



**E-KADERİN GENİ PROMOTOR BÖLGE POLİMORFİZMLERİNİN
BÖBREK TAŞI HASTALIĞINA YATKINLIK ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Çiğdem DÖNMEZ

YÜKSEK LİSANS

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2016

Çiğdem DÖNMEZ tarafından hazırlanan “E-Kaderin Geni Promotor Bölge Polimorfizmlerinin Böbrek Taşı Hastalığına Yatkınlık Üzerine Etkilerinin Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Ece KONAÇ

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Başkan : Prof. Dr. Cenk Y. BİLEN

Üroloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

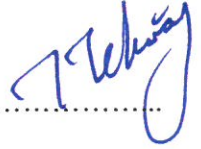
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye : Doç. Dr. Turgay TEKİNAY

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 19/01/2016

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



(İmza)

Çiğdem DÖNMEZ

19.01.2016

E-KADERİN GENİ PROMOTOR BÖLGE POLİMORFİZMLERİNİN BÖBREK TAŞI HASTALIĞINA YATKINLIK ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Çiğdem DÖNMEZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2016

ÖZET

Böbrek taşı hastalığı çok sık görülen global bir sağlık problemi olup, teşhisi, tedavisi oldukça maliyetli ve hasta açısından yaşam kalitesini düşüren sıkıntılı bir süreçtir. Böbrek taşı hastalığının genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Genetik faktörlerin belirlenebilmesi amacıyla, bu hastalığa yatkınlıkta rolü olduğu düşünülen genlerdeki tek nükleotid polimorfizmleri belirlenmeye çalışılmaktadır. Son yıllarda yapılan genetik çalışmalar, bazı genlerdeki polimorfizmlerin taş oluşumu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu genlerden biri E-kaderin (CDH1) genidir. CDH1, renal tübül hücrelerinde eksprese olan bir epitel hücre birleşim proteini olup, epitel gelişmenin devamlılığında ve hücre bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada CDH1 geni -160C/A (rs16260) ve -347G/GA (rs5030625) polimorfizmleri kalsiyum oksalat böbrek taşı hastaları ve sağlıklı bireylerde incelenerek, taş oluşumu ile polimorfizm ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmamızın CDH1 -160C/A gen polimorfizmi sonuçlarına bakıldığında, CA genotipi frekansı böbrek taşı hastalarında (%38,6) kontrol grubuna kıyasla (%30,7) daha yüksek bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (OR: 2,80 ; %95CI: 1,08 – 7,28) (p=0,033). CDH1 -347G/GA gen polimorfizmi sonuçlarına bakıldığında ise hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında bu polimorfizm açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Çalışmamız, ülkemizde kalsiyum oksalat böbrek taşı hastalarında bu iki polimorfizmle ilgili ilk verileri sunmuş olup, bu verilerin daha sonra yapılacak olan çalışmalara öncülük edebilecek potansiyeli vardır.

Bilim Kodu : 1055.1

Anahtar Kelimeler : E-kaderin geni, böbrek taşı hastalığı, polimorfizm, PCR–RFLP

Sayfa Adedi : 57

Danışman : Doç. Dr. Ece KONAÇ

THE INVESTIGATION OF EFFECTS OF E-CADHERIN GENE PROMOTER POLYMORPHISMS ON NEPHROLITHIASIS SUSCEPTIBILITY

(M. Sc. Thesis)

Çiğdem DÖNMEZ

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

January 2016

ABSTRACT

Nephrolithiasis is a global health problem that has often seen and the diagnosis, treatment is costly and troublesome process that reduces the quality of life for the patient. Nephrolithiasis is a multifactorial disease caused by both genetic and environmental factors. In spite of the advances in the knowledge of pathogenesis, little is know about the effect that genetic susceptibility has on the occurrence of nephrolithiasis. In order to identify the genetic factors, single nucleotide polymorphisms in the genes thought to be involved in susceptibility to this disease is being investigated. In recent years, genetic studies revealed that polymorphisms in some genes, one of them is E-cadherin gene (CDH1), is associated with stone formation. E-cadherin is an epithelial cellular junction protein expressed in renal tubule cells. E-cadherin plays an important role in the maintenance of epithelial development and cell integrity. In this study, CDH1 gene -160C/A (rs16260) and -347G/GA (rs5030625) polymorphisms examined in healthy individuals and patients with kidney stones, the relationship between polymorphisms and stone formation investigated. However the frequency of CA genotype was increased in patients with kidney stones group (%38,6) versus control group. (%30,7) (OR: 2,80; %95CI: 1,08 – 7,28) (p=0,033). No significant difference was found between patients and control subjects for CDH1 -347G/GA genotype and allele frequencies. Our study reveals the first data about these two polymorphisms on patients with calcium oxalate nephrolithiasis in our country and we believe that these findings have potential implications that will lead further studies.

Science Code : 1055.1

Key Words : E-cadherin gene, nephrolithiasis, polymorphism, PCR–RFLP

Page Number : 57

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Ece KONAÇ

TEŞEKKÜR

Beni bu konuda çalışmaya yönlendiren, tez çalışmamın her aşamasında değerli bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek, sonsuz destek ve sabır gösteren, akademik ortamda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de engin fikirleriyle yetişme ve gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD. öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Ece KONAÇ'a,

Tez çalışmamda kullanılan kan örneklerini bize sağlayan, akademik işbirliği yaptığımız Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD. öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Cenk Y. BİLEN ve Arş. Gör. T. Batuhan AYDOĞAN'a,

Tez çalışmam süresince Gazi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin olanaklarını kullanmam konusunda kolaylıklar sağlayan Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD. öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Turgay TEKİNAY'a,

Varlığı ile içimi ısıtan, her zaman her koşulda bana destek olan, sevincimi üzüntümü gururumu içtenlikle paylaştığım sevgili arkadaşlarım Uzm. Bio. İnci Bahar ÇINAR, Öğr. Gör. Esin BAŞARAN, Uzm. Dr. Esra GÜNDÜZER, Arş. Gör. Gülizar AYDOĞDU, Uzm. Bio. Selda GÖKŞEN, Uzm. Bio. Sibel GÖKŞEN ve Uzm. Bio. Nur ARSLAN'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca destekleriyle yanımda yer alıp beni motive eden değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Gülşah ALBAYRAK, Arş. Gör. İlker KILIÇCIOĞLU, Arş. Gör. Funda DEMİRTAŞ KORKMAZ, Arş. Gör. Asuman DEVECİ, Arş. Gör. Selen GÜÇLÜ DURGUN, Arş. Gör. Yener KURMAN ve Uzm. Bio. Hatice KARABODUK'a,

Ve benim gizli kahramanlarım; beni koşulsuz seven, hayatım boyunca beni her konuda destekleyen ve her zaman yanımda olan, iyi bir insan olmanın hayatta en önemli erdem olduğunu öğreten, eğitim hayatımın bu aşamaya gelmesini sağlayan canım annem Yurdagül DÖNMEZ ve canım babam Muzaffer DÖNMEZ'e en derin duygularla teşekkür ederim.

Bu çalışma, Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı ve Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: 01/2015-13).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Taş Oluşumunun Mekanizması.....	4
2.1.1. Kristal çekirdeklenme	4
2.1.2. Kristal büyümesi	5
2.1.3. Kristal kümelenmesi.....	5
2.1.4. Kristal - hücre etkileşimi.....	6
2.1.5. Renal tübüler epitel hücreleri tarafından CaOx kristallerinin endositozu.	6
2.1.6. Kristal-hücre etkileşimi ve renal tübüler hücre yaralanması arasındaki ilişki.....	7
2.1.7. Taş inhibitörleri ve promotörleri	8
2.2. Yapılarına Göre Taşlar	8
2.2.1. Kalsiyum oksalat taşları	8
2.2.2. Enfeksiyon (Strüvit) taşları	10
2.2.3. Ürik asit taşları	10

	Sayfa
2.2.4. Sistin taşları	10
2.3. Taş Oluşumunu Etkileyen Faktörler	11
2.3.1. Coğrafi konum	11
2.3.2. Yaş, ırk ve cinsiyet	11
2.3.3. Genetik faktörler	12
2.3.4. Mevsimsel ve iklimsel etmenler	13
2.3.5. Mesleki faktörler	13
2.3.6. Sıvı alımı	14
2.3.7. Beslenme	14
2.3.8. Eşlik eden hastalıklar	15
2.4. Taş Hastalığına Neden Olan Gen Polimorfizmleri	16
2.4.1. E-kaderin geni	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Örnekler	19
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
3.3. Kullanılan Gereçler	20
3.4. Çözeltiler	20
3.4.1. Agaroz elektroforezinde kullanılan çözeltiler	20
3.5. Kullanılan Yöntemler.	21
3.5.1. Kandan DNA izolasyonu	21
3.5.2. Elde edilen DNA'nın konsantrasyon ve kalitesinin tayini	22
3.5.3. CDH1 gen polimorfizminin tespitinde kullanılan primer dizileri	22
3.5.4. Polimeraz zincir reaksiyon yöntemi (PCR)	23
3.5.5. Restriksiyon endonükleazlarla kesim	24

	Sayfa
3.5.6. Agaroz jel elektroforezi	24
3.5.7. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler	25
4. BULGULAR	27
4.1. E-Kaderin Geni Polimorfizmlerinin Taraması	27
4.1.1. İlgili gen bölgelerinin çoğaltılması	27
4.1.2. Çoğaltılan gen bölgelerinin restriksiyonu	28
4.1.3. Verilerin istatistiksel analizi.....	29
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇ	39
KAYNAKLAR	41
EKLER.....	53
EK-1. Etik kurul kararı.	54
ÖZGEÇMİŞ	56

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Taş oluşumunu indükleyen ve inhibe eden faktörler	8
Çizelge 2.2. Kalsiyum oksalat taşı promotörleri	8
Çizelge 3.1. Bu çalışmada incelenen polimorfik bölgeleri çoğaltmak için kullanılan primer dizileri.....	22
Çizelge 3.2. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan tepkime bileşenleri	23
Çizelge 3.3. PCR koşulları	24
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarındaki parametrelerin dağılımı	29
Çizelge 4.2. Böbrek taşı hastaları ve kontrol grubunda yaş ve kiloya göre HphI polimorfizmi frekansları ve risk tahminleri	30
Çizelge 4.3. Böbrek taşı hastaları ve kontrol grubunda yaş ve kiloya göre BanII polimorfizmi frekansları ve risk tahminleri.	32
Çizelge 4.4. Hasta bireylerde HphI ve BanII polimorfizmlerinin yaş, boy ve kiloya göre tahmini risk oranı (OR)	32
Çizelge 4.5. Böbrek taşı hastalığı ile CDH1 -160/-347 haplotipleri arasındaki ilişki....	33

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. CDH1 geninde tanımlanan rs16260 polimorfizmini belirlemede kullanılan primerler, tanımlanan polimorfizmin genomdaki yerleşimi ve bu polimorfizmi belirlemede kullanılan enzim	23
Şekil 3.2. CDH1 geninde tanımlanan rs5030625 polimorfizmini belirlemede kullanılan primerler, tanımlanan polimorfizmin genomdaki yerleşimi ve bu polimorfizmi belirlemede kullanılan enzim	23



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. CDH1 geni-160 C/A bölgesinin amplifikasyon ürünlerinin %1’lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	27
Resim 4.2. CDH1 geni -347G/GA bölgesinin amplifikasyon ürünlerinin %1’lik agaroz jeldeki görüntüsü	27
Resim 4.3. CDH1 geni rs16260 polimorfizmini içeren bölgenin DNA’dan elde edilen PCR ürünlerinin HphI restriksiyon enzimi ile kesimini gösteren %3’lük agaroz jeldeki görüntüsü	28
Resim 4.4. CDH1 geni rs5030625 polimorfizmini içeren bölgenin DNA’dan elde edilen PCR ürünlerinin BanII restriksiyon enzimi ile kesimini gösteren %3’lük agaroz jeldeki görüntüsü	29

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

dk	Dakika
kb	Kilobaz
µl	Mikrolitre
g	Gram
µM	Mikromolar
mM	Milimolar
ml	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
°C	Santigrat
pmol	Pikomol
U	Ünite
%	Yüzde
V	Volt

Kısaltmalar

Açıklamalar

CaOx	Kalsiyum okzalat
COM	Kalsiyum okzalat monohidrat
EDTA	Etilendiamintetraasetat
OPN	Osteopontin
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
TBE	Tris borik asit etilendiamintetrasetat
THP	Tamm-Horsfall protein

1. GİRİŞ

Böbrek taşı hastalığı çok sık görülen global bir sağlık problemi olup, teşhisi, tedavisi oldukça maliyetli ve hasta açısından yaşam kalitesini düşüren sıkıntılı bir süreçtir. Böbrek taşı hastalığının genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Beslenme şekli, iklim, sıvı alımı, meslek gibi etmenler taş oluşumundaki en önemli çevresel faktörlerdir [1-3].

