı ve ses kalınlaşması gibi yan etkiler nedeniyle kullanılması önerilmemektedir. Bazı sentetik androjenlerin ise karaciğer enzim yüksekliğine neden olduğu gözlenmiştir. Erkek hastalarda da priapizm ve prostat sorunlarına neden olabilmektedirler. Nandrolone decanoate anabolik bir androjen olup karaciğer bozukluğuna neden olmadığı için ayda bir intramüsküler olarak bir ampul şeklinde verilebilir⁴.

2.2.7. Kronik Böbrek Hastalığında Trombositler

KBH hastalarında trombosit sayısında azalma vardır ancak genellikle normalin alt sınırındadır. Esas sorun ise trombosit fonksiyonlarındaki bozukluktur. Trombosit agregasyon ve yapışkanlığı bozulmuş olup, bu dolaşımdaki toksinlere bağlıdır⁴. Bilhassa üremik toksinlerden guanidinosüksinik asit, fenol, üre ve prostaglandinler trombosit fonksiyonlarını bozmaktadır. Bu nedenle hastaların kanama zamanları genellikle uzamıştır.

2.2.8. Kronik Böbrek Hastalığında Kardiyovasküler Bozukluklar

Hipertansiyon (HT) en sık karşılaşılan problemdir. HT olmadığı zaman ya tuz kaybettiren bir nefrit veya volüm eksikliği mevcuttur. HT genellikle artmış volüme bağlıdır⁴. Ayrıca hastaların renin sekresyonunun ve sempatik aktivitenin artması sonucu vazokonstriksiyon oluşması ve vazodilatatör prostaglandinlerin renal yapımının azalmış olması da HT oluşumunda önemli rol oynar⁴. En önemli faktör hastalıklı böbreğin yeterli miktarda sodyumu atamaması nedeni ile vücuttaki suyunda artmasıdır ve % 90 neden budur. Hastalar kuru ağırlıklarına indirildiği zaman büyük bir kısmında kan basıncını kontrol etmek mümkün olabilmektedir.

Renin kan basıncı düzenlenmesinde rol alan ve böbrekteki jukstaglomeruler hücrelerden salınan bir hormondur. Karaciğerden salınan anjiotensinojeni anjiotensin-I 'e dönüştürür. Anjiotensin-I' de akciğerlerdeki anjiotensin konverting enzim ile kuvvetli bir vazokonstriktör

olan anjiotensin-II' ye çevrilir. Periferik damarlarda oluşan vazokonstriksiyon nedeni ile hipertansiyon oluşur. Anjiotensin-II aynı zamanda adrenallerden aldosteron salınımını artırarak sodyum tutulumuna yol açar. Bazı KBH hastalarında ise sempatik aktivite artışı ve/veya böbreğin vazodilatatör prostaglandinleri sentez etme yeteneğinin azalması hipertansiyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır.

KBH hastalarında kardiyovasküler hastalıklardan ölüm insidansı, normal popülasyona göre çok yüksektir. Aterosklerozun oluşmasını etkileyen başlıca risk faktörleri; hipertansiyon, dislipidemi, glukoz tolerans bozukluğu, diabetes mellitus ve bazen primer hastalığın tedavisi için kullanılan steroidlerdir⁴. Bazı araştırmacılar diyaliz esnasında oluşan endotoksinlerin de endotel hasarı yaparak ateroskleroz oluşumuna katkıda bulunduğu şeklinde yorumları vardır⁴.

Myokard fonksiyon bozukluğu daha çok diyalize giren hastalarda görülmekte ve myokarddaki kalsiyum miktarında artmaya bağlı olduğu kabul edilmektedir⁴. Hipertansiyona bağlı olarak gelişen sol ventrikül hipertrofisi ve dilate kardiyomyopatiye sık olarak karşılaşılan durumlardır. Kalbin sistolik fonksiyonlarında bozukluğun yanı sıra diyastolik fonksiyonlarında da bozulmalar görülebilir.

Semptomatik perikardit sıklığı % 10 civarındadır⁴. Diyaliz tedavisinin başlaması ile düzelir. Hastaların az bir kısmı sternum altında devamlı, hafif bir ağrıdan yakınır. Oskültasyonda sternum üzerinde perikardial frotman işitilir ve bu acil diyaliz endikasyonudur. Periton diyalizi tedavide daha etkindir. Eğer hemodiyaliz yapılıyorsa hergün devam edilmelidir ve rejyonel heparinizasyon uygulanmalıdır çünkü hemorajik perikardit ve tamponad riski yüksektir.

2.2.9. Kronik Böbrek Hastalığında Gastrointestinal Problemler

İştahsızlık bilhassa yüksek proteinli diyet alan hastalarda en erken ortaya çıkan yakınmadır⁴. BUN değeri arttıkça bulantı ve kusma gelişir. Bu, santral sinir sisteminin üremik maddelerle uyarılması ve gastrik mukozadaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır⁴. Hasta daha çok sabah bulantı ve kusmalarından yakınır ve kahvaltıyı takiben kusar. Hastaların büyük bir kısmında ağızda metalik tat hissi bulunur, amonyağın konsantrasyonu ile ilişkilidir. Protein kısıtlaması ile semptomların büyük bir kısmında azalma olur.

Üremide tüm gastrointestinal sistem mukozasında ödem, submukozal kanama, mukozal ülserler ve nekroz oluşur⁴. Nodüler duodenitte çok sık rastalanan bir bulgudur. Hemorajik lezyonlar daha çok özofagus, mide, ileum ve proksimal kolonda görülmektedir. Hastalarda bu nedenle kanlı kusmalar ve ishaller olabilir. Endoskopi yapılırsa lezyonların çok sayıda olduğu görülür, acilen diyalize başlanması gerekir. KBH hastalarında gastrin düzeyi de normalden yüksek bulunur ve bu nedenle ülser insidansı da artmıştır. Kabızlık hastalarda sık rastlanan bir belirti olup, sıklıkla diyet ve alınan fosfat bağlayıcıları ile ilgilidir. Kabızlığı olan olgulara günde 1-3 çorba kaşığı % 70' lik sorbitol verilmesi önerilir.

2.2.10. Kronik Böbrek Hastalığında Dermatolojik Problemler

Hastaların nerdeyse tamamında cilt rengi kirli koyu kahverengidir. Deride idrarla atılamayan ürokrom pigmentinin birikimi ve anemileri nedeni ile bu renkte bir görünüm olur⁴. Ciltte kolay morarmalar, ekimozlar ve peteşiler görülebilir. Kaşıntı en çok görülen bulgulardan biridir. Kaşıntı ileri evre KBH olanlarda özellikle boyun, göğüs, bacak ve kollarda daha belirgindir. Üre yüksekliği ile paralel olarak, özellikle sıcak bölgelerde oturan hastalarda ter ile ürenin atılmasına bağlı olarak üremik frost adı verilen deride tuz serpilmiş gibi görünen üre kristallerini farketmek mümkündür. Deri genellikle kurudur ve diyalizdeki hastalarda daha belirgindir.

2.2.11. Kronik Böbrek Hastalığında Nörolojik Problemler

Hastalarda erken dönemde mental konsantrasyon yeteneği bozulur⁴. Bu durum en iyi şekilde hastanın eğitim durumu dikkate alınarak basit matematik hesapları yaptırılarak anlaşılır. Üremik bulgular ilerledikçe hastalar baş dönmesinden, geceleri uykusuzluktan ve korkulu rüya görmekten yakınırırlar. Üremik bulgular ilerledikçe kas çekilmeleri, baş ağrıları, ataksik yürüyüş, flapping tremor, uykuya meyil ve konvülsiyonlar görülür ki bu dönemde olan bir hastaya hemen diyaliz yapılmalıdır⁴.

Periferik nöropati belirtileri olarak ayaklarda yanma, huzursuz bacak sendromu, ayak düşmesi, monoplegi veya paraplegi görülebilir. Duyu ve motor kusurları bilhassa alt ekstremitelerde duyu ve motor sinirlerdeki ileti kusurlarına bakılarak tanımlanır. Sinirlerin distal kısımlarında demyelinizasyon ve dejenerasyon vardır. Medulla spinalisteki periferik nöropati

belirtisi olarak mesanede atoni, fonksiyon bozukluğu, mesanede aşırı idrar birikmesi ve bunlara bağlı olarak gelişen sık üriner sistem enfeksiyonları görülür.

Myopati, KBH hastalarında nadiren görülmesine rağmen diyaliz hastalarında daha sık bulunur. Myopati bazen tedavide kullanılan steroidlere bağlı olarak da gelişebilir. Ayrıca vitamin D eksikliği, sekonder hiperparatiroidizm ve hiperkromatozis myopatiye neden olabilir. Nistagmus, myosis, asimetrik pupil, bulanık görme ve kırmızı göz gibi belirtiler görülebilir. Bazı hastalarda korneal limbusta kalsifikasyona bağlı olarak gelişen band keratopati görülebilir. Beyindeki genel organizasyon bozukluğu EEG de belli olur. Kussmaul solunumu genellikle asidozun belirtisidir, cheyne-stokes ve uyku-apne sendromu sıktır.

2.2.12. Kronik Böbrek Hastalığında Endokrinolojik Problemler

Glukoz tolerans testi anormaldir, üremik toksinlerden olan hippurik asidin glukoz toleransını inhibe eden madde olduğu düşünülmektedir⁴. Üremik durum insülin salınımını da bozar. Glukagon'un böbrekten metabolize edilememesi nedeniyle seviyesi yükselir. T₃ ve T₄ düzeyleri düşük veya normal olabilir. Hastalar ötiroid görünümüne rağmen hipofiz yanıtı azalmıştır. TSH salınımı baskılanmıştır.

Üremide büyüme hormonunun bazal düzeyi böbrek hastalığının derecesi ile orantılı olarak yüksektir. Fakat büyüme geriliği üremik çocuklarda rastlanan bir sorundur. Beraberinde bulunan malnutrisyon, asidoz, renal osteodistrofi büyümeyi negatif etkileyen diğer faktörlerdir. Üremik kadınlarda folikül stimulan hormon, progesteron ve östradiol düzeyleri normaldir, luteinizan hormon yüksektir fakat ovulasyondan hemen önce görülen normal sıklık yükselme olmaz. Üremik erkeklerde ise luteinizan hormon düzeyindeki artmaya ve testosteron düzeyindeki azalmaya bağlı olarak impotans ve/veya infertilite vardır, spermatogenez olmayabilir bu folikül stimulan hormon düzeyindeki yükselmeye bağlıdır. Prolaktin düzeyi sıklıkla yükselir ve kadınlardaki galaktore ve amenorenin, erkeklerdeki impotansın nedenidir⁴.

KBH olan hastalarda trigliserid düzeyi genellikle yüksektir, halbuki total kolesterol hafif yüksektir. Üremide LDL ve IDL düzeyleri yüksek HDL ise düşüktür. Aterogenetik partikül olan yavaş hareket eden VLDL düzeyi yüksektir. Lipoprotein partiküllerinin temizlenmesinin bozuk olması nedeni ile tam katabolize edilemeyen IDL partikülleri artar. Üremideki esas defekt şüphesiz ki lipoproteinlerin yıkım yetersizliğidir. Trigliserid klirensi ve parenteral olarak verilen

lipidlerin yarı ömrü uzamıştır. Lipoprotein lipaz ve hepatik trigliserid lipaz plazma trigliserid metabolizmasında anahtar enzimler olup, bunların aktivitelerinde GFO değeri ile orantılı olarak azalma olduğu saptanmıştır⁴.

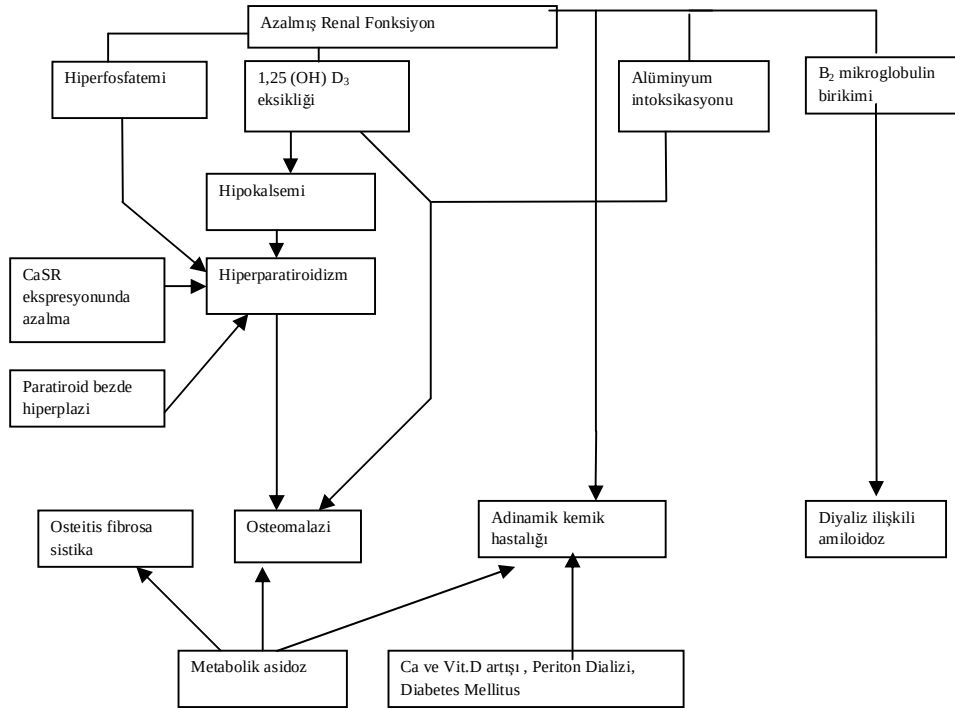
2.2.13. Kronik Böbrek Hastalığında Kalsiyum ve Fosfat Metabolizması

GFO düşmeye başladığı andan itibaren renal tübüllerden fosfor atılımı azalır. Kanda fosfor artınca serum kalsiyum değeri düşerek kalsiyum ile fosfor arasındaki denge korunmaya çalışılacaktır. Serum iyonize kalsiyum değerinin düşmesi PTH salgılanmasını uyuracak, bu şekilde PTH' un fosfatürük etkisi ile böbreklerden fosfor atılımı arttırılacak ve yeni bir denge kurularak kandaki fosfor normal sınırlarda tutulmaya çalışılacaktır. Bu durum GFO normalin % 30' una düşünceye kadar devam eder, ancak bu düzeyden sonra geride kalan sağlam nefronların günlük atılması gereken fosfor miktarını atmaya yeterli olmadıkları ve serum fosfor miktarının artmaya başladığı görülür aynı zamanda böbrek fonksiyonlarındaki azalma ile Vitamin D sentez miktarında da azalma başlar. Kreatinin klirensi 25 ml/dk' nın altına indiği zaman 1-25 dihidroksikolekalsiferol yapımı belirgin olarak azalır, barsaklardan kalsiyum emilimi yeterli miktarlarda olmayacağından hipokalsemi gelişir. Bu evrede hastaların bakılan serumlarında hipokalsemi, hiperfosfatemi ve PTH düzeyinde çok belirgin artma saptanır. Genellikle serum kalsiyum değerleri 7- 8 mg/dl civarında olmasına rağmen tetani çok nadirdir, metabolik asidoz nedeni ile total kalsiyum değeri düşük olmasına rağmen iyonize kalsiyum miktarı normale yakındır. Fakat hastalara sodyum bikarbonat verilerek asidozları düzeltilecek olursa iyonize kalsiyum değeri düşeceğinden tetani ortaya çıkabilir.

PTH' nun aşırı yapımı, Vitamin D sentezinin azalması ve kronik metabolik asidozun varlığı hastalarda kemik sorunlarının oluşmasına neden olur. Paratiroidlerin aşırı uyarılması sonucu paratiroid bezlerde hiperplazi olur ve daha ileri dönemlerde adenomlar oluşur. Böbrek yetmezliği ilerledikçe PTH' a karşı rezistans gelişir. En sık karşımıza çıkan sorun PTH' nun etkisine bağlı olarak aşırı kemik yıkımı nedeni ile oluşan renal osteodistrofidir. Hastalarda en belirgin kemik problemleri arasında osteitis fibroza sistika, osteomalazi, osteoskleroz ve bilhassa çocuklarda görülen kemik büyümesinde bozulma sayılabilir. Kemik hastalığının klinik belirtileri nadirdir, diyaliz öncesi hastaların ancak % 10' unda klinik belirtiler vardır. Büyüme çağındaki çocuk hastalarda kemik belirtileri daha belirgindir. En sık görülen özellikle kostalarda spontan kırıklardır ve iyileşme yavaştır, serum alkalin fosfataz değerlerinin yüksekliği dikkat çekicidir.