Böbrek taşlarının oluşumu; kristal çekirdeklenmesi, büyüme ve kümelenme, kristallerin renal tübüllerde tutulumu gibi karmaşık olayların bir sonucudur [4]. Böbrek taşı yaygın rastlanan bir hastalık olmasına rağmen gelişimi ve mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır [5]. Genetik faktörlerin belirlenebilmesi amacıyla, bu hastalığa yatkınlıkta rolü olduğu düşünülen genlerdeki tek nükleotid polimorfizmleri belirlenmeye çalışılmaktadır. Tek nükleotid polimorfizmleri gen transkripsiyonunda, mRNA'nın devamlılığında, oluşan proteinin kalitesi ve etkinliğinde farklılıklara yol açabilir; dolayısıyla pek çok hastalığa yatkınlığın ya da hastalığın ciddiyetinin belirlenmesinde biyomarker olarak kullanılabilirler [6].

Son yıllarda yapılan genetik çalışmalar, bazı genlerdeki polimorfizmlerin taş oluşumu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu genler arasında Vitamin D reseptörü geni, CLDN14 geni, ürokinaz geni, osteopontin (OPN), interlökin I gen kümesi, E-kaderin geni (CDH1), vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü ve kalsitonin reseptörü genleri yer almaktadır [6].

E-kaderin (CDH1), böbrek tübül hücreleri dahil olmak üzere hemen hemen tüm epitelyal hücrelerde ifade edilen hücre epiteli bağlanma proteinlerinden biridir. Epitelyal gelişimde, hücresel bütünlüğün sağlanmasında önemli rol oynar. E-kaderin geni (CDH-1) kromozom 16q22.1 bölgesinde yer alır [7,8].

Gen içinde promotor bölgelerde meydana gelen polimorfizmlerin genlerin transkripsiyonel verimliliği üzerinde etkileri olabilir. CDH1 geni içinde çeşitli polimorfizmler tespit edilmiştir. Bunlardan iyi bilinen tek nükleotid polimorfizmlerinden biri promotor bölgede saptanmış olan -160C/A (rs16260) dir. Bu bölgede A allelinin varlığının C allele kıyasla transkripsiyonel aktivitede ~ % 68 azalmaya neden olduğu gösterilmiştir [9,10].

Bu çalışmanın amacı, CDH1 geni -160C/A (rs16260) ve -347G/GA (rs5030625) polimorfizmlerini böbrek taşı hastaları ve sağlıklı bireylerde inceleyerek, taş oluşumu ile polimorfizm arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Türk toplumunda böbrek taşı hastalarında bu polimorfizm henüz incelenmemiştir. Böbrek taşı hastalarında e-kaderin geni (CDH1) polimorfizmleriyle ilgili daha önceden yapılmış olan çalışmalar çelişkili sonuçlar ortaya koyduğu için, polimorfik gen lokusları farklı etnik grup ve popülasyonlarda incelenmelidir.



2. GENEL BİLGİLER

Böbrek taşı hastalığı yıllardan beri insan sağlığını etkileyen bir hastalıktır. Birçok araştırmacı kalsiyum okzalat (CaOx) böbrek taşının oluşum mekanizmasını açıklamaya çalışmıştır. Arkeolojik bulgular insanların yüzyıllar öncesinde bile böbrek ve mesane taşı hastalığından muzdarip olduğunu kanıtlar yönündedir [11].

Yetişkinlerde idrar taşı oluşma riski batı yarı kürede (Avrupa'da % 5-9, Kanada' da % 12 ve Amerika' da % 13-15) doğu yarı küreden (% 1-5) daha yüksek olmasına rağmen, en yüksek riskin hastalığın nüksetme olasılığının % 50'lere ulaştığı Suudi Arabistan (% 20,1) gibi bazı Asya ülkelerinde olduğu bildirilmiştir [12]. Hastalığın tekrar etme süresi değişkenlik göstermektedir. Yaklaşık olarak hastalığı geçiren bireylerin % 10' unda 1 yıl içerisinde, % 35'inde 5 yıl içerisinde ve % 50'sinde 10 yıla kadar hastalık tekrar nüksetmektedir [13].

Böbrek taşların yaklaşık olarak % 75'ini öncelikle kalsiyum oksalat oluştururken, % 50'si kalsiyum hidroksil fosfat, % 10-20'si magnezyum amonyum fosfat, % 5'i ürat ve % 1-2'sini sistin oluşturmaktadır [14,15]. Böbrek taşı hastalığının çok etkenli etiyolojisi ve yüksek oranda nüksetmesi idrar yolu taş hastalığında medikal olarak zorluğa neden olmaktadır [16]. Bu hastalığı ve nüksetmesini engellemek için baskılayıcılara ihtiyaç vardır.

Taş oluşumunun çökelme yoluyla fizikokimyasal mekanizması; büyüme, toplanma ve idrardaki çeşitli modülatörlerin varlığıdır. Ayrıca, bazı araştırmacılar son zamanlarda taş oluşumunda önemli bir faktör olan, adezyon ve hücreler tarafından kristallerin endositozunu içeren kristaller ve böbrek tübül epitel hücreleri arasındaki etkileşim üzerinde durmaktadırlar [17,18].

Böbrek taşı hastalığının etiyolojisi büyük ölçüde bilinmemekle birlikte son epidemiyolojik araştırmalar hiperkalsiüri, idrar yolu enfeksiyonu, idrar alkali, batılılaşmış diyet ve obezitenin böbrek taşı hastalığı ile ilişkili olduğunu göstermiştir [1-3]. Ancak, yaşamları boyunca böbrek taşı oluşumu gözlenen bireylerin sadece bir kısmında genetik yatkınlığın böbrek taşı hastalığının gelişmesinde rol oynadığı varsayılmaktadır [19].

2.1. Taş Oluşumunun Mekanizması

İdrarda süpersatürasyonun artması ve sonrasında kristalin partiküllerinin oluşumundan sonra böbrek taşları oluşur. Süpersatürasyon idrar benzeri çözeltilerde kristalizasyon oluşumu için itici bir güçtür. Bir çözücüye tuz eklendiğinde çözücü içinde belli bir derişime ulaşana kadar çözünme gerçekleşir, bu noktanın ötesinde daha fazla çözünme gerçekleşmez. Bu noktada çözücü için tuz ile doygun olduğu söylenir. Sıcaklık ve pH değıştirilmediğı sürece daha fazla tuz eklenirse çözeltide kristallenme meydana gelir. Çözeltilinin konsantrasyonu doygunluğa ulaştığında ve kristalizasyon başladığında bu durum Termodinamik Çözünürlük Ürünü (K_{sp}) olarak ifade edilir [20].

İdrar, doğal içeriğinde taş oluşumunu teşvik eden ya da bu işleyişi engelleyen (inhibitör) çeşitli makromolekül (glikoproteinler, glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar) ve iyonlara (sitrat, pirofosfat, magnezyum) sahiptir [21]. Eğer kristalizasyon inhibitörleri bulunmazsa sonunda böbrek taşı hastalığı meydana gelir [20]. İnhibitörler solüsyon içerisinde kalsiyum tuz konsantrasyonunun saf çözücü içindeki konsantrasyondan daha yüksek konsantrasyonda tutulmasını sağlar [22,23].

Böbrekte taş oluşumu; kristal çekirdeğin meydana gelmesi, büyümesi, kümelenmesi ve kristallerin renal tübül içinde tutulumu gibi temel basamakları içeren bir süreçtir [21].

2.1.1. Kristal çekirdeklenme

İdrarda kristallerin bulunması taş oluşumu için yeterli değildir. Kristaller idrarla birlikte hareket edip böbrekten atıldığı sürece bir sorun oluşturmaz. Ancak kristaller idrarla atılamadıklarında taş oluşumu için çekirdek görevi göreceklerdir. Aşırı doygun bir çözelti içerisinde sıvı fazdan katı faza geçişin başlangıç basamağı çekirdeklenme olarak adlandırılır. Çözelti içerisinde gevşek bir şekilde kümelenmiş olan taş tuzlarının kombinasyonu ile başlayan bu süreç yeni bileşiklerin eklenmesi ile büyüebilir [24].

İdrarda, çekirdekler genellikle mevcut yüzeylerde heterojen çekirdeklenme adı verilen bir işlem oluşturur. İdrarda bulunan epitel hücreleri, alyuvarlar ve diğer kristaller idrarda

çekirdeğin merkezinin oluşumunda rol oynarlar. Heterojen çekirdeklenme için gerekli olan doygunluk homojen çekirdeklenme için çok daha azdır [25].

2.1.2. Kristal büyümesi

Çekirdeklenme sonrası, taş oluşumunun önemli bir basamağı kristal büyümesidir. Bir kristal çekirdek üzerine iyonların birikme hızı olarak tanımlanan kristal büyümesi sıvı ve katı faz arasında bir ara formda gelişir. Kristallenme için itici güç; atom veya molekülleri birbirlerine bağlayarak oluşumunu sağlayan potansiyel enerjideki azalmadır. Aşırı doygun bir sıvı içinde çeşitli atomlar veya moleküller kümeler oluşturmaya başlar. Kümenin serbest enerjisi sıvınınkinden daha azdır. Kümenin toplam serbest enerjisi yüzey enerjisiyle (yüzey gerilimi) artar. Kristal büyümesi kristal yapısının oluşumunda meydana gelen bozukluklar, pH, maddenin fiziksel özellikleri, molekülün boyutu ve şekline göre belirlenir [26,27]. Nefronun farklı kısımlarında idrarın derişimi, bileşimi ve salgılanan makromoleküller değıştiğı için kristal büyüme kinetiğı de farklı olur [28].

2.1.3. Kristal kümelenmesi

Çözelti içindeki kristallerin daha büyük partiküller oluşturmak için bir araya geldiğı süreç kümelenme olarak adlandırılır. Bazı araştırmacılar kümelenmenin taş oluşumunda en önemli basamak olduğunu ileri sürmektedirler. CaOx böbrek taşı oluşumunda kristal büyümesi önemli bir basamak olmasına rağmen, tübüler sıvının böbreklerden geçmesi için birkaç dakika gerektiğinden tek başına bu mekanizma ile kristallerin böbrek tübüllerini tıkayabilecek büyüklüğe ulaşması ve orada kalması için bu büyüme süreci çok yavaştır. Bu nedenle, kümelenmenin daha önemli bir basamak olduğu düşünülmektedir [29].