Serum fosforu yüksek olan diyaliz hastalarında ise eklem çevresinde kalsiyum depolanmasına bağlı olarak oluşan şişlikler ve eklem ağrıları daha sık görülür. İleri evrelerde özellikle vitamin D yetersizliği nedeni ile kas zayıflığı, bilhassa proksimal kaslarda myopati bulguları olur. Eğer hastaların fosforları normal düzeye düşürülmeden kalsiyum ve D vitamini verilirse, Ca X P 70'in üzerine çıkacağından damar duvarlarında, eklem çevresinde, subkonjuntival mesafede, koroner damarlarda, glomerüler kapiller yumakta ve tüm dokularda metastatik kalsifikasyonlar oluşur.

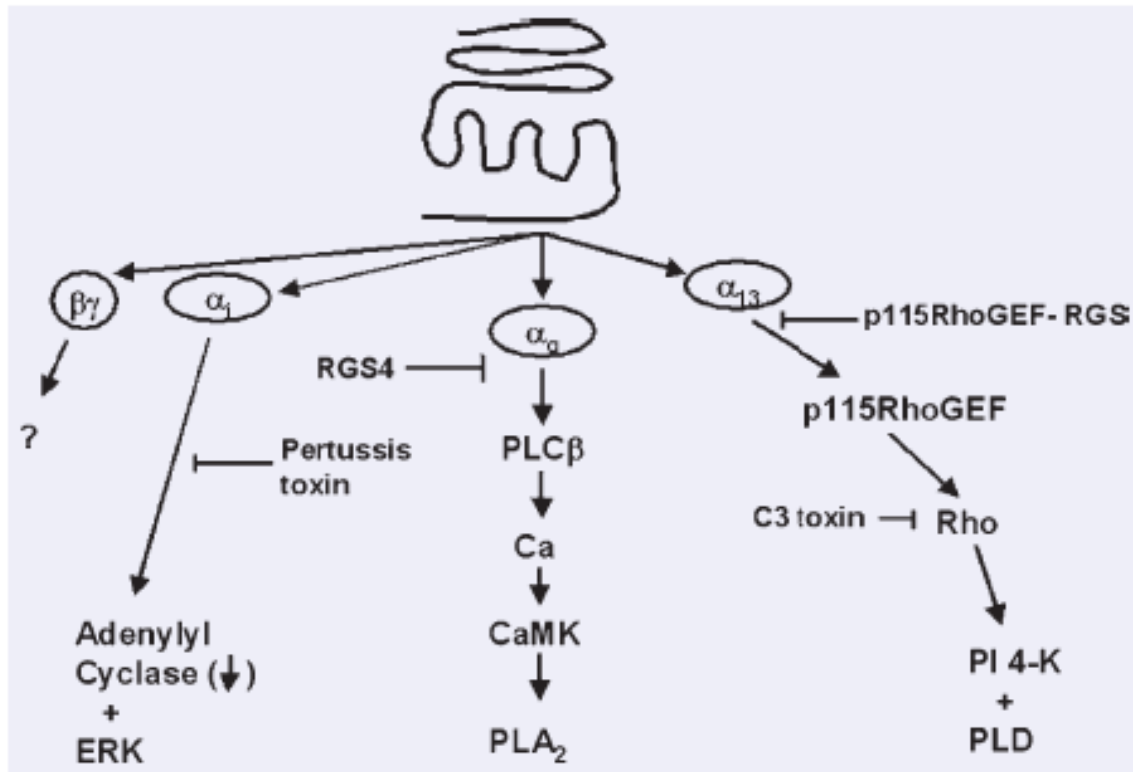
GFO normalin % 50'sine düştüğü zaman oral fosfor alımı kısıtlanmalı ve fosfor bağlayıcılar tedaviye eklenmelidir. Alüminyum hidroksitin uzun süreli kullanımı dokularda birikerek demans, refrakter anemi ve osteomalaziye yol açabileceğinden dikkatli olunmalıdır. Hastaların serum fosfor değerleri normale ne kadar yakın olursa kemik hastalıklarından o derece uzak kalmış olurlar. Kemik sorunları başlamış hastalarda serum fosfor düzeyi 4,5 mg'ın altına indikten sonra vitamin D desteği verilmelidir.



Şekil 1. KBH' da kemik, kalsiyum ve fosfor anormalliklerinin gelişim şeması. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri kitabından alınmıştır.

2.2.14. Kronik Böbrek Hastalığının Kalsiyum Metabolizması Üzerine Olan Etkisi

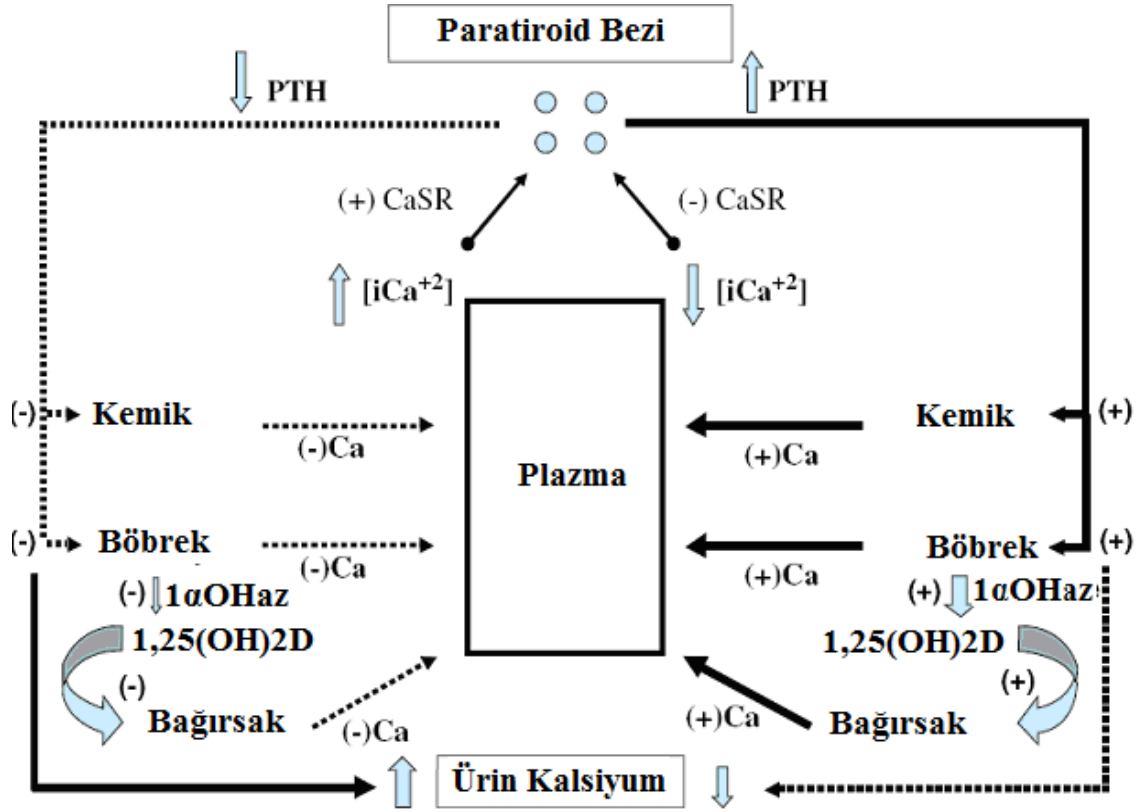
Kalsiyum (Ca^{+2}) iyonu önemli bir takım biyolojik süreçlerde rol alan çok kritik bir iyondur. Ca^{+2} iyonunun görevleri arasında bulunan hücre zarının çalışmasına katkıda bulunma ve hücre içi sinyal iletimi sürecine katılma konumuz açısından önemlidirler. Kalsiyum tuzları kemik dokusunun önemli bir kısmını oluştururlar. Bu şekilde kalsiyum tuzları kemik dokusunun dayanıklı olmasında ve doku bütünlüğünün sağlanmasında rol alırlar. Kalsiyum ekstraselüler sıvı içerisinde proteinlere bağlı olarak (özellikle albümine), çözünabilir bileşikler halinde (sitrat gibi anyonlarla bileşik oluşturarak) ve iyonize şekilde olmak üzere üç formda bulunur. Bunlar içerisinde en önemli form, kalsiyumun iyonize formudur. Serbest kalsiyum iyonları kalsiyum kanalları ve kalsiyuma duyarlı reseptörler aracılığı ile hücre zarı ile etkileşirler.



Şekil 2. Ca^{+2} ile uyarılan kalsiyum reseptörlerinin hücre içinde etkiledikleri yolların diyagramatik gösterimleri¹².

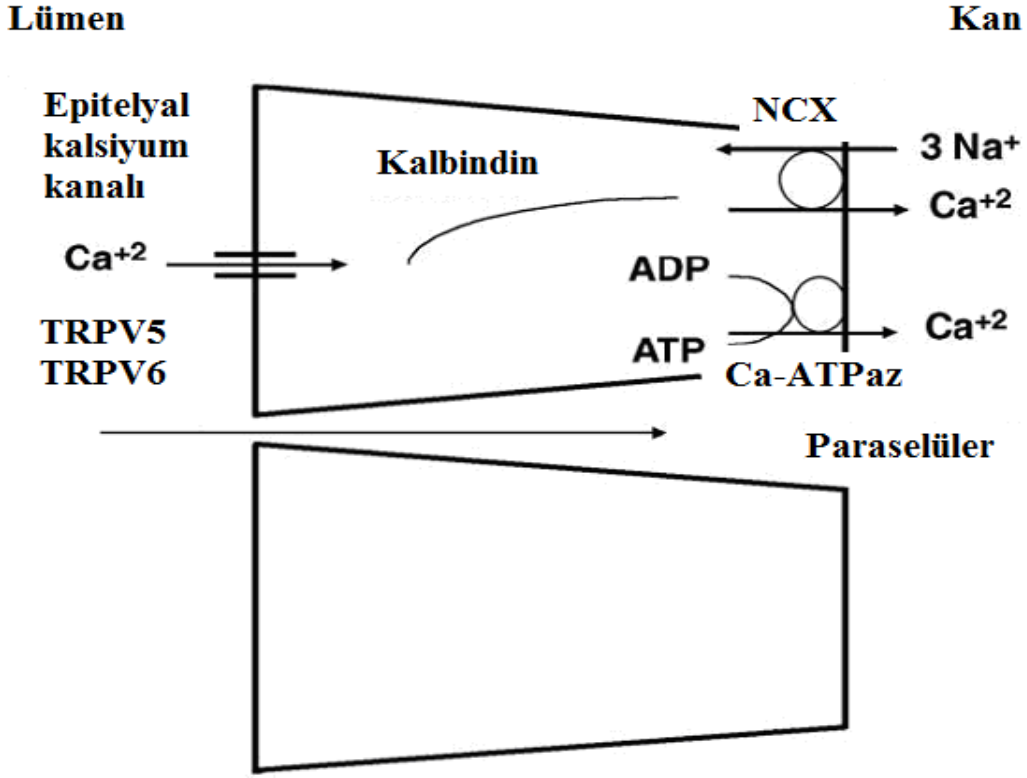
Vücut, serum kalsiyum düzeyini dar bir aralıkta tutabilmek için bir takım mekanizmalardan oluşan bir sistem geliştirmiştir. Bu sistemin parçaları olarak intestinal yolda kalsiyum emilimi ve sekresyonu, böbrek yolu ile kalsiyum atılımı ve kemik dokusunda depolanma/dokudan salınma olayları önemlidirler^{10,11}.

Kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesi bakımından önemli bir yapı da paratiroid bezidir. Paratiroid bezi salgıladığı PTH aracılığıyla ekstraselüler sıvıda bulunan Ca^{+2} iyonu düzeyini çok kısa zaman aralığında düzenler. PTH bu düzenlemeyi, renal tubular Ca^{+2} transportu ve kemik dokusu ile ekstraselüler sıvı arasındaki Ca^{+2} iyon değişimi üzerine etki ederek yapar. Uzun sürede PTH, intestinal Ca^{+2} emilimi üzerine de etki eder ve bu üç yolla kandaki iyonize kalsiyum düzeyini sabit bir aralıkta tutar. Paratiroid doku hücrelerinin zarlarında bol miktarda kalsiyuma duyarlı reseptörler (CaSR) bulunmaktadır. Bu reseptörler sayesinde paratiroid bezi kandaki iyonize kalsiyum düzeyinde meydana gelen en ufak değişiklikleri hissetmektedir. PTH salgılanması buna göre düzenlenmektedir. Sonuçta PTH' da kan Ca^{+2} düzeyini ayarlamaktadır. Kandaki iyonize kalsiyum konsantrasyonu düştüğü zaman (kronik böbrek yetmezliğinde olduğu gibi) paratiroid bezi hücrelerinde bulunan kalsiyum reseptörleri inaktive olmaktadır. Bunun sonucunda paratiroid bezinden PTH salınımı meydana gelmektedir. Kanda PTH düzeyinin yükselmesine bağlı olarak renal tubuler Ca^{+2} geri emilimi artmakta ve idrarla atılan Ca^{+2} düzeyi düşmektedir. Buna ilave olarak PTH iskelet sisteminin bir parçası olan kalsiyum havuzundan Ca^{+2} salınımını teşvik eder. Bu da yine kandaki Ca^{+2} seviyesinin düzenlenmesine katkıda bulunur. Bu iki yönlü yanıt PTH' a verilen erken cevabı (dakikalar veya saatlar içerisinde meydana gelen yanıt) oluşturur. Eğer plazma PTH düzeyi uzun süre yüksek kalırsa böbrekte 1,25 dihidrooksivitamin D sentezi ve salınımı artar. Bunun sonucunda PTH' a karşı oluşan geç yanıt olarak intestinal Ca^{+2} emilimi artar. Bu da plazma Ca^{+2} düzeyini ayarlayan üçüncü mekanizmayı oluşturur. Buna karşın kandaki Ca^{+2} iyonu konsantrasyonunda meydana gelen artış paratiroid kalsiyum reseptörlerini aktive eder. Bu aktivasyonun sonucunda PTH sentezi ve salınımı inhibisyona uğrar¹². PTH düzeyinde meydana gelen düşmeye bağlı olarak idrarda Ca^{+2} atılımı artar, kalsiyum havuzundan daha az kalsiyum salınımı olur. Böylece kandaki iyonize kalsiyum konsantrasyonu düşürülür. Eğer plazma PTH düzeyi uzun süre düşük kalırsa renal 1,25 dihidrooksivitamin D üretimi azalır, buna bağlı olarak intestinal Ca^{+2} emilimi de azalır. Bu da kan Ca^{+2} düzeyini uygun aralığa getiren üçüncü mekanizmayı oluşturur .



Şekil 3. PTH' un Ca^{+2} metabolizması üzerine olan etkisinin diagramatik ifadesi¹¹.

Böbrekten Ca^{+2} geri-emilimi ile bağırsaklardan Ca^{+2} emiliminin moleküler mekanizmaları da aydınlatılmıştır (Şekil 3). Her iki durumda da epitel hücreleri (renal tubuler epitel ve intestinal epitel) aracılığıyla Ca^{+2} transportu meydana gelmektedir. Dolayısıyla mekanizma birbirine benzemektedir. Buna göre Ca^{+2} iyonları epitel hücrelerinin apikal zarlarında bulunan kalsiyum kanalları (TRPV5 ve TRPV6) aracılığıyla epitel hücrelerine giriş yaparlar. Epitel hücresine geçen Ca^{+2} iyonları hücre içi serbest kalsiyum dengesini bozmamak için kalbindin D (calbindin D) adı verilen bir proteine bağlanırlar. Buna göre Ca^{+2} iyonları kalbindin D proteinine bağlı olarak epitelyum hücrelerinin apikal membranlarından bazolateral membranlarına taşınırlar. Bazolateral membranda bulunan Na- Ca^{+2} değişiminden sorumlu proteinler (sodium-calcium exchanger, NCX) ve Ca-ATPaz enzimi yardımıyla Ca^{+2} iyonları epitel hücrelerinden dolaşıma aktarılırlar. Kalbindin D proteini vitamin D'ye bağımlı bir proteindir. Vitamin D, TRPV5 ve TRPV6 proteinlerinin sentezlerini de etkilemektedir¹¹.



Şekil 4. Epitel hücrelerinden Ca^{++} transportunun diagramatik ifadesi¹¹

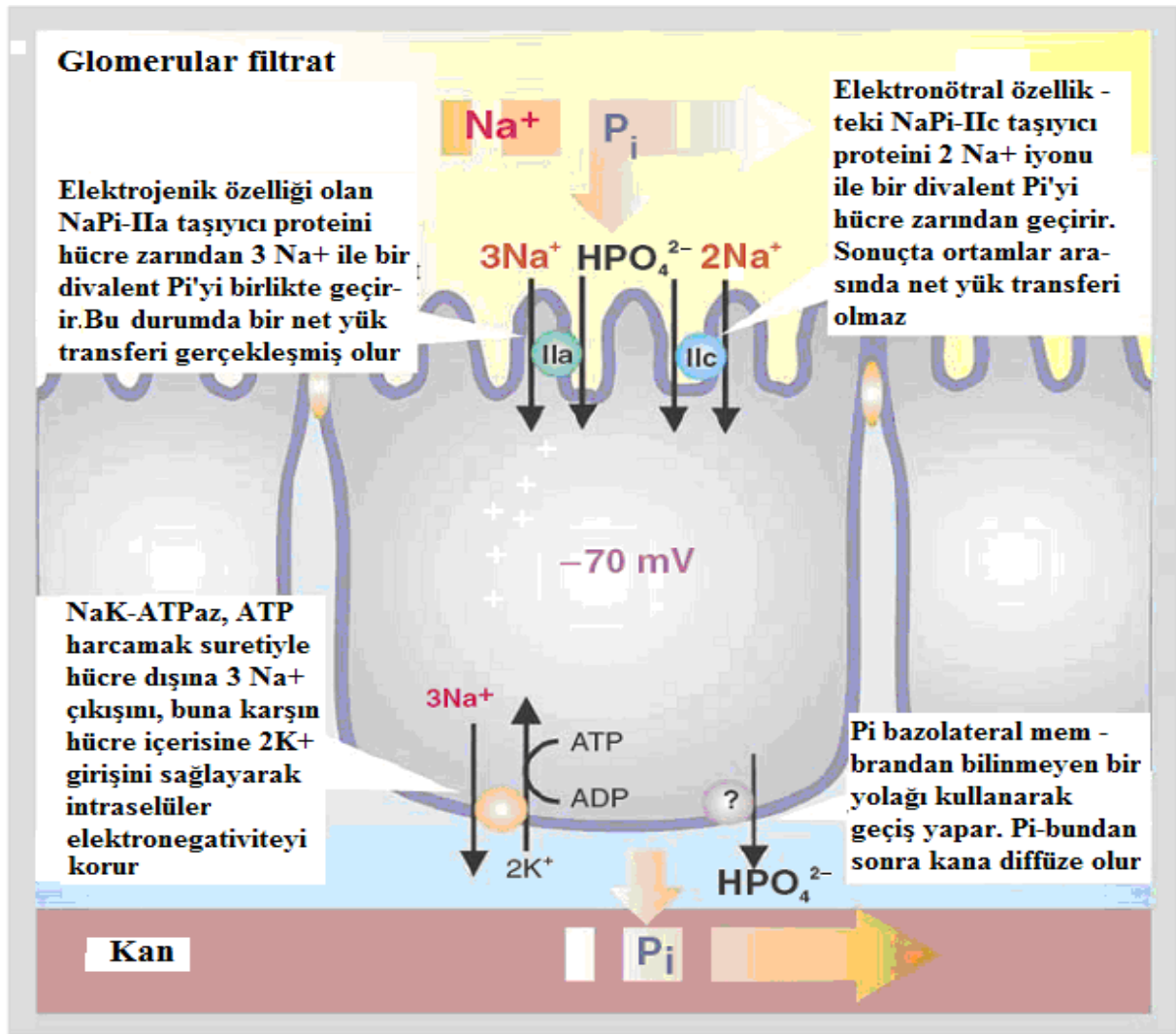
Kronik renal hastalık durumunda serum Ca^{+2} konsantrasyonu normal değerlerin altına düşer⁹. Bunun önemli nedenlerinden birisi kronik böbrek hastalıklarında azalan renal fonksiyona bağlı olarak 1,25 dihidroksivitamin D düzeyinin düşmesidir. Bununla birlikte diyetle alınan D vitamini miktarı da, D vitamini metabolitlerinin düzeylerini etkiler. Bu noktada kronik böbrek hastalığına bağlı olarak meydana gelen D vitamini düzeyindeki düşmenin, intestinal Ca^{+2} emilimini olumsuz etkileyeceği ifade edilmelidir. İlave olarak hafif renal yetmezliklerde hipokalsiüri görülür. Bu durum intestinal kalsiyum alımının azalması ve PTH' un etkisiyle böbreklerden kalsiyum atılımının azalmasına bağlanabilir¹¹. Dolayısıyla kronik böbrek yetmezliğinde vitamin D eksikliğine ve fosfor düzeyinin yükselmesine bağlı olarak, kan kalsiyum konsantrasyonunu belli bir aralıkta tutmak için, paratiroid bezinden normalden daha fazla miktarda PTH salgısı olur. Sonuçta sekonder hiperparatiroidizm gelişir. Sekonder hiperparatiroidizm kan kalsiyum düzeyinin belli bir aralıkta tutulabilmesi açısından önemlidir.

2.2.15. Kronik Böbrek Hastalığının Fosfor Metabolizması Üzerine Etkileri

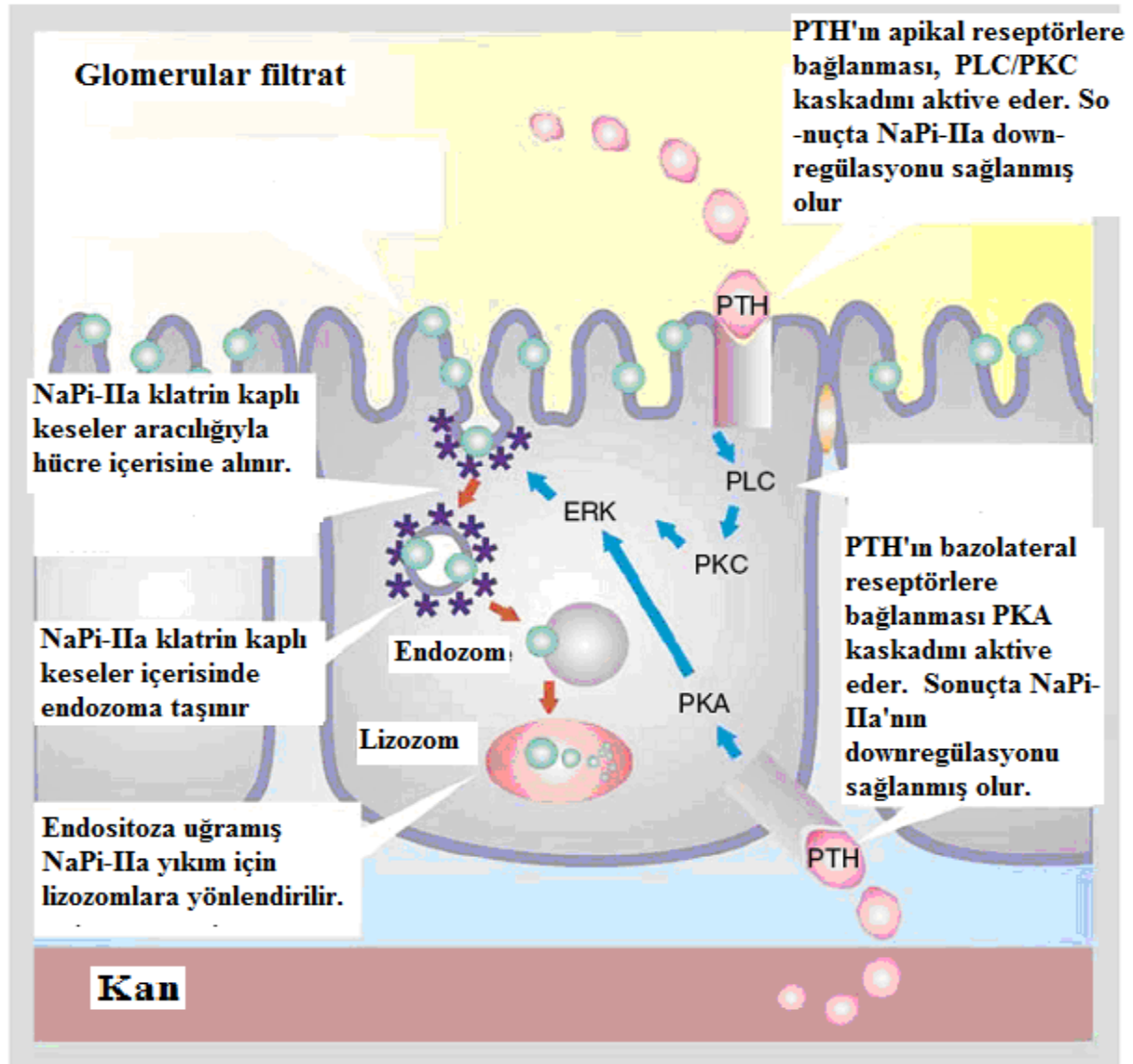
Kalsiyuma benzer şekilde fosfor ağırlıklı olarak mineralize iskelet dokularında hidroksiapatit formunda bulunur. Fosfor içerikli bileşikler hücre içi içeriğin önemli bir kısmını oluştururlar. Vücutta bulunan fosforun % 15’lik kısmı kas dokusu gibi yumuşak dokularda, % 1’lik kısmı da ekstraselüler sıvıda bulunur. Diyetle fosfor alımı özellikle proteinler aracılığı ile olur. Böbrekleri normal olarak işlev gören sağlıklı kişilerde vücudun total fosfor dengesi nötral bir seyir izler. İdrar yolu ile atılan fosfor miktarını, kemik dokusu ve intestinal sistemden ekstraselüler sıvıya geçen fosfor miktarı belirler. Bazal şartlar altında yetişkinlerde diyetle alınan kadar fosfor idrar ile atılır. Ancak sağlıklı kişilerde idrar ile fosfor atılım kapasitesi oldukça büyüktür. Renal fonksiyon, kapasitesinin % 20 ile % 25’ inin altına düştüğü zaman diyetle alınan kadar fosforun atılması güçleşir. Bunun sonucunda fosfor tutulumu gelişir ve serum fosfor düzeyi yükselir. Bu kişilerde fosfor içerikli diyetlere kısıtlama getirilerek durum telafi edilmeye çalışılır.

İskelet sisteminin dönüşümüne bağlı olarak her gün 125- 150 mg fosfor ekstraselüler sıvıya katılır ve ekstraselüler sıvıdan ayrılır. Buradan anlaşılacağı üzere, eğer metabolik bir kemik hastalığı yok ise, iskelet sistemine katılan ve sistemden ayrılan fosfor miktarı birbirine eşittir. Bu dengenin bozulduğu durumlarda, sağlıklı renal fonksiyon gösteren bireylerde, idrar ile atılım serum fosfor düzeyinin normal seyretmesini sağlar. Kronik böbrek hastalıklarına bağlı olarak (böbreklerin rezidüel fonksiyon gösterdikleri veya fonksiyonlarını tamamen kaybettikleri olgularda) sekonder hiperparatiroidizm gelişen hastalarda kemik dokusunda fosfor salınımı artar. Bunun sonucunda hiperfosfatemi gelişir¹¹. Yukarıda ifade edildiği gibi fosfor homeostazının sağlanması için bağırsak ve böbrek epitel hücreleri tarafından koordineli bir şekilde fosfor (Pi) transportu gerçekleştirilmelidir. Epitel hücrelerinin apikal membranları boyunca Pi taşınması üç çeşit taşıyıcı protein aracılığıyla gerçekleşir. Bu proteinler SLC34 protein ailesinin üyeleridirler. Bu proteinlerden NaPi-IIa (SLC34A1) ve NaPi-IIc (SLC34A3) böbrek proksimal tübüllerinin epitel hücrelerinde sentez edilirler ve bu epitel hücrelerinin fırça kenar membranlarına lokalize olurlar. Görevleri böbrek proksimal tübüllerinde fosfor geri emilimini sağlamaktır. Buna karşın NaPi-IIb taşıyıcı proteini (SLC34A2) bağırsak epitel hücrelerinde sentezlenir ve bu epitel hücrelerinin fırça kenar membranlarına lokalize olurlar. Bu taşıyıcı protein de diyetle bağırsak lümenine geçen fosforun emiliminde rol alır¹³. Fosfor metabolizmasının düzenlenmesi açısından PTH ile fibroblast büyüme faktörü 23 (FGF23) olarak isimlendirilen iki hormon ana elemanlar

olarak işlev görmektedirler. Bunların yanında kemik dokusunun ana hücreleri olan osteoblastlar aracılığıyla kemik dokusuna fosfor alınımında dolayısıyla iskelet sisteminin mineralizasyonunda rol oynayan başka bazı faktörler de tanımlanmışlardır. Bunların başlıcaları; X kromozomu üzerinde bulunan endopeptidazlara homoloji gösteren fosfat düzenleyici gen (PHEX), matriks ekstraselüler fosfoglikoprotein (MEPE) ve dentin matriks protein 1 (DMP1) faktörleridir. Bu şekilde fosfor metabolizmasının regülasyonunda rol alan proteinlere/faktörlere **fosfatoninler** denir¹⁰.



Şekil 5. Böbrek epitel hücrelerinde bulunan NaPi taşıyıcı proteinlerinin çalışma mekanizmaları. Forster ve arkadaşlarının çalışmasından uyarlanmıştır¹³.



Şekil 6. Böbrek proksimal tübüllerin epitel hücrelerinde PTH'ın NaPi-IIa taşıyıcı proteinlerinin yoğunluğunu belirleme mekanizmaları. Forster ve arkadaşlarının çalışmasından uyarlanmıştır¹³.

Paratiroid hormonu proksimal tübüllerde epitel hücrelerinin apikal ve bazolateral membranlarında bulunan reseptörlere bağlanır. İlişkili reseptörlerin PTH ile uyarılması sonucunda epitel hücrelerinin fırça kenar (apikal) membranlarında bulunan NaPi-IIa taşıyıcılarının miktarında azalma meydana gelir. Bunun sonucunda üriner Pi atılımı artar. PTH hormonu proksimal tübül epitel hücrelerinin apikal membranlarındaki reseptörlerle etkileştiğinde hücre içerisinde fosfolipaz C/ protein kinaz C (PKC) yolağını aktifleştirir. Buna karşın

bazolateral membranda bulunan reseptörlerle etkileşen PTH, hücre içerisinde cAMP/protein kinaz A yolağını faaliyete geçirir. PTH' ın uyardığı yollar nihai olarak NaPi-IIa taşıyıcılarının endositoz ile içeri alınmalarına ve lizozomlar aracılığı ile yıkılmalarına yol açarlar (Şekil 6). Diyetle yüksek miktarda Pi alınması da apikal membrandaki NaPi-IIa taşıyıcı yoğunluğunu düşürür. Bu olayın mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak sonuçta, yine NaPi-IIa taşıyıcılarının endositozla içeri alındıkları ve lizozomlarla yıkıldıkları saptanmıştır. Fosfat metabolizması ile ilişkili bazı hastalıklarda bu proteini kodlayan gende mutasyonlar saptanmıştır¹³.

Fosfor metabolizmasının düzenlenmesi açısından önemli olan ikinci hormon FGF23'tür. FGF23 fosfatürik hormonu, baskın olarak osteositler tarafından sentezlenen 32 kDa büyüklüğünde bir proteindir. Temel etkinliği, böbreklerde sodyum bağımlı fosfat geri Emilimini inhibe etmektir. Bunu NaPi-II taşıyıcı proteinlerinin ekspresyon düzeylerini düşürerek sağladığı gösterilmiştir. Bunun yanında FGF23' ün proksimal tübüllerde meydana gelen 1 α -hidroksilaz aktivitesi üzerine de inhibe edici bir etkisi vardır. FGF23 hormonunun bu etkinliği sonucunda fosfatüri ve dolaşımdaki 1.25(OH)₂ D seviyesinde düşme meydana gelir. 1.25(OH)₂ D bileşiğinin dolaşımdaki seviyesinin düşmesi intestinal olarak fosfat Emilimini düşürür. Bu mekanizmalar aracılığıyla FGF23 hormonu dolaşımdaki fosfat düzeyinin düzenlenmesine katkıda bulunur. FGF23 hormonunun sentezi ve işlevi üzerinde etkin olmaları nedeniyle PHEX, MEPE ve DMP1 faktörleri de fosfor metabolizması açısından önemlidirler. Ancak bu faktörlerin FGF23 hormonunun sentezi ve işlevi üzerine olan etkilerinin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Dolaşımdaki fosfat ve 1.25(OH)₂ D bileşiklerinin seviyelerinde meydana gelen yükselmelerin FGF23 hormonunun sentezini arttırdığı saptanmıştır. Dolayısıyla dolaşımdaki fosfat ve 1.25(OH)₂ D bileşikleri ile FGF23 hormonu arasında karşılıklı olarak birbirini düzenleme şeklinde döngüsel bir ilişki vardır.^{11,14}.