Kümelenme süreci oldukça çabuk gelişir ve böbrek tübülleri içinde ya da tübül hücrelerinin yüzeyinde büyük kitlelerin oluşmasıyla sonuçlanır. Daha sonra oluşan bu kitleler büyüyüp taşa dönüşebilmek için nefron içerisinde tek bir bölgeye yerleşir. Bu yapılar benzer olaylar zinciriyle zara ait öğelere tutunup daha sonra nefron içindeki diğere hücrelerin yüzeyine bağlanır [30].

2.1.4. Kristal - hücre etkileşimi

Kristal-hücre etkileşimi arasındaki mekanizmanın oldukça kompleks olduğu düşünülmektedir ve bu mekanizmanın çoğu hala açıklanamamıştır. Kristalizasyon idrardaki aşırı doyumluk sonucu ortaya çıkar. Daha sonra, oluşmuş kristaller renal tübüler epitel hücrelerine tutunur ve bu hücrelere alınır. Tutunma işlemi ya da kristallerin renal tübüler epitel hücrelerine endositozu genellikle kristal-hücre etkileşimi olarak ifade edilen bir durumdur. Kristal-hücre etkileşiminin yapısal ve fonksiyonel durumu ile ilgili kültür ortamında yapılan çalışmalar kalsiyum oksalat monohidrat (COM) kristallerinin hızlı bir şekilde hücre yüzeyindeki mikrovilluslara yapıştığını ve daha sonra hücre içine alındığını göstermiştir [31].

İdrarda bulunan bazı makromoleküllerin CaOx kristallerinin bağlanmasını önleyici etkileri vardır. Lieske, Leonard ve Toback (1995), glikozaminoglikanlar, glikoproteinler ve sitrat gibi idrarda bulunan çeşitli polianyonik moleküllerin, COM kristallerinin hücre membranına bağlanmasını bloke ettiğini bildirmişlerdir. Hücrelere COM kristalinin yapışmasını engelleyen moleküllerin ortak bir özelliği, polianyonik karakterde olmalarıdır [32, 33].

2.1.5. Renal tübüler epitel hücreleri tarafından CaOx kristallerinin endositozu

Yapılan birçok çalışmada hücreler tarafından kristallerin endositoz edildiği bildirilmiştir. Lieske, Spargo ve Toback (1992), primer hiperoksalüri olan bir hastada nakledilen böbrekte hücre proliferasyonunu ve böbrek tübüler epitel hücrelerinin kristalleri hücre içine aldığını bildirmişlerdir [34]. Ayrıca tübüler hücreleri kullandıkları kültür ortamında kalsiyum içeren kristalleri kullanarak bu durumu deneysel olarak doğrulamışlardır [35].

Çeşitli maddelerin CaOx kristallerinin endositozu üzerinde inhibe edici etkisi vardır. Tamm-Horsfall proteini (THP) [36], COM kristal endositozunun % 34 azalmasına yol açar. Bu sebeple; distal tübüler sıvı içerisinde yer alan THP'nin nefronun bu bölümündeki hücreler tarafından COM kristal alımını bloke edebileceği ve renal kristal tutunmasını ve taş oluşumu önleyebileceği öne sürülmüştür [37].

Lieske ve Toback (1993), BSC-1 ve MDCK hücreleri tarafından CaOx kristallerinin hücre içerisine alınmasının çeşitli sinyaller ile değiştirilebilen düzenlenmiş bir olay olduğunu bildirmişlerdir. Buna ek olarak, böbrek hücresi kökenli bir üriner glikoprotein olan nefrokalsinin COM kristallerinin adsorpsiyonunu, plazma membranına kristalin tutunmasını ve hücre içine alınmasını engelleyerek mitojenik etkileri engellediğini rapor etmişlerdir [38].

2.1.6. Kristal-hücre etkileşimi ve renal tübüler hücre yaralanması arasındaki ilişki

Bazı araştırmacıların çalışmalarından elde edilen kanıtlara göre; oksalat ve CaOx böbrek tübüler hücreleri için zararlı olabilir. Kültüre edilen böbrek tübüler hücrelerinin CaOx kristallerine maruz bırakıldıktan sonra zarar gördükleri kanıtlanmıştır. Tek tabaka Madin-Darby köpek böbreği (MDCK) hücrelerine CaOx kristallerinin ilave edilmesi ile lizozomal enzimler, prostaglandin E2 ve daha az bir ölçüde sitozolik enzimlerin salınması önemli ölçüde artmıştır [39, 40].

Yüksek oksalat yüklemesi yapılarak böbrek taşı oluşturulan deney hayvanlarında, böbrek tübüllerinde CaOx kristallerinin varlığı böbrek tübüllerine zarar vermesiyle ilişkili bulunmuş, enzimüri ve tübüler lüminadaki membran yıkımının varlığı ile kanıtlanmıştır [41]. Bu zarımsı yıkım proksimal tübüler hücrelerinden fırçamsı yüzeyin merkezindeki kayıp ile birlikte ortaya çıkmış ve idrarda proksimal tübüler enzimler görülmüştür. Bu durum zarımsı yıkımın kaynağı olarak proksimal tübüler hücreler şeklinde yorumlanmıştır [41-43]. Böylece taş oluşumunda bu hayvan modeli, CaOx kristalleri ya da proksimal tübüllerdeki yüksek konsantrasyonlardaki oksalat iyonu akışı böbrek tübüler epitelyal hücreleri için toksik olduğu ortaya çıkmıştır.

Bazı çalışmalarda kristal-hücre etkileşimi sürecinde tübüler epitelyal hücre zararıyla bağlantılı olduğu rapor edilmiştir. Renal tübüler epitelyal hücrelerinde yaralanma hücresel yıkım ve membranöz veziküllerin üretimine neden olur. Kristaller epitelyal hücrelere ya kristalüri parçacıklar olarak ya da endositozla geçerler ve lizozomal sistemde ya da interstisyuma taşınarak işlenirler. Böbreklerde depo edilen CaOx kristalleri iltihap ve fibrozise neden olan makromoleküllerin sentez ve ekspresyonunu düzenler.

2.1.7. Taş inhibitörleri ve promotörleri

İnhibitörler, kristal büyüme oranını ve agregasyonu azaltan ve sekonder nükleasyonu inhibe eden moleküller olarak tanımlanır. Bunun aksine promotörler; taş oluşumunu teşvik eden moleküllerdir. Bu maddeler, inorganik bileşikler, proteinler ve glikosaminoglikanları içerir (Çizelge 2.1). Bu bileşiklerin anormal fonksiyonu veya idrardaki konsantrasyonu, taş oluşumunu indükleyen fizikokimyasal koşullar değiştirebilir [44,45].

Çizelge 2.1. Taş oluşumunu indükleyen ve inhibe eden faktörler

İndükleyen faktörler	İnhibe eden faktörler
Kalsiyum	İnorganik
Sodyum	Sitrat
Okzalit	Magnezyum
Ürat	Pirofosfat
Sistin	Organik
Düşük idrar pH	Tamm-Horsfall protein
Tamm-Horsfall proteini	İdrar Protrombin fragmenti 1
Düşük idrar akımı	Proteaz inhibitörü: inter α inhibitör
	Glikozaminoglikanlar
	Osteopontin (Uropontin)
	Renal lithostathine
	Bikunin, Kalgranulin
	Yüksek idrar akımı

2.2. Yapılarına Göre Taşlar

2.2.1. Kalsiyum oksalat taşları

Kalsiyum ve oksalatın asidik idrar içerisinde süpersatürasyonu, kalsiyum oksalat taşlarının oluşumunun ana mekanizmasıdır [46]. Bununla birlikte, Çizelge 2.2’ de verilen çeşitli faktörleri de içermektedir. Bu faktörlerden önemli olanları aşağıda anlatılmıştır.

Çizelge 2.2. Kalsiyum oksalat taşı promotörleri [47]

Promotör
Hiperkalsüri
Hiperoksalüri
Hipositratüri
Hiperürikozüri
Beslenme faktörleri (yüksek tuz, yüksek protein diyeti)
Asidik idrar pH
Düşük idrar hacmi

Hiperkalsiüri

Hiperkalsiüri, geleneksel olarak erkeklerde günlük idrardaki kalsiyum atılım miktarının ≥ 300 mg, bayanlarda ise ≥ 250 mg olarak tanımlanmaktadır [48].

Hiperoksalüri

Hiperoksalüri idrarda oksalat miktarının 24 saatte 45 mg üzerinde olması şeklinde tanımlanır ve böbrek taşı oluşturunların % 8-50'inde vardır [49]. Üriner oksalat kalsiyum süpersatürasyonu ile eşit derecede önemlidir [50].

Hiperürikozüri

Hiperürikozüri idrarda ürik asit miktarının 24 saatte 600-700 mg'dan fazla olmasıdır [51,52]. Ürik asit pKa 5,5 değerine sahip zayıf bir organik asittir ve çözünürlüğü idrar pH'sına bağlıdır. [53].

Hipositratüri

Yetişkinler için günlük idrardaki sitrat miktarının 300 mg altında olması olarak tanımlanan hipositratüri böbrek taşı hastalarının % 20-60'ında görülür [54]. Tübüler lümende kalsiyum anyonlarını bağlanarak bunların çözünürlüğünü artırır ve CaOx kristallerinin çekirdeklenmesini inhibe eder [55]. Ayrıca, sitrat kristal agregasyonunu ve büyümeyi inhibe eder [56].

Hipomagnezüri

Magnezyumun idrarda düşük derişimde bulunması hali hipomagnezüri olarak adlandırılır Magnezyum, okzalat iyonlarına bağlanarak kalsiyum okzalat kristal oluşumunu engeller Hipomagnezüri taş oluşumunda etkindir [57].

2.2.2. İnfeksiyon (Strüvit) taşları

Magnezyum amonyum fosfattan oluşan strüvit taşları, mikrobiyal çoğalma sırasında üriner kimyada meydana gelen değişikliklerin bir sonucu olarak oluşur. Başlıca nedenleri tekrarlayan üriner enfeksiyonlar ve anatomik yatkınlıktır. Üreaz-pozitif mikroorganizmalar (bazı *Proteus* spp, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp, *Staphylococcus saprophyticus*, *Ureaplasma urealyticum*) her üre için iki amonyum ve bir bikarbonat üretir. Böylece üriner iki değerlikli fosfatı üç değerlikli fosfat formuna dönüştürerek strüvit kristalizasyonu için yeterli amonyumu sağlar. Bu taşların yaygın bir özelliği geyik boynuzu görünümünde olmalarıdır. Üriner sistem taşlarının % 10-15'ini oluşturan infeksiyon taşları kadınlarda daha sık görülmektedir [58].

2.2.3. Ürik asit taşları

Ürik asit taşları düşük idrar hacmi, idrar ürik asit düzeyinin yüksek olduğu durumlar ve asidik idrar pH'sından kaynaklanabilir [59]. Sonuç olarak ürik asit presipitasyonu meydana gelir [58]. Serum ürik asit miktarı % 7'nin üzerine çıktığında süpersatürasyon meydana gelir ve kristal formasyonu artar. Kandaki ürik asit % 7-8 mg'ın üzerine çıkınca taş oluşmaya başlar [52]. Son zamanlarda yapılan takip çalışmaları gut, hiperürisemi, tekrarlayan monoartrit ve hiperürikozürinin bağımsız olarak erkeklerde ürik asit taşı riskini arttırdığını göstermiştir [60].