Fosfor hemostazı bakımından vitamin D sterolleri de son derece önemlidirler. D vitamini sterolleri, bağırsak epitel hücrelerinin apikal (fırça kenar) membranlarında sodyum-fosfor kotransportunu arttırmak suretiyle bağırsaklardan fosfor Emilimini teşvik ederler. Bunun yanında diyetle alınan dolayısıyla dolaşıma katılan fosfor düzeyi, böbreklerde üretilen 1 α -hidroksilaz ve kalsitriyol bileşiklerinin üretim düzeylerini etkilemektedir. Dolayısıyla fosfor düzeyi ile vitamin D sterolleri arasında da karşılıklı olarak birbirlerinin konsantrasyonlarını düzenleme ilişkisi

bulunmaktadır. Böbreklerin, fosfor metabolizmasında anılan önemli rollerinden dolayı ilerlemiş kronik böbrek hastalığında fosfor tutulumu veya hiperfosfatemi önemli bir gösterge olarak karşımıza çıkar. Özellikle böbreklerin fonksiyon düzeyi % 20' nin altına düştüğünde belirgin olarak hiperfosfatemi gelişir. Yeterli beslenen diyaliz hastalarında hemen daima hiperfosfatemi gelişir. Ayrıca yine fosfor tutulumu veya hiperfosfatemi, paratiroid hiperplazisine yol açmak suretiyle gelişen sekonder hiperparatiroidizm tablosunu daha da ağırlaştırabilir¹¹.

2.2.16. Kronik Böbrek Hastalığı ve Vitamin D Metabolizması

Vitamin D'nin iki formu bulunmaktadır. Bunlar vitamin D₃ (kolekalsiferol) ve vitamin D₂ (ergokalsiferol) şeklindedirler. İnsan sağlığı açısından özellikle vitamin D₃ formu önemlidir. Buna göre vitamin D₃ güneş ışığına veya ultraviyole ışığa maruz kalan deride oluşmaktadır. Ayrıca besin maddeleri ile de alınabilmektedir. Vitamin D₃ vücuda alındıktan sonra öncelikle karaciğerde hidroksilasyona uğrar ve 25-hidroksivitamin D₃ bileşiğine dönüşür. Bundan sonra ikinci olarak böbrekte hidroksile olur ve 1,25 dihidroksivitamin D₃ (1,25(OH)₂D) bileşiğini oluşturur. Böbrekte meydana gelen bu hidroksilasyon olayını 1 α -hidroksilaz enzimi katalize etmektedir. 1,25(OH)₂D bileşiği vitamin D'nin aktif metabolitidir ve bağırsaklardan kalsiyum emilimini uyarmaktadır. Bu şekilde oluşan 1,25(OH)₂D bileşiğinin paratiroid hücreleri, osteoblastlar ve intestinal enterositler bağlamında hücre içi etki mekanizması da aydınlatılmıştır. Buna göre dihidroksile vitamin D bileşiklerinin sitozolik reseptörleri (vitamin D reseptörü, VDR) bulunmaktadır. Dihidroksile vitamin D bileşikleri öncelikle bu sitozolik reseptörlere bağlanırlar. Bu şekilde oluşan ligand reseptör kompleksi daha sonra çekirdeğe geçer. Bu kompleks çekirdek içerisinde önce retinoid X reseptörüne bağlanır, oluşan yeni kompleks bundan sonra ilgili genlerin promoter bölgelerinde bulunan vitamin D cevap elemanlarına (vitamin D response element) bağlanır. Bu bağlanma, DNA'da konformasyonel değişime yol açar ve bunun sonucunda DNA'ya bağlı kompleks çekirdek içerisinde bulunan başka proteinlerle etkileşir. Bu bağlanma ve etkileşmelerin sonucunda ilişkili genlerin transkripsiyonları artar veya azalır. Örneğin kemik dokusunda VDR aktivasyonu sonucunda osteokalsin proteinin sentezi artarken, tip I kollajen ve kemik sialoprotein sentezleri azalmaktadır. Bunun yanında böbreklerde VDR aktivasyonuna bağlı olarak 50 genin (CaSR geni de dahil olmak üzere) transkripsiyonunun arttığı, 40 genin (renin geni de dahil olmak üzere) transkripsiyonunun azaldığı saptanmıştır. Bağırsak hücrelerinde ise VDR aktivasyonuna bağlı olarak kalbindin proteinin sentezi artar.

Kalbindin proteini sentezinin artmasına bağlı olarak emilim ile alınan Ca^{+2} iyonlarının hücre içerisinde, hücreye zarar vermeden, taşınmaları sağlanır. Bu şekilde Ca^{+2} emilimi arttırılır. Bunun dışında hücre yüzeyinde bulunan vitamin D reseptörlerine de rastlanmıştır. Bu reseptörler aktive olduklarında ikincil haberci mekanizması ile hücre içi sinyal şebekeleri ile etkileşirler. Sonuçta kalsiyum akımında, adiposit metabolizmasında ve antiapoptotik yollarda değişimler meydana gelir^{15,16}.

Normal koşullar altında kalsitriyolün(1,25(OH)₂D) paratiroid bezi üzerine direk ve dolaylı etkileri vardır. Kalsitriyolün paratiroid bezinde pre-pro-PTH transkripsiyonunun azaltıcı etki yapması, direk etkiyi ifade eden bir durumdur. Ayrıca kalsitriyol, intestinal Ca^{+2} emilimini ve kemik dokudan Ca^{+2} salınımını arttırıcı etkide bulunur. Sonuçta yükselen Ca^{+2} iyon konsantrasyonu paratiroid bezinden PTH salınımını azaltır. Bu da kalsitriyolün dolaylı etkisini ifade etmektedir. Kalsitriyolün paratiroid bezi üzerine olan bu etkilerinden dolayı, kronik böbrek yetmezliğine bağlı olarak gelişen hiperparatiroidizimin bir nedeni de azalmış renal kalsitriyol sentezidir. Vitamin D'nin aktif metaboliti (kalsitriyol) normal şartlarda proksimal tübülde üretilir. Kronik böbrek yetmezliğinde gelişen hiperfosfatemiye bağlı olarak renal 1 α -hidroksilaz enzimi baskı altına girer. Dolayısıyla kronik böbrek hastalığı tablosunda, hastalığın bizzat kendisinden kaynaklı ve gelişen hiperfosfatemi kaynaklı olarak vitamin D metabolizması bozulur. Ayrıca, bazı araştırmacılar üremik hastalarda paratiroid dokusunda kalsitriyol reseptörlerinin sayısında azalma olduğunu da ileri sürmüşlerdir. Normalde vitamin D'nin paratiroid dokuda proliferasyonu azaltıcı etkisi olduğu göz önüne alındığında, vitamin D reseptörü sayısında meydana gelen azalmanın paratiroid bezinde meydana gelen büyümenin nedeni olabileceği düşünülebilir¹⁵.

2.2.17. Sağlıker Sendromu

Özellikle gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerdeki KBH hastalarında erken dönemde sekonder hiperparatiroidizmin yeterli tedavisinin yapılamaması sonucu ortaya çıktığı düşünülen bir sendromdur. Hastaların serum fosforu yüksek, kalsiyum değerleri düşük, alkalen fosfataz değerleri ve parathormon düzeyleri artmış olarak bulunur. Fizik muayenede özellikle ağır kafa ve yüz değişiklikleri dikkati çeker. Hastaların boyları normal popülasyona göre kısadır. Maksiller, nazal ve mandibuler destrüksiyon sonucu yüzleri giderek çirkin görünüm almaktadır. Dişlerde ciddi düzensizlikler ve ayrışmalar olur. Sayısal olarak da ciddi azalma mevcuttur. Hastaların birçoğunda oral kavite içerisinde yumuşak doku tümörleri görülebilmektedir. Bu tümörlerin

patolojik incelemesinde malignite unsuru taşımadıkları ve yumuşak doku kalsifikasyonu ile benign mukozal hücre proliferasyonundan oluştukları saptanmıştır²¹. Hastaların bazılarında parmakların distal kısımlarında yukarı doğru kıvrılmalar olur. Bu hastaların önemli problemlerinin bir tanesi de yaşadıkları psikolojik sorunlar ve depresyondur.

Tablo 4. Sağliker sendromu kriterleri

1	Kronik böbrek hastalığı
2	Sekonder hiperparatiroidizm
3	Oldukça ağır kafa ve yüz değişiklikleri
4	Boy kısalığı
5	Oldukça ağır alt ve üst çene değişiklikleri
6	Ağızda patolojik olarak benign olan ancak görünümü tümörü andıran dokular
7	Ağır diş anomalileri
8	Parmak ucu değişiklikleri
9	İşitme kayıpları
10	Psikolojik problemler ve depresyon
11	Scapula değişiklikleri
12	Diz patolojileri ve yürüme bozuklukları

Literatürde bilinen genel kemik değişikliklerine ilaveten bulunan tüm bu patolojik bulguları Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Kliniği ve Türkiye’ nin çeşitli yerlerinden ulusal işbirliği yapan arkadaşları 2004 yılında ayrıntılı olarak tarif etmişlerdir. Sendromun temel özellikleri tablo 4 de sıralanmıştır²¹.



Şekil 7. Sağlıker sendromlu hastaların üst satırda son halleri görülürken alt satırda daha önce çekilmiş olan fotoğrafları görülmektedir²¹.(Sağlıker ve arkadaşlarının izni ile alınmıştır).

Sendrom özellikle gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde görülmekte, gelişmiş ülkelerde ise hemen hemen görülmemektedir. Bunun nedeni olarak ekonomik olarak sıkıntılı ülkelerde KBH hastalarının gerekli medikal tedaviyi alamamaları ve renal replasman tedavilerinin daha geç başlaması olduğu düşünülmektedir. Sendromun görülme sıklığı % 0,5 olarak hesaplanmaktadır. Bu sendromun etyopatogenezi ve klinik belirtileri konusunda halen araştırmalar devam etmektedir. Ayrıca sendromun hastalardaki klinik bulguların şiddetine göre sınıflandırılmasında yapılmaktadır buna göre major kriterlerden olan yüz değişikliğinin olması ağır tipi gösterirken diğer major kriter olan boy kısalığının varlığı orta tipi göstermektedir. Bu iki bulgunun olmadığı hastalar ise hafif grubu oluşturmaktadır. Bu bulguların tablo şeklinde ifadesi ve daha önce yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

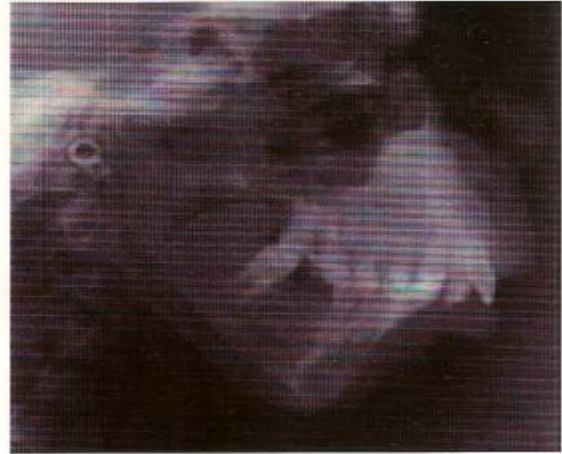
Tablo 5. Sagliker sendromunun evreleri.

EVRE	KLİNİK BULGU
Ağır Evre	Yüz değişikliğinin varlığı ve/veya hafif ve orta evre bulguları
Orta Evre	Boy kısalığının varlığı ve/veya hafif evre bulguları
Hafif Evre	Major kriterlerin haricindeki bulguların görüldüğü hastalar

Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi tarafından 2006 yılında yapılan çalışmada Sagliker sendromlu hastalarda Klas II maloklüzyon, maksiller genişleme ve ileri doğru protrüzyon ve mandibuler geriye doğru çekilme defektleri saptanmıştır²². Bu bulguların hastalardaki maksiller kemiğin vertikal gelişimine ve mandibulanın posterior rotasyonuna bağlı olarak geliştiği düşünülmüştür. Çalışmada 9 hasta değerlendirilmiş ve sadece 2 hastada normal alt ve üst çene gelişimi görülmüştür. Kalan hastalarda ise hafifden şiddetliye değişen maloklüzyonlar saptanmıştır. Çalışma sırasında hastaların çekilen sefalometrik X-Ray fotoğraflarında bu hastalar ile normal kişiler arasındaki ciddi farklılıklar gözlenmiştir²².



Şekil 8. Normal insan sefalometrik X-Ray²²
(Uzel ve arkadaşlarının izni ile alınmıştır).



Sagliker sendromlu hasta sefalometrik X-Ray²²



Şekil 9. Ciddi klas II maloklüzyonu olan dört Sagliker sendromlu hastanın anteroposterior ve lateral yüz renkli fotoğrafları²² (Uzel ve arkadaşlarının izni ile alınmıştır).

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Adana Hastanesi Nöroloji kliniğinin Sagliker sendromlu hastalarda yaptığı çalışma sonucunda 12 hasta değerlendirilmiş ve tüm hastalarda nöropsikiyatrik bulgu ve semptomlar gözlenmiştir²³. Böbrek yetmezliğinin başlangıcından sinir sisteminin tutulumuna kadar geçen süre ortalama 2,8 yıl olarak bulunmuştur. Hastaların % 50' sinde kronik baş ağrısı, % 33,3' ünde polinöropati, % 25' inde mononöropati, % 25' inde epilepsi, % 33,3' ünde kranyal nöropati, % 16,6' sında hafif serebellar ataksi, % 41,6'sında halsizlik, % 16,6 sında uyku bozuklukları ve % 25 inde parestezi saptanmıştır. Psikiyatrik manifestasyonlar hastaların % 50' sinde bulunmuştur. Bunların % 25'i depresyon, % 16,6'sı anksiyete bozukluğu, % 8,3'ü hafif kognitif bozukluklardır. Çalışmanın verileri tablo 6'da özetlenmiştir²³.

Tablo 6. Sağliker sendromlu hastalarda nörolojik bulgular²³

Semptom	Hasta Sayısı	Yüzde
Baş ağrısı	6	% 50
Polinöropati	4	% 33,3
Mononöropati	3	% 25
Epilepsi	3	% 25
Kranyal Nöropati	4	% 33,3
Serebellar Ataksi	2	% 16,6
Yorgunluk	5	% 41,6
Uyku Bozukluğu	2	% 16,6
Paraestezi	3	% 25
Psikiatrik Manifestasyonlar	6	% 50
Duygu durum Bozuklukları	3	% 25
Anksiyete	2	% 16,6
Bilinçsel Bozukluk	1	% 8,3



Şekil 10. Sagliker sendromlu hastaların yüz görünüşleri²¹.(Sağlıker ve arkadaşlarının izni ile alınmıştır).



Şekil 11. Sağlıker sendromlu hastaların yüz görünüşleri²¹.(Sağlıker ve arkadaşlarının izni ile alınmıştır).

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz kliniği tarafından yapılan ve Sağliker sendromlu 12 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada timpanogramla yapılan ölçümlerde hiçbir hastada patoloji saptanmazken odyolojik muayene ve odyometrik ölçümlerde 3 hastada orta derecede, 2 hastada ileri derecede işitme kaybı olduğu ve bu kaybında sensörinöral tipte olduğu ortaya konmuştur. Timpanogramla yapılan muayenenin normal olması bu sendromlu hastalarda iddia edilen kemik yolu ile iletim kusuru olduğu hipotezini de zayıflatmıştır. Çalışmanın özet olarak değerlendirilmesi tablo 7’ de görülmektedir.