2.2.4. Sistin taşları

Sistin taşları, böbrek epitelyal hücre taşıyıcılarındaki kalıtsal bir bozukluktan kaynaklanır. Böbreklerdeki sistin için ana apikal emilim sistemi; b0, +AT hafif zincir katalitik alt birimi ve rBAT (b0,+AT ile ilgili) ağır zincir alt biriminden oluşan heteromerik bir taşıyıcıdır. İki alt biriminden birinde meydana gelen inaktive edici mutasyon (rBAT ya da b0 + AT1) sistin, arginin, lizin ve ornitin gibi amino asitlerin üriner kaybına yol açar [61]. İnsidans ve prevalans oranları coğrafi alan ve tarama yöntemine bağlı olarak büyük ölçüde değişir, bu yüzden gerçek alel sıklığının tahmin etmek güçtür. Ancak, insidansının sıklıkla 1:20 000 olduğu belirtilmektedir [62]. Türkiye'de yüksek riskli 6050 bebeğin metabolik hastalıklarının tarandığı bir çalışmada sistinüri prevalansı 1:1000 olarak belirlenmiştir.

Sistinüride taş oluşumu ve buna bağlı komplikasyonlara daha çok 20-30'lu yaşlarda rastlanır [51].

2.3. Taş Oluşumunu Etkileyen Faktörler

2.3.1. Coğrafi konum

Böbrek taşı görülme sıklığı, dünyanın farklı yerlerinde yaşayan bireylerde değişiklik göstermektedir. İskandinav ülkeleri, Akdeniz ülkeleri, İngiliz adaları, Kuzey Avustralya, Orta Avrupa, Çin, Pakistan ve Kuzey Hindistan'da yüksek insidans gösterirken; Orta ve Güney Amerika ve Afrika'nın bazı bölgelerinde böbrek taşı oluşma insidansı düşüktür. Suudi Arabistan gibi bazı Asya ülkelerindeki riskin en yüksek (% 20,1) olduğu rapor edilmiştir [2,63]. Ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde kalsiyum oksalat ve kalsiyum fosfat taşı daha sık görülürken; amonyum ürat ve kalsiyum oksalat taşlarından oluşan mesane taşı oluşumu Asya'da oldukça yaygındır [64]. Ülkemizde ise hastalığın Güneydoğu, Doğu Anadolu ve Akdeniz Bölgesinde fazla görüldüğü rapor edilmiştir [65].

Sıcaklık faktörü göz önüne alındığında taş oluşumunun insidansı üzerine coğrafyanın etkisi doğrudan olabilir. Yüksek sıcaklıklar terlemede artışa neden olmakta ve bu durum daha konsantre idrar oluşumuna sebep olarak üriner kristalizasyonda artışa neden olabilmektedir [66].

2.3.2. Yaş, ırk ve cinsiyet

Hastalık tüm yaş gruplarında görülmektedir ve erkeklerde görülme sıklığının kadınlara göre 2:1 veya 3:1 oranında olduğu literatürde bildirilmiştir [51]. Ülkemizde, üriner sistem taş hastalığının epidemiyolojisi ile ilgili yapılan bir çalışmada ise erkeklerde görülme sıklığının kadınlara göre 1,5:1 oranında olduğu ve en sık görüldüğü yaş grubunun 55 yaş üstü olduğu rapor edilmiştir [67].

Üriner sistem taş hastalığının insidansı erkeklerde 20'li yaşlarda yükselmeye başlar, 40-60 yaşlar arasında en yüksek noktaya ulaşır ve sonra azalır. Kadınlarda ise 20'li yaşların sonunda yükselen insidans, 50'li yaşlarda azalır [68].

30-70 yaşları arasında ilk böbrek taşı oluşma olasılığı yaklaşık olarak erkeklerde % 6-9 iken kadınlarda % 3-4'tür [69-75].

Baker, Coyle, Bais ve Rofe (1993) tarafından yapılan bir çalışmada göreceli olarak taş hastalığı oluşumuna neden olan kronik üriner sistem enfeksiyonları, sistinüri, hiperparatiroidizmin bayanlarda daha sık görülmesinin taş hastalığı sıklığını arttırabileceği öne sürülmüştür. Ancak, bayanlardaki düşük serum testosteron düzeyleri ve idrardaki sitrat miktarının yüksekliği taş hastalığının erkeklerde daha fazla görülmesini açıkça ortaya koymaktadır [76-77].

Baker ve arkadaşları (1993) kalsiyum oksalat taşlarının 50-60 yaşları arasında gelişme gösterdiğini; 60-65 gibi daha ileri yaşlarda ise ürik asit taşı geliştirme eğiliminin arttığını bildirmişlerdir [76].

Yapılan popülasyon temelli araştırmalara göre taş oluşum sıklığı etnik kökene bağlı olarak toplumdan topluma değişiklik göstermektedir. Böbrek taşı hastalığı coğrafi alana bağlı olmaksızın beyaz Kafkaslarda, siyahilerden daha fazla görülmektedir [78]. Eskimolarda ise hiç görülmemektedir [68].

2.3.3. Genetik faktörler

Ailesinde taş hastalığı öyküsü olan bireylerin hastalığa yakalanma olasılığı, aile öyküsü olmayanlardan 2,5 kat daha fazladır. Taş hastalığı multifaktöriyel bir hastalık olduğu için bu yüksek risk, çevresel ve genetik faktörleri içerebilir [79].

Curhan, Willett, Rimm ve Stampfer (1997) böbrek taşı tespit edilen hastalar ve böbrek taşı hastalığı olmayan bireylerle yaptıkları bir çalışmada ailesinde taş hastalığı hikayesi olanların, taş hastalığı olmayanlardan 2,57 kat fazla olduğunu bildirmişlerdir [72].

Goldfarb, Fischer, Keich ve Goldberg (2005) tarafından genetik ve genetik olmayan faktörlerin taşlarla ilişkisini incelemek için yapılan bir ikiz çalışmasında benzer sonuçlar rapor edilmiştir [80].

Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise, hastaların % 40'ının birinci derece akrabalarında taş hastalığı görüldüğü bildirilmiştir [81].

Kapsamlı genetik çalışmalar yapılmasına rağmen, hiçbir kromozomal haritalama taş hastaları ve idiopatik hiperkalsiüresi olan hastalarda yapılmamıştır [82, 83]. Genetik çalışmalarla sadece kesin kanıt ürolitiyazisin poligenik bir kusur ve kısmen penetratif olmasıdır [84]. Günümüzde, taş hastalığından sorumlu geni tanımlamak mümkün olmamakla birlikte, haritalanmış genlerin birikimi ile bu bölgelerde bir aday gen bulunma olasılığı vardır [85].

2.3.4. Mevsimsel ve iklimsel etmenler

Böbrek taşı görülme sıklığı mevsimsel olarak değişiklik göstermektedir. Genellikle ilkbahar ve yazın sıcak aylarında böbrek taşı görülme insidansı yüksektir [86-88].

Sıcak iklim kuşağında yaşayan bireylerde artan sıvı kaybı, daha satüre olmuş idrar atılımı gibi nedenler ile daha yüksek oranda taş hastalığına rastlanır [51]. Sıcak iklim bölgelerinde ortaya çıkan artmış taş hastalığının en önemli sebebi, cilt yoluyla kaybedilen sıvı miktarının artışına bağlı olarak idrar miktarının azalmasıdır [81].

Yıl boyunca sıcaklık farklılıklarının gözlemlendiği ülkelerde ise taş hastalığının sıklığı yıl içinde farklılık göstermekte olup, en yoğun dönem yaz ayları (Haziran – Eylül) olarak saptanmıştır [81].

İran'da yapılan bir çalışmada en yüksek insidansın Haziran, Temmuz ve Kasım aylarında gözlemlendiğini bildirmişlerdir [89]. Bu çoğunlukla ortalama sıcaklık ve böbrek taşlarının insidansı arasında pozitif bir korelasyon olduğu yönünde yorumlanmıştır [71,87-91].

2.3.5. Mesleki faktörler

Üriner sistem taş hastalığı için çeşitli meslek gruplarında farklı görülme sıklıkları rapor edilmiş ve fiziksel aktivitenin minimum seviyede olduğu meslek gruplarında taş hastalığına daha sık rastlandığı bildirilmiştir [67,81].

Sutor ve Wooley (1974), tarafından yapılan bir çalışmada, yönetim ve büro işinde çalışanlarda, beden işi yapanlara göre taş hastalığına daha sık rastlanıldığını belirtmişlerdir [67,92].

İşlerinin içeriği ve bulundukları ortam gereği yüksek ısıya maruz kalan bireylerde de (gemi çalışanları, fırın ve döküm işçileri vs.) taş hastalığına daha sık oranda rastlanılmaktadır. [51,79].

2.3.6. Sıvı alımı

Hipokrat döneminden beri, böbrek taşı olan hastalara tekrar taş oluşma riskini azaltmak için sıvı alımını özellikle de su alımını arttırmaları tavsiye edilir [66]. Seyreltici etkisi ve idrarın doygunluk oranını azaltması sebebiyle yeterli idrar dilusyonunu sağlamak için taş hastalarına bol sıvı tüketmeleri tavsiye edilir [93]. Bunun için günde 2,0 – 2,5 litre idrar üretimini sağlayacak sıvı tüketiminin olması yönünde fikir birliği vardır [94].

Borghesi ve diğerleri (1996), 199 taş hastası ve 101 kontrolle yaptıkları 5 yıllık bir çalışmada yüksek su tüketimine bağlı olarak böbrek taşı olan hastalarda taşın tekrarlama oranının % 50 oranında düştüğünü ve taşın 5 yıl içinde tekrarlama aralığının uzadığını bildirmişlerdir [95].

Portakal suyu ve limonatanın taş oluşumunu azalttığı [96], elma ve greyfurt suyunun ise taş oluşum riskini arttırdığı yönünde çalışmalar literatürde mevcuttur [68]. Ayrıca çay, kahve ve alkol gibi içeceklerin de kalsiyum oksalat taşı için risk faktörü olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur [79].

2.3.7. Beslenme

Beslenmenin böbrek taşı patogeneğinde önemli rol oynadığı kuşkusuzdur. Yapılan birçok çalışmada belirli bir popülasyonda hayvansal protein tüketimi ile taş hastalığının prevalansının yakından ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Hayvansal protein alımının taş oluşma riski ve idrar taşlarının kimyasal bileşimi üzerinde büyük bir etkisi vardır [97-99].

Robertson, Peacock ve Marshall (1982), tarafından yapılan bir çalışmada hayvansal proteinden fakir bir diyet ile taş oluşma riskinin azaldığı ve taş hastalığına vejetaryenlerde normal popülasyondan % 40-60 daha az rastlandığı rapor edilmiştir [100].

Yapılan bir başka çalışmada günlük içilen su miktarı arttırılmış, hayvansal kaynaklı protein, sofr tuzu ve kalsiyum miktarı azaltılmış bir diyetle idrardaki kalsiyum oksalat satürasyonunun azaldığı rapor edilmiştir [67].

Diyetle aşırı pürin, kalsiyum, oksalat ve fosfat alınması, idrarda bu maddelerin aşırı atılımına neden olarak taş hastalığını kolaylaştırmaktadır [81].

Süt ve süt ürünleri yoluyla kalsiyum alımı, hiperkalsiüri ve taş oluşumu ile ilişkili olabilir. Curhan, Willett, Rimm ve Stampfer (1993) Amerika'da 40 000 sağlıklı birey üzerinde, diyetle kalsiyum alımının taş hastalığı riskine etkilerini araştırdıkları çalışmada günlük kalsiyum tüketiminin 1,050 mg'dan 600 mg'a düşürülmesinin taş hastalığının gelişim riskini arttırdığını bildirmişlerdir [101].

Yapılan bazı çalışmalarda yüksek idrar sodyum atılımının yetişkin ve pediatrik popülasyonlarda hiperkalsemi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle sodyum alımı taş oluşumu için bir risk faktörü olarak önemli bir role sahiptir [102,103].

2.3.8. Eşlik eden hastalıklar

Epidemiyolojik çalışmalar böbrek taşları ile diyabet, obezite, hipertansiyon ve diğer kronik hastalıklar arasında bir ilişki olabileceği yönündedir [2, 86,104,105].

Kalsiyum oksalat taş hastası 363 erkek ve 164 kadından oluşan bir grupta yapılan bir çalışmada erkeklerin % 59,2'nde ve kadınların % 43,9'unda aşırı kiloluk ve obezitenin gözlemlendiği ve aşırı kilo ve obezitenin taş oluşum riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [106].

Borghesi ve diğerleri (1999), Cappuccio ve diğerleri (1999) ve Madore, Stampfer, Willett, Speizer ve Curhan (1998) tarafından yapılan 3 ayrı çalışmada hipertansiyon ile böbrek taşı riski ilişkili bulunmuştur. [107,108,73].

2.4. Taş Hastalığına Neden Olan Gen Polimorfizmleri

Genetik varyasyon hemen hemen her hastalığa yatkınlık ya da direnç göstermeye katkıda bulunmaktadır [109]. İnsan genetik varyasyonun en yaygın türü insan popülasyonunda iki alternatif bazda kayda değer sıklıkta ($> \% 1$) meydana tek nükleotid polimorfizmdir (SNP) [110]. NCBI dbSNP Build 141'e göre (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>), insan genomunda her 72 baz çiftinde bir kez meydana gelen yaklaşık 43 milyon doğrulanmış SNP vardır [111].

Genom boyu ilişkilendirme çalışmalarında (GWAS) kodlama yapmayan bölgelerde yer alan SNP'lerin önemi daha fazla olmasına rağmen daha çok kodlama yapan dizilerde yer alan SNP'lere odaklanılmıştır. Kodlama yapmayan diziler (örneğin; promotörler, hızlandırıcılar ve 3' uç) içinde yer alan SNP'lerin komşu genlerin sentezlenmesi üzerinde büyük etkilere sahip olduğu gösterilmiş olup hastalık fenotiplerine neden olabilirler [112, 113]. Bu nedenle düzenleyici SNP'ler (rSNPs) olarak adlandırılırlar [114, 115].

Son yıllarda yapılan genetik çalışmalar, bazı genlerdeki polimorfizmlerin taş oluşumu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu genler arasında osteopontin (OPN) [116,117], kalsitonin reseptörü (CTR) [118], Vitamin D reseptörü geni (VDR) [119], ürokinaz [120], interlökin (IL-1 β ve IL-Ra) [121,122], E-kaderin geni (CDH1) [123], androjen- östrojen reseptörleri (AR ve ER) [124], vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü (VEGF) [125], kalsiyum algılama reseptörü (CaSR) [126] genleri yer almaktadır.

2.4.1. E-kaderin geni

CDH1 olarak adlandırılan E-kaderin geni 16q22.1 kromozomu üzerinde yer almaktadır. Yaklaşık 100 kb uzunluğundadır ve 16 ekzonu vardır [127]. Böbrek tübül hücreleri dahil olmak üzere hemen hemen tüm epitelyal hücrelerde ifade edilen E-kaderin (CDH1), hücreler arası adezyon, hücre polaritesi, normal doku yapısının oluşması ve bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynamaktadır [128,8].

Epitelyal hücreler arasında kalsiyum bağımlı adezyonun sürdürülmesinde anahtar rol oynayan E-kaderinin bu fonksiyonu katenin olarak adlandırılan sitoplazmik proteinlere

bağımlıdır. Kaderinlerin sitoplazmik kısmı üç sitoplazmik protein ile ilişkilidir; bunlar α , β ve γ -katenindir [129]. Alfa katenin; beta ve gama kateninler vasıtasıyla E-kaderin/katenin kompleksinin hücre iskeletine bağlanmasında rol oynar [130]. E-kaderin/katenin kompleksi hücreler arası sıkı bağlantıları sağlayan zonula adherans bölgesinde yerleşmiştir. E-kaderinde meydana gelen mutasyon, hücre adezyonunda azalmaya ve dolayısıyla normal doku bütünlüğünün azalmasına neden olur [131].

E-kaderin geni ve bu gendeki mutasyonlar birçok kanserde (mide, meme, akciğer, baş-boyun, over, prostat) ve kanser olmayan hastalıklarda (endometriyozis [132], astım [133], böbrek taşı hastalığı [19], postinfektif irritabl bağırsak sendromunda (PI-IBS) [134]) araştırılmış olup, halen birçok araştırmacı bu konu üzerinde çalışmaktadır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örnekler

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu' nun 12.01.2015 tarih ve 25901600-79 sayılı kararınca onaylanmıştır. Çalışmaya katılan tüm hasta ve kontroller çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı izinleri alınmıştır. Bu çalışmada; klinik olarak böbrek taşı oluşturduğu tespit edilmiş hasta birey ile böbrek taşı rahatsızlığı olmayan, sağlıklı bireylerden alınan kanlar kullanılmıştır. Böbrek taşı hastaları, Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Üroloji bölümüne gelen gönüllü bireylerden seçilmiştir. Hastaların özgeçmişleri ve soy geçmişleri incelenmiş, rutin kan ve idrar biyokimyasal testleri örneklerin sağlandığı klinik tarafından yapılmıştır. Çalışma dahilinde idrar yolu enfeksiyonları, böbrek yetmezliği, kronik ishal ya da kanser belirtileri gösteren hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Buna göre, klinik olarak böbrek taşı oluşturduğu tespit edilmiş 101 birey hasta çalışma grubuna alınmıştır. Kontrol grubu ise, ailesel üriner taş hastalığı öyküsü olmayan ve sağlık taramasında böbrek kalsifikasyon öyküsü olmayan 114 sağlıklı bireyden oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılmak üzere EDTA'lı tüplere 5'er ml kan alınmıştır. DNA eldesi için geçen süreye kadar kanlar en fazla bir hafta buzdolabında (+4°C'de) muhafaza edilmiştir.

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Agaroz (NZYTech)
- Bromofenol blue (Geneall)
- Etanol (Geneall)
- GelRed Nucleic Acid Gel Stain Biotium
- Primerler (NZYPrimer)
- dNTP seti (Geneall)
- Taq polimeraz (Geneall)
- DNA marker (Geneall)
- Restriksiyon enzimleri (Thermo- NEB)
- 10X TBE Buffer (NZYTech)
- DNA izolasyon kiti (Exgene Blood SV DNA Isolation Kit)

3.3. Kullanılan Gereçler

- Hassas terazi (AND-ER-182A)
- PCR otomatik ısı döngü cihazı (Thermo Scientific)
- Spektrofotometre (Nanodrop ND-1000, Thermo Scientific)
- Kuru ısıtıcı blok (Biosan)
- pH metre (WTW 422)
- Elektroforez güç kaynağı (Thermo)
- Soğutmalı santrifüj (Hettich Mikro 22R)
- Manyetik karıştırıcı (TMA 2071)
- Elektroforez tank ve kaseti (Biorad)
- Vorteks (Biosan)
- Mikrodalga fırın (Arçelik)
- Mikropipetler; 10µl, 100µl, 1000µl (Axygen)
- Derin dondurucu -20°C (Sanyo)
- Derin dondurucu -80°C (Sanyo)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Jel görüntüleme sistemi (Kodak Gel Logic 100 Imaging System)

3.4. Çözeltiler

3.4.1. Agaroz elektroforezinde kullanılan çözeltiler

0,5 M Disodyumetilendiaminteraasetat (EDTA) (pH 8.0)

186,1 gram Etilendiamintetraasetat (EDTA) tartılarak bir beher içine alındı. Üzerine 800 ml distile su eklendi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldü. NaOH çözeltisi kullanılarak pH'sı 8,0'e ayarlandı ve son hacmi distile su ile 1 litreye tamamlandı. 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

10 X TBE (Tris-Borik asit-EDTA) Stok solüsyonu

108 g Tris baz, 55 g borik asit tartılarak beher içine alındı. Üzerine 40 ml 0,5 M EDTA (pH 8,0) ve 800 ml steril distile su ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Çözeltinin son hacmi 1 litreye tamamlandı ve 120°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

1 X TBE (1 litre için)

100 ml 10 X TBE stok solüsyonu bir mezür içerisine alındı ve üzerine 900 ml steril distile su ilave edildi.

Yükleme Tamponu (Loading Buffer : 6X)

Yükleme tamponu (loading buffer) olarak 40 g süktroz ve 0,25 g bromfenol mavisi karışımı kullanıldı. 100 ml olacak şekilde steril distile su içinde çözündürüldü. Eppendorf tüplerine paylaştırılarak buzdolabında muhafaza edildi.

3.5. Kullanılan Yöntemler

3.5.1. Kandan DNA izolasyonu

Kan örneklerinden DNA izolasyonu ticari kit kullanılarak, kitte (Exgene Blood SV DNA Isolation) belirtilen izolasyon prosedürü takip edilerek yapıldı. Prosedüre göre;

- 1) 1,5 ml' lik eppendorf içerisine 20 µl Proteinaz K eklendi.
- 2) Aynı eppendorf içerisine 200 µl kan örneği eklendi.
- 3) 20 µl RNase A ilave edilip, 2-3 defa pipetaj yapıldı. Oda sıcaklığında 2 dk bekletildi.
- 4) 200 µl BL buffer eklendi ve karışım vortekslendi.
- 5) 56°C'de 10 dk inkübe edildi.
- 6) 200 µl saf etanol eklendi ve pipetaj yapıldı.
- 7) Karışım SV kolona transfer edildi ve 12 000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Toplama tüpü atıldı ve kolon yeni bir tüpe takıldı.
- 8) 600 µl BW buffer eklendi, 12 000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Toplama tüpü atıldı ve kolon yeni bir tüpe takıldı.

- 9) 700 µl TW buffer eklendi, 12 000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi. Toplama tüpü atıldı ve kolon yeni bir tüpe takıldı.
- 10) 14 000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- 11) SV kolon 1,5 ml’ lik eppendorf tüpe takıldı.
- 12) 200 µl AE buffer ya da steril su ilave edildi ve 1 dk bekletildi. Daha sonra 14 000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi. DNA çözündükten sonra tüpler -20°C’de saklandı.

3.5.2. Elde edilen DNA’nın konsantrasyon ve kalitesinin tayini

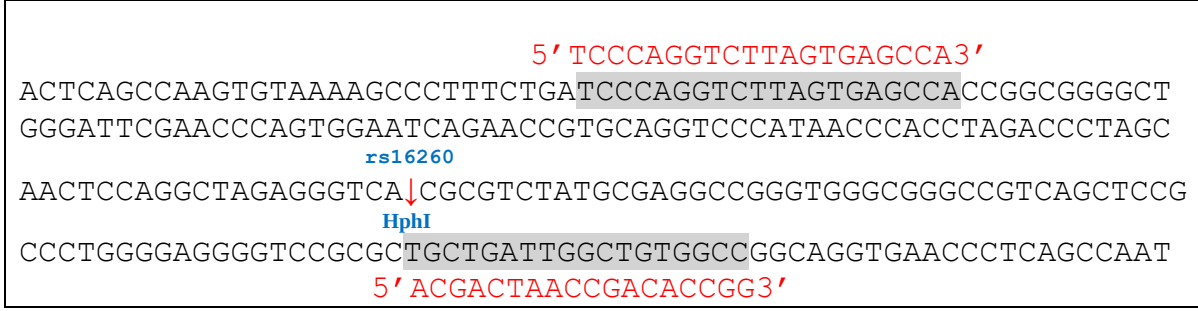
Elde edilen DNA’ların saflık ve miktar tayinleri Thermo Marka Nanodrop 1000 Model Spektrofotometre ile yapıldı. Spektrofotometrede 260 nm (A_{260}) ve 280 nm (A_{280}) dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA’nın saflığı ve konsantrasyonu belirlendi. A_{260}/A_{280} oranı 1,7-1,8 olan DNA’lar temiz olarak kabul edildi.