Tablo 7. Sağliker sendromlu hastaların odyolojik değerlendirmesi

İşitme Düzeyi	Hasta Sayısı	Yüzde
Normal	7	% 58,3
Orta	3	% 25
Kötü	2	% 16,6

2.2.18. GNAS 1 geni

Tezin giriş ve amaç bölümünde de bahsedildiği gibi bugüne kadar bu sendromun etyopatogeneze dair yapılan çalışmalarda kesin neden belirlenememiştir. Tezimizin ana unsuru bu araştırmalar sonucu nedeni belirlenemeyen bu sendromun genetik bir bozukluk sonucu meydana geldiği düşüncesidir. Hindistan’ın Nagpur vilayetinden Sağliker sendromlu vaka bildirilen bir bölgeden son günlerde dünyanın en kısa boylu insanların da varolduğunun bildirilmiş olması bu tezimizi destekler niteliktedir. Ayrıca sendroma yol açabileceği düşünülen hormonal, biyokimyasal ve metabolik birçok neden bugüne kadar yapılan araştırmalar sonucu dışlanmıştır. Bu nedenle sendromun genetik bir defekt sonucu ortaya çıktığı düşüncesi giderek güçlenmiştir. Bu çalışmada sendroma yol açabilecek en muhtemel olduğunu düşündüğümüz GNAS 1 gen mutasyonunun bu sendromlu hastalarda varolup olmadığı incelenmiştir.

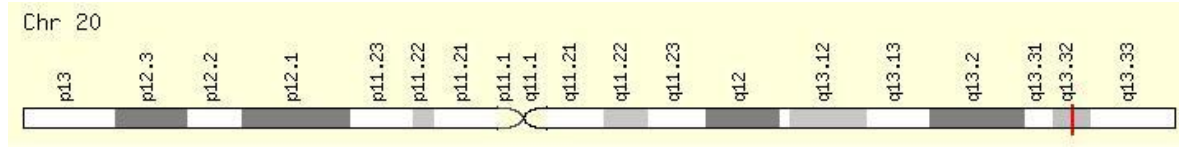
GNAS 1 geni 13 ekzondan oluşmaktadır ve araştırmalarda bu ekzonlardan en fazla mutasyon görülenleri 7. ve 13. ekzonlar olduğu gösterilmiştir⁵. Diğer ekzonlarla ilgili görülen mutasyonların non patojenik mutasyonlar olduğu bilinmektedir. Bu nedenle çalışmada bu iki

ekzonun değerlendirilmesi planlanmıştır. GNAS 1 geni 20. kromozomun uzun kolu (20q13) üzerinde yer almaktadır ve stimulator G proteininin α subunitini kodlamaktadır ($G_s \alpha$). G proteinleri ekstraselüler reseptörleri hücre içi efektör proteinlere örneğin iyon kanalları, adenilil siklaz ve fosfolipaz C gibi ikincil haberci sistemlerle bağlayarak etki göstermektedirler⁵. G proteinlerinin alfa, beta ve gama olmak üzere üç tane subuniti mevcuttur ve her bir subunitin kodladığı bölge farklıdır. G proteininin α subuniti guanin nükleotid bağlama bölgesi içermektedir ve intrinsik GTPaz aktivitesine sahiptir. Stimulator G proteininin α subuniti ($G_s \alpha$) parathormon, tiroid stimulan hormon ve luteinizan hormon gibi birçok hormonu adenilil siklaza bağlamaktadır ve bu olay sonucunda hormonlar iletildikleri dokularda etkilerini gösterebilmektedir. İki farklı alternatif splicing olayı neticesinde meydana gelen 4 primer $G_s \alpha$ transkripti mevcuttur. Transkriptin tamamı 52 kDa' luk bir proteini oluşturmaktadır (izoform 1 ve 2). Oysaki ekzon 3'ün alternatif splicingi 45 kDa' luk daha kısa olan bir izoform oluşturmaktadır (izoform 3 ve 4)⁵.

Bugüne kadar GNAS 1 geni içerisinde çeşitli mutasyonlar tanımlanmıştır. Özellikle küçük insersiyonlar/delesyonlar ve aminoasit yer değişiklikleri predominant olarak farklılaşmış translasyon başlangıcı veya bozuk mRNA splicinglenmesine neden olan nonsense mutasyonlar ve nokta mutasyonlar bunlardan bazılarıdır. En yaygın gözlenen mutasyon ekzon 7 de 4 baz çiftlik bir delesyondur. Dünyada 11 ailede tanımlanmıştır. Bazı vakalarda bu mutasyonun denovo olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir. Diğer mutasyonların büyük bölümü her aileye özgün olarak bulunmuştur fakat bazı mutasyonlar özellikle ekzon 1, 4, 5, 10 ve 13 de belirgin bir şekilde gözlenmektedir. Aldred ve Trembath⁶ ekzon 13'de 1106-1108 nükleotidlerinde üç farklı insersiyon/delesyon tanımlamışlardır ve bu mutasyonun önemini belirtmişlerdir. Bugüne kadar ekzon 7'de 11 farklı ailesel ya da sonradan sporadik olarak meydana gelen frameshift mutasyonlar tanımlanmıştır. Ekzon 13'de ise 6 tane frameshift, in-frame insersiyon ve missense mutasyonlar tanımlanmıştır⁶.

GNAS 1 geninde gelişimin erken döneminde meydana gelen mutasyonlar sonucu birçok hormon reseptörü otonom çalışmaya başlamaktadır ve netice olarak kemik, cilt ve endokrin sistemlerde bozukluklar ortaya çıkmaktadır⁶. İskelet lezyonları mezenkimal hücrelerin osteoblastlara dönüşmemesine bağlanmaktadır. Bunun neticesinde kusurlu kemik oluşumu ve çeşitli dokularda kalsifikasyonlar görülmektedir. Çeşitli endokrin glandlarda meydana gelen bozukluklar sonucu puberte prekoks görülmesine neden olmaktadır. Ayrıca tirotoksikoz, Cushing

Sendromu, Akromegali, Hiperparatiroidi ve psödo puberte prekoks görülen vakalarda bildirilmiştir⁶. Bu nedenle çalışmada bu endokrin bozukluklarda taranmıştır.



Şekil 12. GNAS 1 geninin 20. kromozom üzerindeki lokalizasyonu⁵.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hormonal ve Biyokimyasal Parametreler

Çalışmaya alınan hastalar Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Nefroloji kliniğine başvuran ve ülkenin çeşitli illerindeki hastaneler ve hemodiyaliz ünitelerince tarafımıza bildirilen Sağlıker sendromlu hastalar arasından ulaşılan hastalardır. Çalışmaya 4 bayan ve 11 erkekten oluşan toplam 15 hasta dahil edildi. Kontrol grubu olarak Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Dahiliye kliniğine başvuran fizik muayene ve laboratuvar tetkiklerinde bir patoloji saptanmayan hastalar seçildi. Çalışmaya alınan hastalardan jelli biyokimya tüpüne 2 cc venöz kan örneği alınarak serum parathormon, alkalen fosfataz, kalsiyum, fosfor, GH, serbest T₃ ve T₄, TSH, kalsitonin ve erkeklerde total testosteron, bayanlarda ise FSH ve LH düzeyleri saptanması planlandı. Ayrıca EDTA'lı tüpe 2 cc venöz kan örneği alınarak 25-OH. Vitamin D₃ düzeyi ile hemoglobin elektroforezlerinin değerlendirilmesi yapıldı.

Hastalardan alınan venöz kan örneklerinin incelenmesi Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboraturında bulunan İmmulite 2000 (Kalsitonin), Agilent 1100 (25-OH. Vitamin D₃), Moduler E-170 (FSH, LH, Total Testosteron, Parathormon, Serbest T₃ ve T₄, TSH) ve Moduler TPP (Kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz) markalı cihazlar ile yapılmıştır.

3.2. Radyolojik parametreler

Hastalarda önceden bilinen sekonder hiperparatiroidizm olması ve yeterli medikal tedaviyi erken dönemde ve uygun şekilde alamamaları nedeniyle olduğu düşünülen sekonder osteoporozun varlığının saptanması amacıyla tüm hastalara kemik dansitometrisi yapılması planlandı. Hastaların kemik dansitometri ölçümleri ise Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji kliniğine ait Explorer Hologic QDR Series markalı cihaz ile yapılmıştır.

3.3. Sitogenetik Çalışmalar

Kromozom analizi için, Sağliker sendromu tanısı konmuş 15 hasta ile bu hastaların birinci derece yakınlarından oluşan 26 kişinin 72 saatlik kan kültürleri yapıldı.

3.3.1. 72 Saatlik Kan Kültürünün Yapılışı ve Kromozomları Analizi

- Steril şartlarda heparinle yıkanmış enjektöre 1'er ml periferik kan örneği alındı.
- Her birey için, içerisinde 3' er ml normal besiyerlerinin (RPMI-1640, R0883) (EK-2) bulunduğu steril kültür tüplerine her olgu kanından 3' er damla ilave edilerek ekim yapıldı.
- Kültür tüpleri hafifçe karıştırıldıktan sonra 37°C'de 72 saat süreyle inkübatörde tutuldu.
- Kültüre 70 saat sonra her tüpe final konsantrasyonu 10 µg/ml olacak şekilde 30 µl kolşisin (EK-2) eklendi ve iki saat daha kültüre devam edildi.
- Süre sonunda, tüpler hafifçe karıştırıldıktan sonra 1200 devirde 10 dk santrifüj edildi.
- Daha sonra tüplerin üstünde kalan süpernatant pastör pipeti ile atıldı. Dipte kalan çökelti, tüpün alt kısmına parmakla hafifçe vurarak karıştırıldı.
- Tüplere 6'şar ml hipotonik solüsyonu (0.075 M KCl) (EK-2) ilave edildi ve 13 dk etüvde bekletildi.
- Süre sonunda her tüpe 6 damla soğuk fiksatif solüsyonu (EK-2) eklenerek karıştırıldı.
- Tüpler 1200 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
- Süpernatant atıldıktan sonra çökelti tekrar hafifçe karıştırıldı ve üzerine taze hazırlanmış 6 ml fiksatif solüsyonu ilave edildikten sonra 1200 devirde 10 dk santrifüj edildi.
- Üçüncü kez fiksatif ile yıkamadan sonra, çökeltinin miktarına göre çok az fiksatif bırakılıp pipetajlanarak hücre süspansiyonu elde edildi.
- Daha önceden temizlendikten sonra asetonda bekletilen ve yaymadan en az 24 saat önce saf sudan geçirilerek buzdolabında soğutulmuş olan lamalar üzerine 30°'lik bir eğimle 1-2 damla hücre süspansiyonu damlatılarak yayma yapıldı.
- Lamlara hastanın ismi yazılarak havada kurutuldu.
- Yayılan preparatlar yaşlandırmak amacıyla 2 gün 37°C'de inkübatörde bekletildi.
- Preparatlar, yapısal ve sayısal kromozom anomalileri saptamak amacı ile GTG-bandlama yöntemi ile boyandı.

- Bantları boyanmış metafaz kromozomları mikroskop altında sayısal ve yapısal olarak incelendi.
- Hazırlanan preparatlar 100X objektifte incelendi.
- Her birey için yaklaşık 20 metafaz plağı incelenmeye çalışıldı. Ancak mitotik indeksi düşük olan preparatlarda mevcut olan metafaz plakları incelendi.
- Preparatlar inceleme sonrası Ksilol' den geçirilerek immersiyon yağından temizlendikten sonra entellan ve lamel ile kapatılarak devamlı hale getirildi ve fotoğraf çekimi için saklandı.

3.4. Moleküler Çalışmalar

3.4.1. DNA Eldesi

Saglıker sendromu tanısı konmuş 15 hasta ile bunlara karşı oluşturulan 15 kontrol grubunun periferik kan örneklerinden GNAS1 geni ekzon 7 ve ekzon 13'deki olası mutasyonların tespiti amacı ile doymuş tuz çözeltisi ile çöktürme yöntemi kullanarak genomik DNA izole edildi.

3.4.1.1. Doymuş Tuz Çözeltisi ile Çöktürme Yöntemi ile Kandan DNA İzolasyonu

1. Hasta ve kontrollerden alınan ve EDTA'lı tüplere aktarılan 3 ml kandan 750 µl steril ependorf tüplere alındı.
2. Her bir ependorf tüpün üzerine 750 µl eritrosit lizis tamponu (EK-1) eklendi ve 3 dk soğuk buz üzerinde bekletildi.
3. Süre sonunda 4500 devirde 5 dk santrifüj edildi.
4. Üstte kalan süpernatant kısım dökülerek pellet üzerine 1 ml eritrosit lizis ilave edildi ve pellet çözelti içerisinde homojen oluncaya kadar çalkalandı.
5. Daha sonra 4500 devirde 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant kısım döküldü.
6. Altta kalan pelletin üzerine bu defa 1 ml fizyolojik tampon (EK-1) ilave edildi ve yine pellet homojen bir şekilde karışuncaya kadar çalkalama işlemine tutuldu.
7. Yine 4500 devirde 5 dk santrifüj edilerek üsteki sıvı atıldı.
8. Fizyolojik tampon aşaması bir kez daha tekrarlandı.
9. Sonra pelletin üzerine 300 µl TE-9 (pH:9), 100 µl %10'luk SDS ve 20 µl 10 mg/ml proteinaz K ilave edilerek 2 saat 65 °C'deki benmaride bekletildi (EK-1).

10. Süre sonunda pelletin parçalanıp parçalanmadığı kontrol edildi ve parçalanma durumunda üzerine 200 µl doymuş (6M) tuz çözeltisi (EK-1) ilave edildi ve bulutsu, süt görünümü elde edilene kadar hafifçe karıştırıldı.
11. 13000 devirde 10 dk santrifüj edilerek proteinlerin presipite olması sağlandı.
12. Üstteki berrak kısım temiz ependorf tüplere aktarıldı.
13. Üzerine yaklaşık 1 ml saf etanol eklendi ve DNA oluşumu gözlemlendi.
14. 13000 devirde 10 dk santrifüj edilerek DNA'nın çökmesi sağlandı.
15. Alkol uzaklaştırıldıktan sonra alttaki pellet iki kez %70'lik alkol (EK-1) ile yıkandı ve sonradan kurumaya bırakıldı.
16. Kuruma tamamlandıktan sonra pelletin üzerine 100 µl distile su ilave edilerek DNA'nın yeniden çözülmesi sağlandı.
17. DNase inhibisyonu için DNA örnekleri 65-70 °C'de 15 dk bekletildi.
18. Daha sonra -20 °C'de PCR yapmak üzere saklandı.

3.4.1.2. GNAS 1 Geni Ekzon 7 ve Ekzon 13'deki Olası Mutasyonların Dizi Analizi ile Tespiti

GNAS1 geninin her iki ekzonuna özgü primerler tarafımızca dizayn edildi (Şekil 13).

GNAS1 Geni Ekzonları	Kullanılan Primerler
Ekzon 7	Forward primer: 5'-tggcaaattgatgtgagcgctgtg-3' Reverse primer: 5'-agtctggagtagtttgaaagag-3'
Ekzon 13	Forward primer: 5'-ctggcgagggtgtcactgacaag-3' Reverse primer: 5'-gccctatgggtgggtgattaactgc-3'

Şekil 13. GNAS1 geni, ekzon 7 ve ekzon 13'ün dizi analizinde kullanılan primerler

Primer seçimi tamamlandıktan sonra primerlerin gen üzerindeki yerleri belirlendi ve dizi analizi yapmadan önce tek bir bant elde edilinceye kadar ekzon bölgeleri PCR ile çoğaltıldı (PCR ürün büyüklüğü ekzon 7 için 366 bp, ekzon 13 için 535 bp'dir)(Şekil 14).