3.5.3. CDH1 gen polimorfizminin tespitinde kullanılan primer dizileri

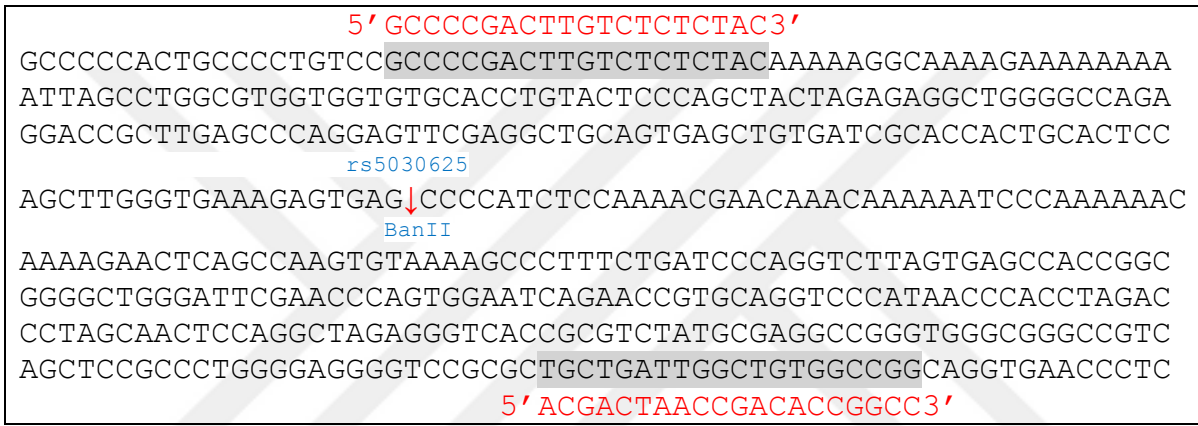
PCR işlemi için kullanılacak primerlerin seçimi, referans alınan makalelere göre yapılmıştır. Primerler seçildikten sonra NCBI internet sitesinden elektronik PCR yöntemiyle CDH1 geni mRNA dizisinde çoğaltacak olan bölgeye bağlandıkları (Şekil 3.1. ve Şekil 3.2.) doğrulanmıştır (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>). -160C/A ve -347 G/GA polimorfik bölgelerini çoğaltmak amacıyla kullanılan primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verildiği şekildedir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Bu çalışmada incelenen polimorfik bölgeleri çoğaltmak için kullanılan primer dizileri (F : ileri primer, R : Geri primer)

Primer Adı	Primer Dizisi
CDH1 -160C/A -F	5’-TCCCAGGTCTTAGTGAGCCA-3’
CDH1 -160C/A -R	5’-GGCCACAGCCAATCAGCA-3’
CDH1 -347 G/GA - F	5’-GCCCCGACTTGTCTCTCTAC-3’
CDH1 -347 G/GA -R	5’-GGCCACAGCCAATCAGCA-3’



Şekil 3.1. CDH1 geninde tanımlanan rs16260 polimorfizmini belirlemede kullanılan primerler, tanımlanan polimorfizmin genomdaki yerleşimi ve bu polimorfizmi belirlemede kullanılan enzim



Şekil 3.2. CDH1 geninde tanımlanan rs5030625 polimorfizmini belirlemede kullanılan primerler, tanımlanan polimorfizmin genomdaki yerleşimi ve bu polimorfizmi belirlemede kullanılan enzim

3.5.4 Polimeraz zincir reaksiyon (PCR) yöntemi

Toplam reaksiyon hacmi 25 µl olacak şekilde, CDH1 -160 C/A ve -347 G/GA bölgelerine özgü primerler kullanılarak Çizelge 3.2'de yer alan bileşenler sırası ile 0,2 ml'lik steril tüplere konuldu. PCR karışımının hazırlanma işlemlerinin hepsi buz üzerinde soğukta ve steril kabin içerisinde yapıldı. Daha sonra Çizelge 3.3'de yer alan PCR koşullarına göre ısı döngü cihazı ayarlanarak PCR işlemi başlatıldı.

Çizelge 3.2. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan tepkime bileşenleri

Genomik DNA (100 ng)	-
dNTP (10 mM)	1 µl
10X Buffer (10 µM/ml)	1 µl
Forward Primer (10pmol)	1,5 µl
Reverse Primer (10pmol)	1,5 µl
Tag polimeraz (5U/µl)	0,4 µl
dH ₂ O	-

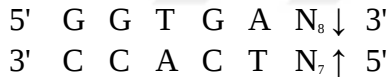
Çizelge 3.3. PCR koşulları

95 °C	5 dakika	
95 °C	30 saniye	} 35 döngü
60 °C	40 saniye	
72 °C	45 saniye	
72 °C	10 dakika	

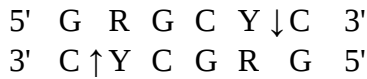
3.5.5. Restriksiyon endonükleazlarla kesim

PCR işlemi ile çoğaltılan gen bölgesi uygun enzim yardımı ile restriksiyon işlemine tabi tutuldu. HphI ve BanII enzimleri ile kesim için; 5 µl PCR ürünü, 10X kesim tamponu ve 5U kesim enzimine hacmi 15 µl'ye tamamlamak üzere steril su eklendi ve 37 °C'de 1 gece inkübe edildi. Restriksiyon enzimleri PCR ürünlerini aşağıda okla gösterilen bölgelerden keser.

HphI enziminin tanıdığı dizi ve kesim yeri:



BanII enziminin tanıdığı dizi ve kesim yeri:



3.5.6. Agaroz jel elektroforezi

%3'lük Agaroz Jel Hazırlanması

3 g agaroz tartılarak erlen içine konuldu. Üzerine son hacim 100 ml olacak şekilde 1X TBE tamponu eklendi ve mikrodalga fırında kaynatılarak, agaroz çözündürüldü. Çözünmüş agaroz jel içine 3,5 µl gelred nucleic acid gel stain ilave edildi. Hazırlanan jel yatay jel yatağı içine dökülerek, yükleme kuyucuklarının oluşması için tarak yerleştirildi ve donmaya bırakıldı. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı ve jel örnek yüklenmesi için hazır duruma geldi.

PCR Ürünlerinin %3'lük Jele Yüklenmesi

% 3'lük jel hazırlandıktan sonra jel tankı içine 1X TBE tamponu jelin üzerini örtecek şekilde konuldu. 5 µl kesim ürününe, 3 µl yükleme boyası eklenip pipetleme yapılarak boya ve kesim ürünü karıştırıldı. 8 µl'lik örnek karışımı kuyucuklara sırasıyla yüklendi. Kesim ürünleri DNA moleküler belirteç ile birlikte 100 V akımda 1 saat yürütüldü.

PCR Ürünlerinin Kontrolü

Yürütme sonrası jel üzerindeki bantlar, jel görüntüleme sisteminde UV ışık altında incelendi. PCR ile çoğalttığımız bölgelerde kesim sonrası birden fazla kesim bölgesi oluşmaktadır. Kesim reaksiyonu sonucunda, CDH1 -160 C/A polimorfizmi AA genotipi içeren ürünler için jelde 190 bp'de tek bant görünmektedir. Heterozigot CA genotipi için 190, 100 ve 90 bp'lik üç bant görülürken, homozigot CC genotipi için 100 ve 90 bp'lik iki bant görülür. CDH1 -347 G/GA polimorfizminde ise homozigot GA/GA genotipi içeren ürünler jelde 332 ve 116 bp'lik iki bant görünmektedir. Heterozigot G/GA genotipi için 332, 263, 116 ve 68 bp'lik dört bant görülürken, homozigot G/G genotipi için 263, 116 ve 68 bp'lik üç bant görülür.

3.5.7. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan istatistiksel yöntemler

Tüm istatistiksel hesaplamalar R (versiyon 2.15) ile yapıldı. Çeşitli genotipler ve bunların birbiri ile kombinasyonlarını değerlendirmek için tahmini risk oranı (OR) ve %95 güven aralığı (CI) hesaplandı. Gruplar arası anlamlılığı karşılaştırmak için Ki kare (χ^2) testi kullanıldı. Genotip dağılımlarının gerçek Mendeliyen popülasyonunu yansıtip yansıtmadığını, yani Hardy – Weinberg eşitliğine uyum sağlayıp sağlamadığını kontrol etmek için gruplarda normal ve mutant allellerin sıklığı bulundu. Hardy-Weinberg dengesi hesaplamalarında χ^2 testi, diğer frekans hesaplamalarında ise Pearson χ^2 testi kullanıldı. P değerlerinin 0.05'den küçük olduğu değerler istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

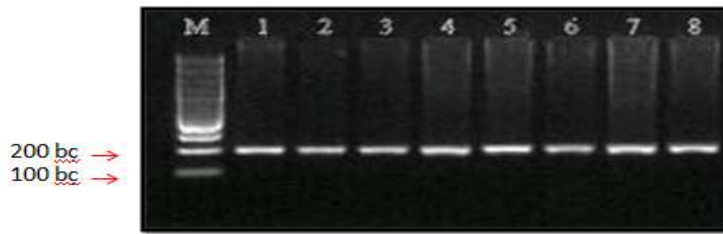


4. BULGULAR

4.1. E-Kaderin Geni Polimorfizmlerinin Taraması

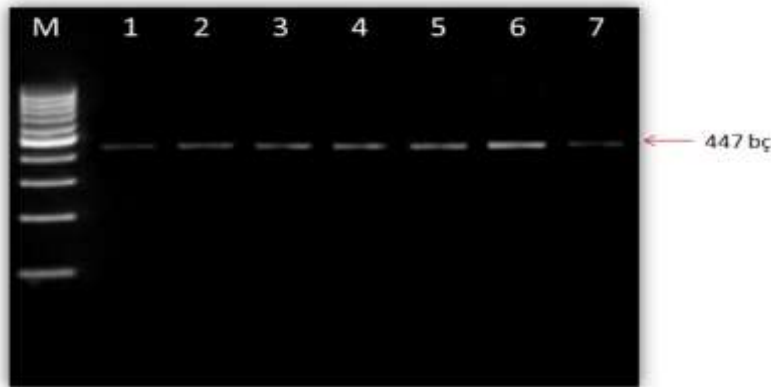
4.1.1. İlgili gen bölgelerinin çoğaltılması

E-kaderin geninde yer alan -160C/A (rs16260) polimorfizminin belirlenmesi için PCR-RFLP yöntemi kullanıldı. PCR sonrası elde edilen 190 bp'lik amplifikasyon ürünü DNA belirteci kullanılarak %1'lik agaroz jelde görüntülendi (Resim 4.1).



Resim 4.1. CDH1 geni-160 C/A bölgesinin amplifikasyon ürünlerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüsü M: 100 bp'lik moleküler ağırlık belirteci, 1-8 no'lu kuyular amplifikasyon ürünü

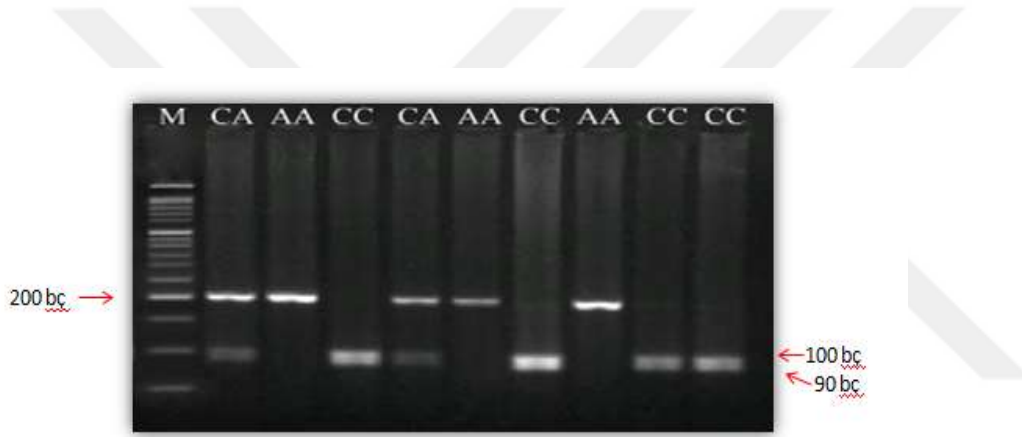
E-kaderin geninde yer alan -347 G/GA (rs5030625) polimorfizminin belirlenmesi için PCR-RFLP yöntemi kullanıldı. PCR sonrası elde edilen 447 bp'lik amplifikasyon ürünü DNA belirteci kullanılarak %1'lik agaroz jelde görüntülendi (Şekil 4.2).