(a)

PCR Bileşeni	Final Konsantrasyon	50 µl reaksiyon karışımında miktar
Primer 1 (10 pmol/µl)	0,2 pmol	1 µl
Primer 2 (10 pmol/µl)	0,2 pmol	1 µl
MgCl ₂ (25 mM)	2 mM	4 µl
dNTP mix (2,5 mM)	0,02 mM	0,4 µl
Taq polimeraz (Fermantas)	5 U	0,5 µl
Genomik DNA	50 ng	1 µl
10xPCR tamponu	1X	5 µl
Su		37,1 µl

(b)

1. Ön denatürasyon	94 °C’de 3 dk	1 döngü
2. Denatürasyon	94 °C’de 30 sn	35 döngü
Bağlanma (annealing)	62 °C’de 40 sn (Ekzon 7) 72 °C’de 40 sn (Ekzon 13)	
Uzama (extention)	72 °C’de 40 sn	
3. Final Uzama	72 °C’de 12 dk	1 döngü
4. 4 °C’de muhafaza		

Şekil 14. GNAS1 geni ekzon 7 ve ekzon 13 için (a) optimal amplifikasyonun gerçekleştiği PCR reaksiyonu ve (b) PCR programındaki ısı döngüleri

İlgili ekzonun çoğalma işlemi tamamlandıktan sonra örneklerin dizi analizleri için ABI'nın dizi analiz kitindeki reaksiyonu karışımı ve thermal cycler programı kullanılarak bölgenin amplifikasyonu sağlandı (Şekil 15)

(a)

Reaksiyon Karışımı	Miktar (ml)
BigDye	2
Tampon	2
Primer (3.2 pmol)	1
PCR Ürünü	2
Distile Su	3
Toplam	10

(b)

1. Ön denatürasyon	96 °C'de 1 dk	1 döngü
2. Denatürasyon	96 °C'de 10 sn	25 döngü
Bağlanma (annealing)	62 °C'de 5 sn (Ekzon 7) 72 °C'de 5 sn (Ekzon 13)	
Uzama (extention)	60 °C'de 4 dk	
3. 4 °C'de muhafaza		

Şekil 15. (a) Dizi analizinde kullanılan reaksiyon karışımı, (b) Thermal cycler programı

Çoğaltılan rnler daha sonra purifikasyon kiti (Roche) ile saflaştırıldı. Saflaştırma işleminden sonra ürünler sequence plate üzerindeki kuyulara yüklendi ve 95  C'de 5 dk denatüre edildi ve ardından -20  C'de 3 dk bekletilerek soğuması sağlandı. Sonra plate sequencing cihazına (ABI 3130) yerleştirildi ve başlama komutu alınarak dizin analizinin gerçekleşmesi sağlandı. Okumanın bitmesinden sonra okunan diziler kaydedildi ve National Center for Biotechnology Information (NCBI)/Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) web sayfasında gen dizilerindeki benzer ve farklı bölgeler belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Hormonal ve Biyokimyasal Bulgular

Çalışmaya alınan hastalar 4 bayan ve 11 erkekten oluşuyordu. Hastaların yaş ortalaması 26,46 olarak hesaplandı. Ortalama diyalize girme süreleri 11,8 yıl olarak bulundu. Hastaların boy ortalaması 135,87 cm olarak bulundu. Çalışmaya dahil edilen hastalardan en kısa boylu olanı 105 cm iken en uzun boylu olan hastanın 160 cm olduğu tespit edildi. Bayanlar ve erkekler için ayrı ayrı boy ortalaması alındığında ise çalışmaya katılan 4 bayan hastanın boy ortalaması 136 cm idi. 11 erkek hastanın boy ortalaması ise 135,82 cm olarak bulundu. Bu bulgular Sagliker sendromlu hastalardaki boy kısalığını kati şekilde göstermektedir.

Çalışmaya alınan 4 hastada sekonder hiperparatiroidizm nedeniyle paratiroidektomi geçirme öyküsü mevcuttu. Diğer 11 hastanın serum parathormon düzeyi ortalaması 806,73 pg/ml olarak bulundu. Bu hastaların parathormon düzeylerinin 181 pg/ml ile 1905 pg/ml arasında değişmekte olduğu tespit edildi. Hastaların serum kalsiyum düzeyi ortalamaları 9,06 mg/dl olarak bulundu. Serum kalsiyum düzeyi aralığı ise en düşük 6,3 mg/dl ile en yüksek 11,1 mg/dl arasında bulundu. Hastaların serum inorganik fosfat düzeyi ortalaması 4,51 mg/dl olarak bulundu. Serum inorganik fosfat aralığı düzeyi ise en düşük 2,5 mg/dl ile en yüksek 7,3 mg/dl arasında bulundu. İnorganik fosfat için normal serum değerleri 2,7-4,5 mg/dl arasındadır. Bu açıdan değerlendirildiğinde hastalarda üst sınırı geçmiş serum inorganik fosfat düzeyleri olduğu gözlenmektedir. Hastaların serum alkalen fosfataz düzeyi ortalaması 657,47 U/L olarak bulundu. Serum alkalen fosfataz düzeyi aralığı ise en düşük 150 U/L ile en yüksek 1926 U/L arasında bulundu. Serum alkalen fosfataz düzeyinin normal aralığı 5-270 U/L olduğu düşünülürse hastalarda oldukça yüksek değerler saptandığı görülmektedir. Serum kalsiyum, inorganik fosfat, alkalen fosfataz ve parathormon düzeyleri incelendiğinde hastalarda sekonder hiperparatiroidizmin aşırı bir şekilde mevcut olduğu görülmektedir.

Hastaların serum 25-OH. Vitamin D₃ düzeyleri 14,3 ng/ml ile 58 ng/ml arasında değişmekteydi ve tamamı normal sınırlar içerisinde yer almaktadır. Bu sonuç hastalarımızda 25-OH. Vitamin D₃ eksikliği olmadığının kanıtı niteliği taşımaktadır.

Erkek hastalarda bakılan total testosteron düzeyi ortalaması 6,68 ng/ml olarak bulundu ve tüm hastalarda normal sınırlar içerisinde olduğu tespit edildi. Bayan hastalarda bakılan FSH ve LH değerleride aynı şekilde normal sınırlar içerisinde yer almaktaydı. Ayrıca bayan hastaların hiçbirisinde adet düzensizliği, hirsutizm, virilizm veya puberte prekoks gibi eşey hormon bozukluklarını düşündürecek anamnez ve fizik muayene bulguları mevcut değildi.

Hastaların kalsitonin düzeyleri 2 pg/ml ile 17,8 pg/ml arasında değişmekteydi ve yine tamamı normal sınırlar içerisinde yer almaktaydı. Hiçbir hastamızda hipotiroidi veya hipertiroidi gibi tiroid fonksiyon bozukluklarına rastlanmadı. Hastaların bakılan serum serbest T₃ değerleri 3,04 pg/ml ile 4,4 pg/ml arasında olup normal sınırlar içerisinde yer almaktadır. Ayrıca bakılan serbest T₄ düzeyleride 0,80 ng/ml ile 2,33 ng/ml arasında olup normal sınırlar içerisinde yer almaktadır. Tiroid fonksiyonlarının değerlendirilmesinde en önemli parametrelerden biri olan serum TSH düzeyleri ise 0,48 mIU/L ile 3,7 mIU/L arasında değişmekte olup tamamı normal sınırlar içerisinde yer almaktadır.

Ayrıca çalışma sırasında bu sendromun görüldüğü hastalarda boy kısalığının da olması nedeniyle büyüme hormonu düzeyinide bakılmış ve sonuçların normal olduğu bulunmuştur. Yani sendrom görülen hastalarda büyüme hormonu eksikliği veya fazlalığı söz konusu değildir.

Ayrıca yapılan çalışmada Sagliker sendromlu hastaların tipik yüz görünümü ve talasemiye bölgemizde sık rastlanması nedeniyle talasemiyi ve orak hücreli anemiyi dışlamak amacıyla hemogloblin elektroforezi bakılmış ve 15 Sagliker sendromlu hastanın hiçbirisinde talasemi hastalığı, orak hücreli anemi veya taşıyıcılıklarına dair bir bulgu olmadığı saptanmıştır. Çalışmada elde edilen veriler özet olarak tablo 8 de aşağıda sunulmuştur.

Tablo 8. Hasta sonuçları

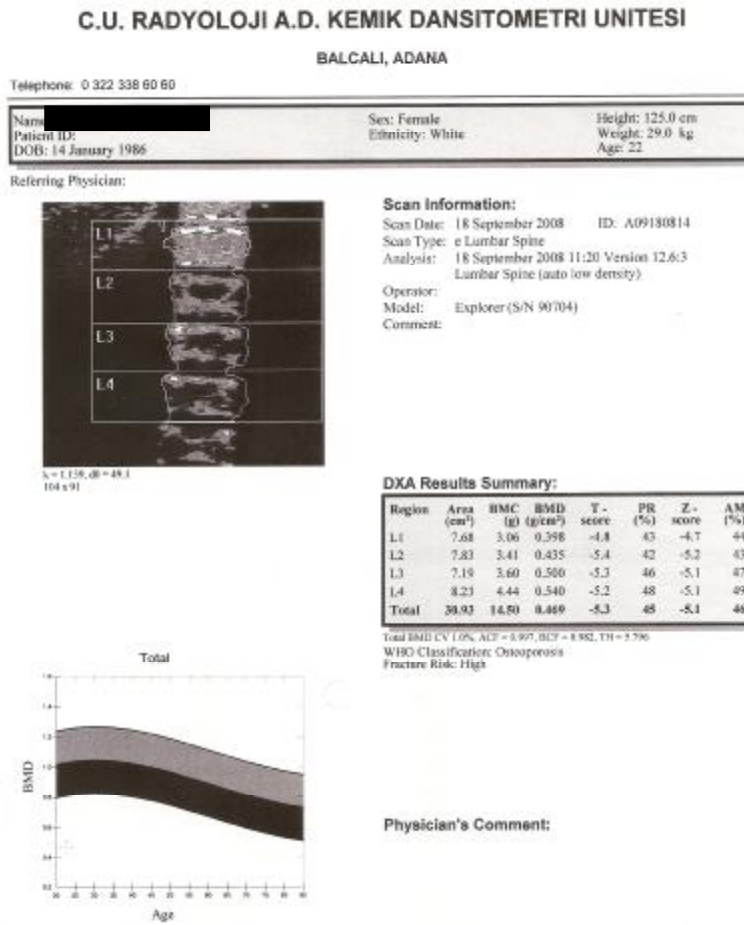
Hasta	PTH	Ca	Pi	ALP	sT ₃	sT ₄	TSH	T.Tes	FSH	LH	Vit.D ₃	Kalsitonin	GH
H.K.	1027	8,7	6,5	560	3,6	1,18	2,5	7,5			33	4	7,47
C.A.A.	538,6	7,6	6,2	236	2,37	0,98	0,95	5,38			35	4,5	2,54
G.G.	181,7	10,1	2,5	780	2,65	1,95	3,93		8,2	12,4	25	2	1,63
C.Ö.	303,3	9,9	5,3	240	3,24	1,36	1,17	8,5			34	2,89	5,7
S.K.	484	6,3	7,3	1099	3,74	1,16	2,35	5,66			55	2,08	4,6
U.K.	1094	9,3	4,1	320	3,6	1,2	3,09	8			27	15,2	2,17
R.B.	1905	9,7	3,4	909	4,09	2,33	0,47	2,51			14,3	21,8	4,25
T.S.	218	8,6	4,6	715	3,2	1,04	1,6	5,12			31	15	8,8
P.A.	38,17	8,3	3,3	201	3,18	1,36	2,97		4,99	19,55	42	14,5	1,35
K.K.	67,03	11,1	4,5	242	3,63	1,48	1,76	6,98			58	8	5,5
İ.K.	461,7	9,5	3,7	681	5,4	1,27	3,73	4,6			22	5,8	1,46
F.S.	153,9	9	4	242	2,77	1,32	2,4		5,68	4,54	19	4,5	6,8
S.U	1882	8,8	3,3	1926	3,67	0,79	1,39	10,29			35	6,73	3,72
S.S.	18,3	8,1	6,5	150	4,1	1,2	3,9	9			37	12	7,39
H.D.K	57,85	10,6	2,6	234	3,11	1,03	2,53		5,68	4,54	33	2	2,36

Tablo 8. devamı

Hasta	T skoru vertebra	T skoru kalça	HbA₁	HbA₂	HbF	HbS	Yaş	Boy(cm)
H.K.	-4,5	-4,5	97	3,0	0	0	15	105
C.A.A.	-3,5	-2,6	96,9	3,1	0	0	21	155
G.G.	-2,5	-4,9	97,5	2,5	0	0	21	125
C.Ö.	-2,7	-4,6	97,9	2,1	0	0	30	120
S.K.	-3,9	-0,8	97	3,0	0	0	23	110
U.K.	-2,4	-1,5	97,4	2,6	0	0	26	155
R.B.	-3,9	-3,3	97,9	2,1	0	0	42	160
T.S.	-3,4	-2,3	98,1	1,9	0	0	20	140
P.A.	-2,4	-2,6	97,2	2,8	0	0	30	145
K.K.	-3,2	-2,0	97,8	2,2	0	0	32	160
İ.K.	-3,2	-2,7	97,4	2,6	0	0	18	120
F.S.	-2,4	-2,6	97,2	2,8	0	0	23	144
S.U	-5,3	-4,1	98	2,0	0	0	27	120
S.S.	-4,7	-3,2	97,7	2,3	0	0	23	140
H.D.K	-2,6	-1,0	97,9	2,1	0	0	29	130

4.2. Radyolojik Bulgular

Yapılan kemik dansitometrisi ölçümleri sonucu hastalarda ciddi osteoporoz varlığı saptanmıştır. Özellikle 4 bayan hastanın kalça total T skoru ortalaması -2,88 olarak bulunurken lumbal vertebra total T skoru ortalaması -3,58 olarak bulunmuştur. Erkek hastalar için yapılan inceleme sonucu kalça total T skoru ortalaması -3,16 olarak bulunurken lumbal vertebra total T skoru ortalaması -3,70 olarak bulunmuştur.



Şekil 16. Sağlıker sendromlu bir hastanın kemik dansitometrisi.

4.3. Sitogenetik Bulguları

Çalışmamızda 15 hasta ve bu hastaların birinci derece yakını olan 26 bireyin sitogenetik düzeyde analizleri yapıldı. Her birey için 12-20 metafaz plağı analiz edildi. Sonuçlara baktığımızda hastaların ve birinci derece yakınlarının tümünün normal karyotipe sahip oldukları gözlemlendi (46,XX/46,XY). Ancak 4 hastanın 9qh+, 1 hastanın 13ps+ ve Yqh+, ve 5 hastanın bazı metafazlarında 1,2,3,4,5,6,7,10 ve 16. kromozomlarının işe karıştığı kromozom kırıkları, gap, fragil bölge, delesyon ve translokasyonlar şeklinde kromozom aberasyonlarına sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 17) (Şekil 19).