Resim 4.2. CDH1 geni -347G/GA bölgesinin amplifikasyon ürünlerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüsü M: 100 bp'lik moleküler ağırlık belirteci, 1-7 no'lu kuyular amplifikasyon ürünü

4.1.2. Çoğaltılan gen bölgelerinin restriksiyonu

-160C/A (rs16260) polimorfizminin belirlenmesi için PCR rnleri HphI enzimi ile 37°C’de 1 gece inkübe edilerek, restriksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Restriksiyon işlemi sonrasında 160. nükleotid pozisyonunda sitozin (C) – adenin (A) değişimi olup olmadığı saptanmıştır. Bu gen pozisyonunda yabanił tip alel olan C aleli mevcutsa HphI için tanıma bölgesi vardır ve %3’lk agaroz jelde 100 ve 90 b’lik iki bant gözlenir. Eėer homozigot C-A baz değişimi varsa HphI tanıma bölgesi olmadığı için jelde 190 b’lik tek bant gözlenir. Heterozigot bireyler için ise jelde 190, 100 ve 90 b olarak üç bant gözlenir (şekil 4.3).



Resim 4.3. CDH1 geni rs16260 polimorfizmini içeren bölgenin DNA’dan elde edilen PCR rnlerinin HphI restriksiyon enzimi ile kesimini gösteren %3’lk agaroz jeldeki görüntüsü M: 50 b’lik moleküler ağırlık belirteci, 1-9 no’lu kuyular kesim ürünü

-347 G/GA (rs5030625) polimorfizminin belirlenmesi için PCR rnleri BanII enzimi ile 37°C’de 1 gece inkübe edilerek, restriksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. CDH1 -347 G/GA polimorfizmi için homozigot GA/GA genotipi içeren ürünler jelde 332 ve 116 b’lik iki bant görülürken, heterozigot G/GA genotipi için 332, 263,116 ve 68 b’lik dört bant ve homozigot G/G genotipi için 263,116 ve 68 b’lik üç bant görülmüştür (şekil 4.4).



Resim 4.4. CDH1 geni rs5030625 polimorfizmini içeren bölgenin DNA'dan elde edilen PCR ürünlerinin BanII restriksiyon enzimi ile kesimini gösteren %3'lük agaroz jeldeki görüntüsü M: 100 bç'lik moleküler ağırlık belirteci, 1-6 no'lu kuyular kesim ürünü

4.1.3. Verilerin istatistiksel analizi

Hasta ve kontrol grubuna ait demografik bilgilerin dağılımının araştırılması

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol gruplarındaki parametrelerin dağılımı

	Hasta (n=101)		Kontrol (n=114)		P değeri
	n	%	n	%	
Yaş (yıl) (ort ± ss)	47.4 ± 15.1		48.7 ± 14.6		0.522
Kilo (kg)(ort ± ss)	76.3 ± 13.1		78.8 ± 12.9		0.158
BMI (kg/m²)(ort ± ss)	27.6 ± 10.4		27 ± 10.5		0.172
Cinsiyet					
Erkek	57	56.4	93	81.6	0.00006
Kadın	44	43.6	21	18.4	
Yaş					
Yaş (yıl) (ort ± ss)	47.4 ± 15.1		48.7 ± 14.6		0.522
< 48	46		43		
>= 48	55		71		
Kilo					
Kilo(kg)(ort ± ss)	76.3 ± 13.1		78.8 ± 12.9		0.158
< 77.6	54		36		
>= 77.6	47		78		

Çalışmaya dahil edilen bireylerin demografik dağılımları hasta ve kontroller için Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Çalışmamıza katılan bireylerin yaşı 19- 84 arasında değişmektedir. Hastaların % 56,4'ünü, kontrolün ise % 81,6'sını erkek bireyler oluştururken; hastaların % 43,6'sını, kontrolün ise % 18,4'ünü kadın bireyler oluşturmaktadır. Hastalarda ortalama yaş dağılımı $47,4 \pm 15,1$ iken kontrolde benzer bir dağılım göstermektedir ($48,7 \pm 14,6$). Hastalarda ortalama kilo dağılımı $76,3 \pm 13,1$ iken kontrolde $78,8 \pm 12,9$ 'dir. Yaş, kilo ve vücut kitle indeksi bakımından hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($P > 0,05$).

HphI polimorfizmi ile hastalık, yaş ve kilo ilişkisinin araştırılması

Çizelge 4.2. Böbrek taşı hastaları ve kontrol grubunda yaş ve kiloya göre HphI polimorfizmi frekansları ve risk tahminleri

Genotip	Hasta	Kontrol	P değeri	OR (95 % CIs)	P değeri
HphI (rs16260)			0.124		
AA	10 (%9.9)	22 (%19.2)		1	
CA	39 (%38.6)	35 (%30.7)		2.80 (1.08 - 7.28)	0.033
CC	52 (%51.4)	57 (%50.0)		2.16 (0.87 - 5.33)	0.094
CA + CC	94 (%90)	92 (%80.7)	0.053	2.17 (0.97 - 4.85)	0.057
Alleller			0.227		
A	59 (%29.2)	79 (%34.6)		1	
C	143 (%70.7)	149 (%65.3)		1.28 (0.85 - 1.93)	0.2281
Yaş					
< 48			0.266		
AA	5 (%4.9)	10 (%8.7)		1	
CA	14 (%13.8)	13 (%11.4)		2.15 (-0.54 - 2.07)	0.252
CC	27 (%26.7)	20 (%17.5)		2.70 (-0.22 - 2.21)	0.110
>= 48			0.180		
AA	5 (%4.9)	12 (%10.5)		1	
CA	25 (%24.7)	22 (%19.2)		2.72 (-0.18 - 2.19)	0.098
CC	25 (%24.7)	37 (%32.4)		1.62 (-0.67 - 1.64)	0.414
Kilo					
< 77.6			0.56		
AA	5 (%4.9)	6 (%5.2)		1	
CA	20 (%18.8)	13 (%11.4)		1.84 (-0.76 - 1.99)	0.383
CC	29 (%22.77)	17 (%14.9)		2.04 (-0.61 - 2.04)	0.291
>= 77.6			0.21		
AA	5 (%4.9)	16 (%14.0)		1	
CA	19 (%18.8)	22 (%19.2)		2.76 (-0.16 - 2.19)	0.090
CC	23 (%22.7)	40 (%35.0)		1.84 (-0.51 - 1.73)	0.289

PCR-RFLP yöntemi ile hasta ve kontrol gruplarının genotip dağılımları analiz edilmiş ve genotip ve alel frekansları karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte hastalık oluşumu ile yaş ve kilo ilişkisi incelenmiştir (Çizelge 4.2). CC, CA ve AA genotiplerinin sıklığı hastalar için sırasıyla %51,4; %38,6; %9,9 iken kontroller için sırasıyla %50, %30,7; %19,2 olarak bulunmuştur ($P = 0.124$). Genotip dağılımı göz önüne alındığında hasta grubu Hardy-Weinberg dengesi ile uyumludur ($p=0.47$). Lojistik regresyon modeli sonuçlarına göre CA genotipi AA genotipi ile karşılaştırıldığında böbrek taşı oluşumu riskini arttırmaktadır ($OR = 2,80$, $95\%CI = 1,08-7,28$). AA genotipi ise böbrek taşı oluşumu riskini azaltmaktadır. Ancak AA genotipinin bu koruyucu etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HphI polimorfizmi için genotip ve alel dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Ayrıca, HphI polimorfizminin böbrek taşı oluşma riski üzerindeki etkisi yaş ve kilo bakımından da değerlendirilmiştir. HphI polimorfizmi için yaş ve kilo bakımından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

BanII polimorfizmi ile hastalık, yaş ve kilo ilişkisinin araştırılması

Çizelge 4.3’de BanII polimorfizmi için genotip, alel dağılımı, yaş ve kilo parametreleri bakımından değerlendirilmiştir. GA/GA, G/GA ve G/G genotiplerinin dağılımı hasta grubunda sırasıyla %7,92; %24,7; %67,3 ve kontrol grubunda sırasıyla %4,38; %23,6; %71,9 olarak benzer bir dağılım göstermiştir. Genotip, alel dağılımı, yaş ve kilo parametreleri bakımından hasta ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Hasta bireylerde HphI ve BanII polimorfizmlerinin yaş ve kiloya göre tahmini risk oranının (OR) araştırılması

Hasta bireylerde tahmini risk oranı (OR) HphI polimorfizmi için hesaplandığında, CA genotipinin istatistiksel olarak yaşla ilişkili olduğu tespit edilmesine rağmen ($OR=2.63$, $95\%CI: 1.08-6.41$, $P=0.032$) klinik olarak anlamlı değildir. Ayrıca, BanII polimorfizmi ile böbrek taşı oluşumu arasında yaş ve kilo parametreleri bakımından ilişki olmadığı söylenebilir ($P> 0.05$) (Çizelge. 4.4).

Çizelge 4.3 Böbrek taşı hastaları ve kontrol grubunda yaş ve kiloya göre BanII polimorfizmi frekansları ve risk tahminleri

Genotip	Hasta	Kontrol	P değeri	OR	P değeri
BanII (rs5030625)			0.523		
GA/GA	8 (%7.92)	5 (%4.38)		1	
G/GA	25 (%24.7)	27 (%23.6)		0.53 (0.14 - 2.05)	0.359
G/G	68 (%67.3)	82 (%71.9)		0.45 (0.13 - 1.60)	0.220
G/G + G/GA	93 (%92)	109 (%95.5)	0.278	0.53 (0.17 - 0.69)	0.284
Alleller			0.333		
GA	41 (%20.2)	37 (%16.2)		1	
G	161 (%79.7)	191 (%83.7)		0.76 (0.46 - 1.24)	0.275
Yaş					
< 48			0.662		
GA/GA	4 (%3.9)	3 (%2.6)		1	
G/GA	13 (%12.8)	16 (%14.0)		0.61 (0.12 - 3.22)	0.560
G/G	29 (%28.7)	24 (%21.0)		0.91 (0.18 - 4.45)	0.904
>= 48			0.180		
GA/GA	4 (%3.9)	2 (%1.75)		1	
G/GA	12 (%11.8)	11 (%9.6)		0.55 (0.08 - 3.59)	0.528
G/G	39 (%38.6)	58 (%50.8)		0.34 (0.06 - 1.93)	0.221
Kilo					
< 77.6			0.221		
GA/GA	0 (%0)	2 (%1.7)		1	
G/GA	14 (%13.8)	10 (%8.7)		1.40 (0.17 - 11.68)	0.756
G/G	38 (%37.6)	24 (%21.0)		1.58 (0.21 - 12.00)	0.657
>= 77.6			0.154		
GA/GA	6 (%5.9)	3 (%2.6)		1	
G/GA	11 (%10.8)	17 (%14.9)		0.32 (0.07 - 1.57)	0.162
G/G	30 (%29.7)	58 (%50.8)		0.26 (0.06 - 1.11)	0.068