	Hasta Adı	Karyotip [Mitoz sayısı (anormal/total)]
1	F.O.	46,XY, 9qh+ (20/20)
2	C.A.A.	46,XY,chtb(16)(q22)(1/20) 46,XY,chtb(2)(q23) (1/20) 46,XY,gap(2)(q23)(17/20) 46,XY,chtb(2)(q31),fra(5)(q31)(1/20)
3	G.G.	46,XX (14/14)
4	C.Ö.	46,XY, 13ps+, Yq+ (12/12) 46,XY,t(1;3)(p32q25)(1/12)
5	S.K.	46,XY (14/14)
6	U.K.	46,XY (10/10)
7	F.G.	46,XY (18/20) 46,XY,fra(6)(q22) (1/20) 46,XY,fra(7)(q22) (1/20)
8	T.S.	46,XY (6/20) 46,XY,9qh+ (10/20) 46,XY,chtb(4)(q31) (1/20) 46,XY,del(10)(p15) (1/20)

		46,XY,gap(7)(q22) (1/20) 46,XY,gap(5)(p31) (1/20)
9	P.A.	46,XX (12/12)
10	Ö.A.	46,XY, 9qh+ (20/20)
11	İ.K.	46,XY,9qh+ (20/20) 46,XY,gap(6)(q21) (5/20) 46,XY,gap(10)(q22) (2/20)
12	Y.S.	46,XY
13	S.U	46,XY
14	S.S.	46,XY
15	H.D.K	46,XX

Şekil 17. Hastaların karyotip sonuçları

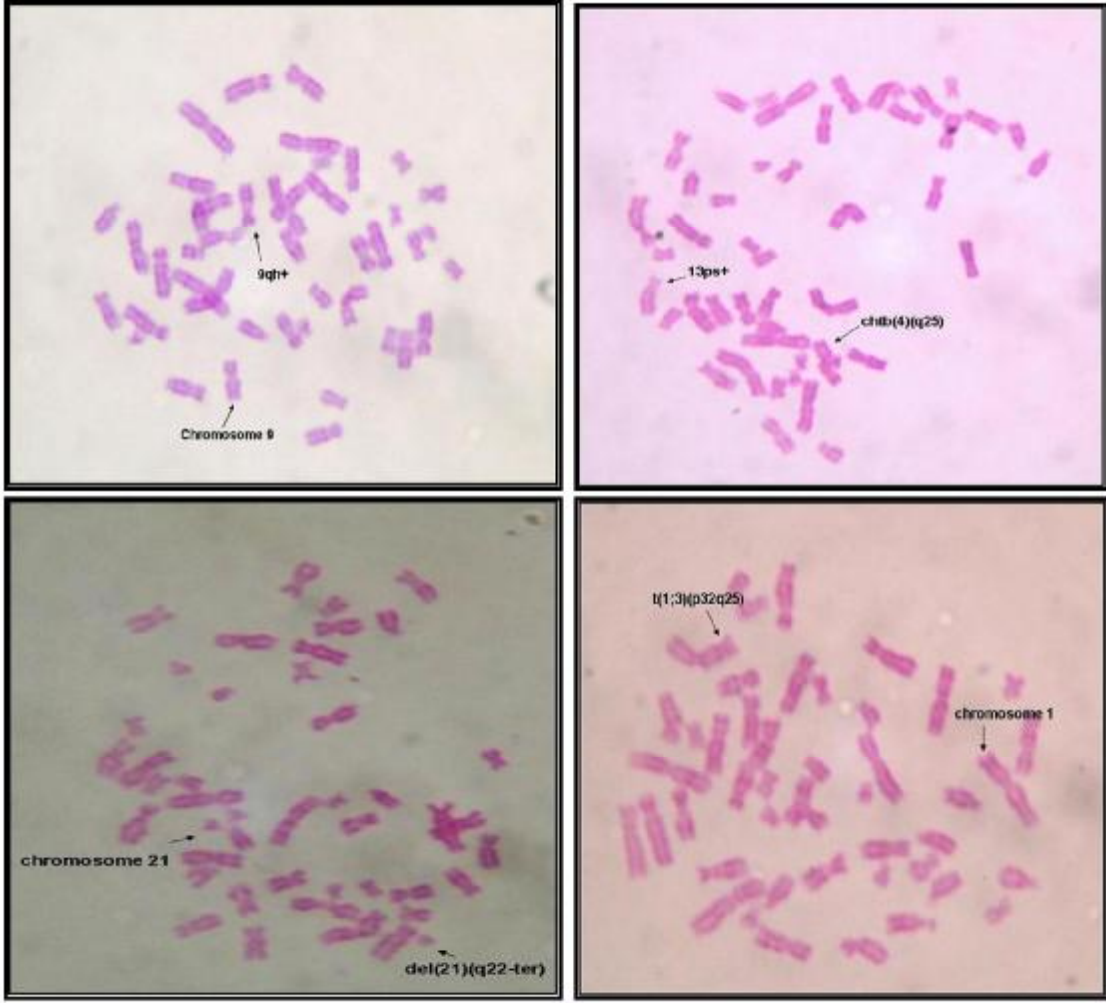
Hasta yakınlarına baktığımızda, 8 bireyin bazı metafazlarında 2, 4, 5, 6, 7, 15, 21 ve X kromozomlarının işe karıştığı kromozom aberasyonlarının olduğu belirlendi (Şekil 19) (Şekil18).

	Yakınlarının İsimleri	Karyotip [Mitoz sayısı (anormal/total)]
1	E.K.	46,XX,13ps+ (13/13), 46,XX,chtb(4)(q25)(1/13)
2	S.S.	46,XX (12/14) 46,XX,+11,+20 (1/14) 46,XX,fra(5)(q22) (1/14)
3	F.Ö.	46,XX, 13ps+ (12/12)
4	H.Ö.	46,XY (12/12)
5	Z.Ö.	46,XX (12/12)
6	S.K.	46,XY (14/15) 46,XY,del(21)(q22-qter)(1/15)

7	B.K.	46,XX (11/11)
8	B.K.	46,XY (13/13)
9	B.K.	46,XY (14/14)
10	S.K.	46,XX (14/14)
11	D.D.	46,XX (14/14)
12	S.G.	46,XX (14/14)
13	A.G.	46,XY (14/14)
14	N.G.	46,XX (13/14) 46,XX, chtb(7)(q15), fra(2)(p32), fra(15)(q15), fra(4)(q31) (1/14)
15	K.G.	46,XY (14/14)
16	S.A.	46,XY (14/14)
17	H.A.	46,XY (14/14)
18	N.A.	46,XY (14/14)
19	N.D.	46,XX (14/14)
20	İ.Ö.	46,XY (14/14)
21	P.Ö.	46,XX (12/12)
22	A.A.	46,XY (14/14)
23	C.A.	46,XX (19/20) 46,XX,gap(7)(q22) (1/20)
24	B.A.	46,XX (14/14)
25	F.S.	46,XX (17/20) 46,XX, chtb(4)(q31) (1/20) 46,XX, fra(7)(q22) (1/20) 46,XX, gap(6)(q22) (1/20)
26	S.U.	46,XY, 9qh+ (20/20) 46,XY, fra(6)(q21) (4/20)

		46,XY,fra(5)(q31) (1/20) 46,XY,fra(7)(q22) (2/20) 46,XY,fra(4)(q21) (1/20) 46,XY,ctb(X)(q22) (1/20)
--	--	--

Şekil 18. Hastaların birinci derece yakınlarının karyotipleri

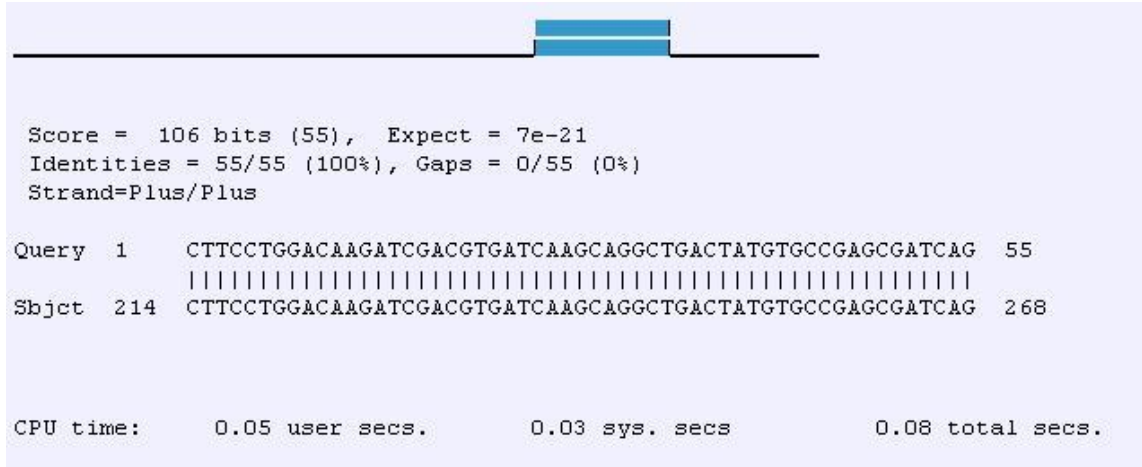


Şekil 19. Hastalar ve yakınlarında gözlenen kromozom anomalilerinden bazıları

4.4. Moleküler Genetik Bulguları

Çalışmamızda Sagliker sendromu tanısı konmuş 15 hasta ile normal sağlıklı 15 bireyin oluşturduğu kontrol grubunun, GNAS1 geni ekzon 7 ve ekzon 13 dizi analizi sonuçları National Center for Biotechnology Information (NCBI)/Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) web sayfasında değerlendirilerek gen dizilerindeki benzer ve farklı bölgeler belirlendi. Analiz sonucunda hasta ve kontrol grubundaki bireylerin her iki ekzon açısından %100 benzerlik gösterdiği saptandı (Şekil 20).

(a)



Ekzon 7

(b)



Ekzon 13

Şekil 20. Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) veri tabanına göre elde edilen görüntüler
(a) Ekzon 7'ye ait bir görüntü, (b) Ekzon 13'e ait görüntü

[illegible]

Sequencing Analysis 5.3.1 - Deniz Taptirmir is logged in

File Edit View Tools Analysis DBSearch Help

Show

Sample Manager

R...	Show	Sample File Name	Sample Name	BC	FP	P	BaseCaller	DyeSet/Primer	Matrix File	Spacing	Peak I
1	☒	Sekans_2008-10-14...	10-13-F	☒	☐	☐	K9.bcp	KB_3130_POP7_E01v3....	None	0.14	2560

Annotation Sequence Features Electropherogram Raw EPT Audit Electronic Signature

Sekans_2008-10-14_004_10-13-F

Y-axis scale: 0, 62, 126, 189, 252, 315, 378, 441, 504, 567, 630, 693, 756.

X-axis labels: 1843, 1862, 1881, 1900, 1919, 1938, 1957, 1976, 1995, 2014, 2033, 2052, 2071, 2090, 2109, 2128.

Şekil 21. Ekzon 7 (a) ve ekzon 13'e (b) ait kısmi elektroforegram görüntüleri

Bu sonuçlar doğrultusunda Sagliker sendromlu bireylerde GNAS1 geni ekzon 7 ve ekzon 13'ün normal bireylerde gözlenen ile birebir aynı olduğu ve herhangi bir mutasyonun olmadığı gösterilmiş oldu. Çalışmada kullanılan materyalin periferik kan olması ve dolayısıyla lenfositlerden elde edilen DNA materyalinin incelenmesi çalışma sonucunda mutasyona rastlanmamasının nedenleri olarak düşünülmektedir. Bununla birlikte çalışmada 13 ekzondan oluşan GNAS 1 geninin en çok mutasyon görülen 7. ve 13. ekzonları incelenmiş olup kalan 11 ekzon ödenek sıkıntısı nedeniyle değerlendirilememiştir. Bu da çalışmada olumlu bir sonuç bulunamamasının bir diğer nedenidir. Ancak bu konuda ilerleyen zaman içerisinde daha kesin bir sonucun verilebilmesi için diğer ekzonların da taranması gerekmektedir. Bu nedenle çalışmanın devamı niteliği taşıyan ve bu çalışmadaki olumsuzlukların olmadığı yeni projelere ihtiyaç bulunmaktadır.

Hastaların özellikle patolojik olan dokularından biyopsiler alınarak bu çalışma dizayn edilmiş olsaydı olumlu sonuçlara ulaşma ihtimali biraz daha yükselmiş olabilirdi. Ayrıca genetik açıdan bu tür mutasyonların saptanması için son derece önemli bir faktör olan aynı aileden birden çok sendromlu hastanın olması maalesef hastalarımızın hepsinde saptanamamıştır. Bu faktörde çalışmanın olumlu sonuçlara ulaşma olasılığının düşük olduğu intibasını vermektedir.

5. TARTIŞMA

Kronik böbrek hastalığı ve bunun sonucu olarak meydana gelen sekonder hiperparatiroidizm yıllardır bilinmektedir. Ancak özellikle radyolojik ve demansratif görüntüler konusunda literatürdeki en güvenilir bilgilere bakıldığında en az 30 yıl öncesine ait bilgiler oldukları görülmektedir. Birçok ana kaynak kitabında dahi bu konuya ait bilgiler sunulurken yanında gösterilen şekil ve resimlerin 1970’li yıllara ait olduğunun görülmesi de konunun ne kadar önceden bilindiğini gösterdiği gibi yeni birtakım araştırmaların yapılmadığının da en güzel göstergesidir. Bu konu 30 yıl gibi uzun süredir ihmal edilmiştir.

2000’li yılların başında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Nefroloji bilimdalı öğretim üyeleri bu konuyu yeniden değerlendirmeleri ve yeni araştırmalar yapmaları gerektiğini düşünmüşlerdir bununla birlikte sekonder hiperparatiroidizmi olan ancak bununla beraber oldukça çirkin bir yüz görünümüne sahip, diğer hastalardan boyu oldukça kısa olan ve çene ve diş yapısı tamamen bozulmuş olan bir hastayı fark etmeleri üzerine yeni bir çalışma başlattılar. Aynı hastanın parmak uçlarının yukarıya doğru kıvrık olduğunu, bacaklarında X bine şeklinde deformasyon olduğunu, işitme kaybının olduğunu, ağız içinde tümör benzeri oluşumlar ve depresyon belirtilerinin bulunduğunu yapılan fizik muayene ile tespit ettiler. Dikkatli bir araştıma sonucu kısa zamanda bu olguya benzer özellikleri olan yurt içinde ve yurtdışında (Hindistan, Malezya, Romanya, Mısır, Çin, Tayvan) 45 hasta olduğunu saptadılar. Bu hastalardaki farklı özellikleri, özellikle de yüz ve çene yapısındaki ağır deformasyonu ilk kez tanımlayarak literatüre yeni bir sendromun girmesini sağladılar.

Son sekiz yıldır bu konuda araştırmalara devam edilmektedir ve sendroma yol açan neden veya nedenler tespit edilmeye çalışılmaktadır. İlk çalışmalar neticesinde değerlendirilen olguların tamamında sekonder hiperparatiroidizm saptanmıştır. Bu olguların özellikle sosyoekonomik durumu kötü olan hastalar olduğu ve sekonder hiperparatiroidizm için yeterli ve gerekli olan medikal tedavileri parasal, sosyo-ekonomik ve kültürel nedenlerle alamadıkları bununla birlikte renal replasman tedavisine gereken zamanda başlayamadıkları gözlenmiştir. Sendroma yol açabilecek muhtemel nedenler arasında önemli bir faktör olarak bu iki etken gösterilmektedir. Sendroma yol açabileceği düşünülen genetik hastalıklar ile KBH birlikteliği

açısından bölgemizde de sık görülmesi nedeni ile ele alınan talasemiler ve orak hücre anemisinden hiçbirisi olgularda bulunmamıştır. Tüm vakaların hemoglobin elektroforezleri normal sınırlarda yer almaktadır. Ayrıca KBH'nın yanı sıra bu olgularda büyüme hormonu eksikliği veya fazlalığının olabileceği öne sürülmüş ve yine bu konuda yapılan çalışmaya katılan 15 olgunun hiçbirinde böyle bir hormon bozukluğu olmadığı gösterilmiştir.

Sendroma yol açabileceği düşünülen kretinizm için tüm hastaların tiroid fonksiyonları değerlendirilmiş ve hiçbir hastada hipotiroidi veya hipertiroidi saptanmamıştır. Aslında kretinizmin varlığını düşündürecek olan bulgulardan mental retardasyon sadece bir olgumuzda mevcuttur. Diğer hastalarımızda zeka düzeyi yönünden problem gözlenmemiştir. Hastalarda boy kısalığı olması nedeniyle erken yaşta epifizlerinin kapanmasına neden olabilecek bir hormonal bozukluk özellikle de eşey hormonlarında bir anomali olup olmadığı da bu çalışmada değerlendirilmiş ve hiçbir hastada böyle bir hormon bozukluğuna rastlanmamıştır. Erkek hastalarda bakılan Total Testosteron düzeyleri normal sınırlarda bulunmuştur. Aynı şekilde bayan hastalarda bakılan FSH ve LH düzeyleri normal bulunmuştur. Ayrıca hastalarda böyle bir hormon bozukluğunun varlığını gösterebilecek olan adet düzensizliği, erken menarş, puberte prekoks, hirsutizm veya virilizm gibi klinik bulguların olmamasıda sendromun etyopatogenezinde eşey hormonlarının rol aldığı iddiasını zayıflatmaktadır.

Çalışmamız sırasında paratiroidektomili 4 hasta dışında vakaların hepsinde sekonder hiperparatiroidinin laboratuvar bulguları saptanmıştır. Yine hastaların bu konu için mümkün olduğu kadar erken ve yeterli tedavi almadıkları gözlenmiştir. Bu problemin şu anda ana sebeplerinden birisinde sendromun yol açtığı depresyon ve bunun sonucu oluşan tedavi uyumsuzluğu olduğu hasta ve hasta yakınlarından alınan anamnezlerde ortaya konulmuştur. Sağliker sendromlu hastaların ciddi psikiatrik problemleri olduğu ve depresyona meyilin bu hastaların tümünde görüldüğü bilinen bir gerçektir. Depresyon nedenleri olarak düşük sosyoekonomik düzey ve bunun getirdiği zor hayat koşulları, kronik ve tedavisi şimdiki bilgilerimizle tam olarak mümkün olmayan bir hastalıkla mücadele etmek, haftada 3 gün 4-6 saat hemodiyalize girmek ve hayatının tüm akışını buna göre şekillendirmek zorunda olmak ve belki de en önemlisi insanların bir bakışta fark edebileceği çirkin bir yüze sahip olmak ve toplumdan dışlanmak sayılabilir.

Sagliker sendromunun nedenine yönelik yapılan bu tez çalışmasında ayrıca hastalarda özellikle iskelet sisteminde deformasyon olduğu göz önüne alınarak genetik kemik hastalıklarından akondroplazilerin var olup olmadığı incelenmiştir. Klinik olarak akondroplazilerde Sagliker sendromuna benzer özellikler görülebilmektedir. Örneğin boy kısalığı, patolojik kalsifikasyonlar, yüz ve çene yapısında deformasyon gibi. Bu konunun araştırılması için Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilimdalı ile birlikte çalışma yapılması planlanmıştır. Çalışmaya yurtiçinden ulaşılabilen 15 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların ve birinci dereceden yakınlarının major kromozom anomalileri yönünden değerlendirildiği sitogenetik analizde major kromozom defektine rastlanmamıştır. İkinci basamak olarak yapılan moleküler genetik incelemelerde ise GNAS 1 gen mutasyonunun var olup olmadığı araştırılmıştır. Bu çalışmaya dahil edilen 15 vakanın hiçbirinde taranan 7. ve 13. ekzonlarda mutasyona rastlanmamıştır. Bu çalışma sırasında bazı hasta ve hasta yakınlarında klinik önemi olmayan birtakım kromozom aberasyonları gözlenmiştir.

Bu hastaların toplumda çalışan, üreten ve faydalı birer birey olmalarını sağlayabilmek bu çalışmanın olduğu gibi bundan sonra yapılacak bütün çalışmaların da mutlak hedefleri arasında yer almalıdır. Şimdiden bu konuda Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Adana Hastanesi Plastik cerrahi kliniği ve Ortopedi kliniği, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Cerrahi kliniği ve Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde bu hastaların yüz ve çene yapılarının tekrar normal haline getirilebilmesi için birtakım cerrahi ve ortodontik prosedürler üzerinde çalışmalara başlanmıştır. Bu çalışmaların neticesinde sendromdan muzdarip hastalar belkide eski görünümlerine kavuşabileceklerdir. Bunun için gerekirse dünyada ilk örneği Fransa da yapılan insandan insana yüz nakli de alternatifler arasında ciddi şekilde düşünülmektedir.

Çalışmada elde edilen veriler arasında hastaların iskelet sistemi deformasyonlarının sebebi olarak birçok bilim adamı tarafından öngörülen D vitamini eksikliğinin Sagliker sendromlu hastalarda gözlenmemesi dikkat çekicidir. Bu sendromla ilgili sunum veya konferanslarda en çok üzerinde durulan ve katılımcıların özellikle bu hastalardaki vitamin D düzeyine yönelik meraklı soruları da bu çalışma neticesinde ortadan kalkmıştır. Gerek yurtiçi ve gerekse yurtdışı kongrelerde en sık sorulan sorulardan biri olan D vitamini eksikliği bu hastalarda var mı? sorusunun cevabı da yine bizim çalışmamız sonucunda büyük ölçüde verilmiş olmaktadır.

Çalışmaya katılan tüm hastalarda sekonder hiperparatiroidizmin sonucu olarak ortaya çıkan sekonder osteoporoz kemik dansitometrisi ölçümleri ile gösterilmiştir. Osteoporozun varlığı da bu hastaların uygun şekilde tedavi edilmediklerinin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Bu hastalardaki tedavi sorunlarının ana nedenleri yukarıda da değinildiği üzere sosyo-ekonomik problemler, psikiatrik sorunlar nedeniyle ortaya çıkan hasta uyumsuzluğu ve iyatrojenik tedavi yetersizliğidir. Nitekim çalışmaya katılan hastalar ve yakınlarının verdiği bilgiler de bu düşüncemizi desteklemektedir.

SONUÇLAR

1. Sağliker sendromlu hastalarda gelişme geriliğine neden olduğu düşünülen tiroid fonksiyon bozukluğu yoktur.
2. Sağliker sendromlu hastalarda epifiz hatlarının erken kapanmasına yol açabilecek herhangi bir eşey hormon bozukluğu saptanmamıştır.
3. Sağliker sendromlu hastalarda kemik deformasyonlarının sebebi olarak suçlanan 25-OH. Vitamin D₃ vitamini eksikliği görülmemiştir.
4. Sağliker sendromlu hastalarda sekonder hiperparatiroidizmin bir sonucu olan osteoporoz mevcuttur.
5. Bu çalışma Sağliker sendromlu hastalarda ve birinci derece yakınlarında major kromozom defekti olmadığını göstermiştir.
6. Sağliker sendromlu hastalarda akondroplazilerde görülen GNAS 1 gen mutasyonuna rastlanmamıştır.
7. Sağliker sendromlu hastalarda talasemi ve orak hücreli anemi gibi genetik hematolojik bozukluklara rastlanmamıştır.
8. Bu hastaların psikiatrik ve nörolojik tedavileri ve akabinde de yüz cerrahisi, diş cerrahisi, çene cerrahisi, paratiroid cerrahileri ve gerekirse yüz nakli operasyonu içinde girişimler başlatılmıştır.
9. Sendromun en önemli nedenlerinin toplumların sosyoekonomik ve kültürel gelişimlerinin yetersiz olması olduğu açıkça görülmektedir. Çünkü bu tablo ekonomik ve kültürel alanda gelişmemiş ve az gelişmiş ülkelerde daha sık görülmektedir.
10. Sonuç olarak bu çalışma Sağliker sendromunun etyopatogenezine yönelik yapılan en ayrıntılı araştırmalardan birisidir. Elbette elimizdeki imkanlar doğrultusunda çalıştığımız gen mutasyonu okyanusta iğne aramaktan farksızdır. Daha yeni teknolojik araç ve gereçlerin ülkemizdeki bilim adamlarının hizmetine girmesiyle bu konuda çok daha iyi ve başarılı sonuçlar alınabilecek genetik analizlerin yapılması mümkündür. Bu araştırmaların Ç.Ü.T.F Moleküler Tıp,

Gastroenteroloji bilimsel Laboratuvarı ve Başkent Üniversitesinde devam etmesi için çalışmalar başlatılmış olup devam etmektedir.

11. Hastaları tıbbi yaklaşımların yanı sıra psikolojik ve psikiatrik olarak da yakından izlemek ve gerekiyorsa tedavilerini düzenlemek gerekmektedir.

12. Böbrek hastalıkları ile ilgilenen daha genç hekimleri de bu yönde eğitmek ve uygun, erken, kalıcı tedavi konusunda uyarmak gerekmektedir.

13. Bu son yaklaşımlarla tahminimize göre sayıları belki de onbinlere varan bu tip hastalar böylece güneydoğu Asya, Afrika ve güney Amerika gibi ülkelerde azalacak ve bu katastrofik görünümün önüne geçilmiş olacaktır. Bu bir sine qua non insanlık görevidir.

KAYNAKLAR

1. **Massry SG, Smogorzewski M.** *Massry and Glasscock' s Textbook of Nephrology*, 4th edition, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, **2001**: 1394-1425
2. **Skorecki K, Green J, Brenner BM.** Kronik böbrek yetmezliği. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, et al. Çeviri editörü. Sağlık Y. Harisson iç hastalıkları prensipleri (cilt 2), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. ve McGraw-Hill Comp. Inc; **2004**: 1551-1562.
3. **Wang W, Chan L.** Chronic renal failure: Manifestations and pathogenesis in Schrier RW(ed). *Renal and electrolyt disorders*, 6th edition, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, **2003**:456-497
4. **İliçin G, Ünal S, Biberoğlu K, Akalın S, Süleymanlar G.** *Temel İç Hastalıkları*, 3.baskı, Ankara, Güneş Kitabevi, **2003** : 769-777
5. **Ohyama K.** Molecular Basis and Clinical Manifestations of McCune-Albright syndrome, *Clinic Pediatric Endocrinology*, **2000**; 9 : 1-5
6. **Aldred MA, Trembath RC.** Activating and Inactivating Mutations in the Human GNAS 1 Gene, *Human Mutation*, **2000**; 16: 183-189
7. **Hong SH, Park HM, Ahn JY, et al.** ACE I/D polymorphism in Korean patients with ischemic stroke and silent brain infarction *Acta Neurol Scand*, **2008**; 117: 244–249.
8. **Goodman WG.** Renal osteodystrophy for nonnephrologists *J Bone Miner Metab* **2006**; 24: 161–163.
9. **Guarnieri G, Antonione R, Biolo G.** Mechanisms of Malnutrition in Uremia *J Ren Nutr*, **2003**; 13(2): 153-157
10. **McCann L.** Calcium in Chronic Kidney Disease: Recommended Intake and Serum Targets *Adv Chronic Kidney Dis*, **2007**; 14(1): 75-78
11. **Goodman WG.** Calcium and Phosphorus Metabolism in Patients Who Have Chronic Kidney Disease. *Med Clin North Am*, **2005**; 89: 631–647
12. **Huang C, Miller RT.** The calcium-sensing receptor and its interacting proteins *J Cell Mol Med*, **2007**; 11 (5): 923-934
13. **Forster IC, Hernando N, Biber J, et al.** Proximal tubular handling of phosphate: A molecular perspective. *Kidney Int*, **2006**; 70(9): 1548–1559

14. **Liu S, Gupta A, Quarles LD.** Emerging role of fibroblast growth factor 23 in a bone–kidney axis regulating systemic phosphate homeostasis and extracellular matrix mineralization *Curr Opin Nephrol Hypertens*, **2007**; 16(4): 329–335
15. **Andress DL.** Vitamin D in chronic kidney disease: A systemic role for selective vitamin D receptor activation *Kidney Int*, **2006**; 69(1): 33–43
16. **Lips P.** Vitamin D physiology *Prog Biophys Mol Biol*, **2006**; 92(1): 4–8
17. **Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL.** Osteoclast differentiation and activation *Nature*, **2003**; 423: 337–342
18. **Swarthouta JT, D’Alonzo RC, Selvamurugan N, et al.** Parathyroid hormone-dependent signaling pathways regulating genes in bone cells *Gene*, **2002**; 282(1-2): 1–17
19. **Fukagawa M, Kazama JJ , Kurokawa K.** Renal osteodystrophy and secondary hyperparathyroidism *Nephrol Dial Transplant*, **2002**; 17 [Suppl 10]: 2–5
20. **Egbuna OI, Brown EM.** Hypercalcaemic and hypocalcaemic conditions due to calcium-sensing receptor mutations *Best Pract Res Clin Rheumatol*, **2008**; 22(1): 129–148
21. **Saglikler Y, Balal M, Saglikler Ozkaynak P, et al.** Saglikler syndrome: uglifying human face appearance in late and severe secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure, *Semin Nephrology*, **2004**; 24(5): 449-55
22. **Uzel A, Uzel I, Saglikler Y , et al.** Cephalometric Evaluation of Patients With Saglikler Syndrome: Uglifying Human Face Apperance in severe and Late Secondary Hyperparathyroidism in Chronic Renal Failure Patients, *Journal of Renal Nutrition*, **2006**; 16: 229-232
23. **Giray S, Saglikler Y, et al.** Neurologic Manifestations in Saglikler Syndrome: Uglifying Human Face Apperance in severe and Late Secondary Hyperparathyroidism in Chronic Renal Failure Patients, *Journal of Renal Nutrition*, **2006**; 16: 233-236
24. **Saglikler Y, Acharya V, et al.** International study on Saglikler syndrome and Uglifying Human Face Apperance in severe and Late Secondary Hyperparathyroidism in Chronic Kidney Disease, *Journal of Renal Nutrition*, **2008**;18(1) : 114-117
25. **Saglikler Y, Acharya V, et al.** Is survival enough for quality of life in Saglikler syndrome - Uglifying Human Face Apperance in Chronic Kidney Disease, *Journal of Nephrology*, **2008**; 21(13): 114-118
26. **Llach F, Velasquez- Forero F.** Calcium, Phosphorus, renal bone disease and calciphylaxis in Brady HR, Wilcox CS- *Therapy in Nephrology and Hypertension* . International edition, Philadelphia, Saunders, **2003**: 701-702
27. **McCarthy JT, Kumar R.** Renal Osteodystrophy in Jacobson HR, Striker GE, Klahr S(eds). *The Priciples and Practice of Nephrology*, International edition (ed 2), St.Louis, Mosby, **1995**: 1032-1045

28. Hutchison AJ, Gokal R. *The Textbook of Peritoneal Dialysis*, International edition, Dordcht, Kluwer, **1994** : 529-553

29. Llach F, Bover J. *Brenner and Rector's The Kidney*, 5th edition, Philadelphia, Saunders, **1996** : 2187-2273

EKLER

EK-1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

a) 1 M $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

10.16 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 40 ml bidistile su içerisinde çözöldü ve daha sonra volüm 50 ml'ye bidistile su ile tamamlandı. Otoklavda steril edilerek oda ısısında saklandı.

b) 1 M Tris-HCl, pH 7.5

12.11 g Tris-base 80 ml bidistile su içerisinde çözöldü. pH, HCl ile 7.5'e ayarlandıktan sonra volüm 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavda steril edildikten sonra oda ısısında saklandı.

c) 5 X Red Cell Lysis Buffer (Eritrosit Lizis Tamponu)

54.8 g sükröz (final konsantrasyon 1.6 M)

6 ml 1 M Tris HCl, pH:7.5 (final konsantrasyon 60 mM)

2.5 ml 1 M $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (final konsantrasyon 25 mM)

5 ml Triton X-100 (final konsantrasyon %5 v/v)

Sükröz 50 ml bidistile su içerisinde çözöldükten sonra Triton X-100, MgCl_2 ve Tris-HCl ilave edildi. Volüm bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanarak buzdolabında saklandı.

d) Fizyolojik Tampon

0.438 g NaCl

0.93 g EDTA

Deiyonize su ile 100 ml'ye tamamlanır ve pH 7.5'e ayarlanır.

e) TE-9 (pH:9)

500 mM Tris baz

20 mM EDTA pH:9.0

10 mM NaCl

Hazırlanacak hacim için kullanılacak olan Tris baz, EDTA ve NaCl hesaplanarak tartılır ve üzeri saf su ile tamamlanır, otoklavlanır ve kontamine edilmeden kullanılır.

f) SDS Solüsyonu (%10'luk)

10 ml için 1 gr SDS tartılır ve bir şişeye aktarıldıktan sonra üzerine 10 ml steril saf su ilave edilir. İyice vortekslenerek çözülmesi sağlanır. Kullanıncaya kadar buzdolabında veya oda ısısında bekletilebilir.

g) Proteinaz K (10 mg/ml)

10 mg proteinaz K, 1000 µl steril saf su ile sulandırılır ve steril ependorf tüplere paylaştırılarak -20 °C'de saklanır.

h) 6 M NaCl

35.06 g NaCl 80 ml bidistile su içerisinde çözüldü. Volüm bidistile su ile 100 ml'ye tamalandıktan sonra otoklavda steril edildi ve oda ısısında saklandı.

i) %70 Etil alkol

70.35 ml %99.5'lik etil alkolden alındı ve 100 ml'ye saf su ile tamamlandı.

j) Lizis Tamponu (pH:8.0)

0.209 g Tris-HCl, 0.249 g EDTA, 0.67 g SDS tartıldı ve son hacmi 100 ml olacak şekilde saf su ilave edildi. pH 8.0'a ayarlandı.

EK-2. Sitogenetik Çalışmalarda Kullanılan Besiyeri ve Çözeltiler

a) Normal Kan Kültür Besiyeri (RPMI 1640, cat no. 0883)

RPMI-1640 R0883	100 ml
Fetal calf serum	25 ml
Phytohemmagglutinin	1,5 ml
Penicilin/ Streptomycin	1,0 ml
L-Glutamin	1,5 ml

b) Kolşisin (Seromed Cat. No. L 6210) 10 µl / ml

c)Hipotonik solüsyonu (0,075 M KCl)

5,592 g KCl tartılıp 1000 ml' ye distile su ile tamamlandı.

d) Fiksatif solüsyonu

3 birim metanol ile 1 birim glasiyel asetik asit karıştırılarak her uygulama öncesi taze olarak hazırlandı.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İsmail Yıldız

Doğum Tarihi ve Yeri : 19/12/1977 - Kahramanmaraş

Medeni Durumu : Evli

Adres : S.Demirel Bul. Naci İşlek- Zeliha Karataş Apt. No: 112/ 1
Seyhan Adana

Telefon : 0 322 247 18 06

E posta : mdiyildiz@hotmail.com

Mezuniyet : İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Yabancı Diller : İngilizce ve Almanca