Çizelge. 4.4. Hasta bireylerde HphI ve BanII polimorfizmlerinin yaş, boy ve kiloya göre tahmini risk oranı (OR)

	OR (yaş) (%95 CIs)	p (yaş)	OR (boy) (%95 CIs)	p (boy)	OR (kilo) (%95 CIs)	p (kilo)
HphI (rs16260)						
AA	1		1		1	
CA	2.63 (1.08 - 6.41)	0.032	2.45 (0.98 - 6.10)	0.054	2.32 (0.95 - 5.69)	0.064
CC	2.09 (0.90 - 4.88)	0.085	2.07 (0.86 - 4.96)	0.100	1.92 (0.81 - 4.52)	0.132
BanII (rs5030625)						
GA/GA	1		1		1	
G/GA	0.55 (0.15 - 1.95)	0.362	0.65 (0.17 - 2.41)	0.526	0.48 (0.13 - 1.74)	0.268
G/G	0.55 (0.17 - 1.80)	0.328	0.44 (0.13 - 1.51)	0.197	0.45 (0.13 - 1.49)	0.193

Böbrek taşı hastalığı ile CDH1 -160/-347 haplotipleri arasındaki ilişkinin araştırılması

Haplotip-temelli ilişkilendirme testi yapılarak, HphI-BanII polimorfizlerinin birlikte görülmeleriyle hastalık ilişkisi araştırılmıştır. CDH1 geni promotor bölge için polimorfizmleri araştırılan iki SNP (rs16260 ve rs5030625) birlikte ele alındığında tespit edilen haplotip sıklıkları ve tahmini riskleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Çalışmamızda CDH1 geni promotor bölge -160 C/A ve -347 G/GA polimorfik bölgelerinin haplotiplerinin hasta ve kontrol grubuna göre dağılımlarını yaptığımızda, hasta grubunda en sık CG haplotipi (%56.43), ikinci sıklıkta AG haplotipi (%23.36), kontrol grubunda ise en sık CG haplotipi (%53.49) ve ikinci sıklıkta ise AG haplotipi (%29.82) tespit edilmiştir. İki SNP arasındaki LD (D') değeri ise %1'dir. Her iki polimorfik alleli aynı anda taşıyan bireylerin hastalık riskini belirlemek amacıyla yapılan haplotip analizinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenememiştir.

Çizelge. 4.5. Böbrek taşı hastalığı ile CDH1 -160/-347 haplotipleri arasındaki ilişki

Haplotipler	Hasta (%)	Kontrol (%)	OR (%95 CIs)	p-değeri
	2n=202	2n=228		
A GA	12 (5.94)	11 (4.82)	1	
A G	47 (23.26)	68 (29.82)	0.63 (0.25 - 1.55)	0.320
C GA	29 (14.35)	26 (11.4)	1.02 (0.38 - 2.70)	0.964
C G	114 (56.43)	123(53.94)	0.84 (0.36 - 2.00)	0.709



5. TARTIŞMA

Taş gelişiminin sabit parçacık modeli hipotezine göre, kristal çekirdeklerinin oluşumu başlangıçta nefron lümeninde meydana gelir. Daha sonra kristal çekirdeklerinin tübüler epitelin apikal yüzeyine tutunması gerekir. Böylece bu pozisyonda sabit kalabilir ve büyümeye başlar. Kristal-hücre bağlanma basamağı için renal hücre hasarı önemli rol oynar [135]. Yüksek seviyelerde okzalat ve kalsiyum okzalat kristallerine maruz bırakılan hayvan modelleri ve hücre kültürü çalışmalarında bu kristallerin böbrek epitel hücrelerine zarar verdiği gösterilmiştir [39,136].

Hiperkalsiüri böbrek taşı için başlıca risk faktörlerinden biridir. Böbrek taşı olan hastaların çoğunda kalsiyum içeren taşlar vardır. Bu nedenle, böbreklere kalsiyum dağıtımını etkileyen fizyolojik süreçler taş oluşumunu etkileyebilir. CDH1, renal tübül hücrelerinde eksprese olan bir epitel hücre birleşim proteini olup, epitel gelişiminin devamlılığında ve hücre bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynamaktadır [8].

Polimorfizm, popülasyonun en az %1'inde belli bir gen bölgesi dizisinin bireyler arasında farklılık göstermesidir. Genlerin intronik bölgelerinde yer alan polimorfizmler protein ürününe yansımazken, düzenleyici bölgelerdeki değişimler gen ifadesinde değişimlere yol açabilir ve dolayısıyla protein düzeylerini etkileyebilirler. Ekzonik bölgelerdeki değişimler ise amino asit değişimine sebep oldukları sürece protein yapısını değiştirirler. Bu değişimler genellikle restriksiyon endonükleaz enzimlerinin DNA'daki kesim dizilerini değiştirirler. Bazı polimorfizmler mevcut kesim dizisinde değişime yol açarak kesim bölgelerini yok edebilir ya da yeni enzim kesim bölgeleri oluşturabilirler. Dolayısıyla, aynı gen bölgesinde polimorfik bazlar taşıyan bireylerin DNA'ları restriksiyon enzimleri ile kesildiğinde farklı uzunlukta fragmentler oluşturabilirler. Bu sayede, DNA'nın restriksiyon enzimlerine tabi tutulmasıyla bireyler arasındaki nükleotid farkları ortaya çıkarılabilir ve çeşitli hastalıklarla olan ilişkileri araştırılabilir [148].

Böbrek taşı hastalığının gelişmesinde tek nükleotid polimorfizmlerinin katkılarını araştıran bazı çalışmalar vardır. Bu çalışmalarda, CHD1 [123], heparan sülfat proteoglikan (HSPG2) [137], fibronektin (FN1) [138], D vitamini reseptörü (VDR) [119,139], vasküler endotelial büyüme faktörü (kodlayan VEGF) [125], androjen ve östrojen reseptörleri [124]

ve kalsitonin reseptöründe [118] meydana gelen polimorfizmlerin taş oluşumu için bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir.

Li ve diğerleri (2000), -160C/A meydana gelen polimorfizmin promotor bölgede transkripsiyonel etkinlik üzerine önemli derecede etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Özellikle A alel varyantının transkripsiyonel aktiviteyi % 68 oranında azalttığını ve bu polimorfizmin böbrek taşı için yeni bir genetik belirteç olabileceğini belirtmişlerdir [9].

E-kaderin geni -160C/A ve -347G /GA polimorfizmleri birçok neoplastik hastalık ve kansere yatkınlık ile ilişkili bulunmuştur. E-kaderin geni -160C/A polimorfizmi üzerine son yıllarda yapılan çalışmalar bu bölgede meydana gelen tek nükleotit polimorfizmlerinin özellikle mide hastalıkları, prostat ve mesane kanseri gibi hastalıkların riskini değiştirebileceğini ortaya koymuştur [143-146]. Belli tümör türleri ve etnik gruplarda, A alelinin hastalık riski üzerine çelişkili sonuçları vardır. Muhtemelen -160C/A polimorfizminin içinde bulunduğu haplotip içerisinde yakın başka bir SNP diğerinin etkisini maskeliyor olabilir. Bu bakımdan, E-kaderin promotöründe yer alan diğer bir SNP olan -347G/GA, bu promotör bölgenin transkripsiyon aktivitesini ve hastalık riskini değiştirebilir [140-142].

Son zamanlarda CDH1 polimorfizmleri böbrek taşı hastalığında incelenmeye başlanmıştır [19,123,147]. Bu çalışmalardan biri Tan ve diğerleri (2013) tarafından yapılmıştır. 152 sağlıklı birey ve 127 böbrek taşı oluşumu gözlenen Çinli hasta ile yaptıkları çalışmada, taş oluşumu ile -160C/A (rs16260) polimorfizmi arasında ilişki olduğu bildirilmiştir ($p<0.05$). İncelenen bireylerde CA/AA genotiplerine sahip olanların CC genotipine sahip olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde böbrek taşı hastalığına yatkınlık riskinin azalması arasında bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

E-kaderin geni -160 C/A veya -347G/GA polimorfizmlerinin böbrek taşı hastalığına yatkınlıktaki rolleri Türk popülasyonunda bilinmemektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında CDH1 genindeki -160 C/A ve -347G/GA polimorfizmlerinin kalsiyum okzalat böbrek taşı oluşumuyla bağlantısı incelenmiştir. Bu amaçla 101 kalsiyum okzalat böbrek taşı hastası ile 114 sağlıklı bireyin genotipleri belirlenerek karşılaştırılmıştır. Hem hasta, hem de kontrol grubunda tüm genotipler (CC, CA, AA) gözlenmiştir. Tan ve diğerleri (2013) tarafından yapılan çalışmada AA genotipinin hasta bireylerdeki oranı %

4,7 iken, kontrol grubunda bu oran % 9,9 olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise AA genotipinin dağılımı hasta bireylerde % 9,9; kontrol grubunda ise % 19,2'dir. Çalışmamızdan elde edilen bulgular AA genotipi bakımından Tan ve diğerleri (2013) tarafından yapılan çalışmayla paralellik göstermektedir. Ancak AA genotipinin bu koruyucu etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca sonuçlarımıza göre CA genotipi AA genotipi ile karşılaştırıldığında böbrek taşı oluşumu riskini arttırmaktadır (OR = 2,80; 95%CI = 1,08-7,28).





6. SONUÇ

Sonuç olarak, E-kaderin geni (CDH1) -160C/A ve -347 G/GA polimorfizminin böbrek taşı hastalığına yatkınlık ile ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmada CDH1 -160C/A gen polimorfizmi sonuçlarına bakıldığında, CA genotipi frekansı böbrek taşı hastalarında (%38,6) kontrol grubuna kıyasla (%30,7) daha yüksek bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (OR: 2,80 ;%95CI: 1,08 – 7,28) (p=0,033). CDH1 -347G/GA gen polimorfizmi sonuçlarına bakıldığında ise hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında bu polimorfizm açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. CDH1 geni -160 C/A polimorfizmi ile kalsiyum oksalat böbrek taşı oluşumu arasındaki ilişkinin desteklenmesi için geniş olgu sayılı çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışma grubunun genişletilmesinin, CA genotipini taşıyan böbrek taşı hastalarında taş oluşumu açısından risk oluşturup oluşturmadığı ve AA genotipinin taş oluşumunda koruyucu bir etkiye sahip olup olmadığının anlaşılabilmesi açısından çalışmayı anlamlı kılabilceği düşünülmektedir.

CDH1 geni -160 C/A polimorfizmi ile kalsiyum oksalat böbrek taşı ilişkisinin incelenmesi literatürde sadece bir araştırma ile sınırlı kalmış ve Türk kalsiyum oksalat böbrek taşı hastalarında hiç incelenmemiştir. CDH1 geni -347 G/GA polimorfizmi ise bizim bildiğimiz kadarıyla böbrek taşı hastalarında hiç incelenmemiştir. Bu nedenle, bu verilerin hastalığın etiolojisini anlamaya ve literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

1. Amato, M., Lusini, M. L. and Nelli, F. (2004). Epidemiology of nephrolithiasis today. *Urologia Internationalis*, 72(1), 1-5.
2. Ramello, A., Vitale, C. and Marangella, M. (2000). Epidemiology of nephrolithiasis. *Journal of Nephrology*, 13(3), 45-50.
3. Serio, A. and Fraioli, A. (1999). Epidemiology of nephrolithiasis. *Nephron*, 81(1), 26-30.
4. Katsuma, S., Shiojima, S., Hirasawa, A., Takagaki, K., Kaminishi, Y., Koba, M., Hagida, Y., Murai, M., Oghi, T., Yano, J. and Tsujimoto, G. (2002). Global analysis of differentially expressed genes during progression of calcium oxalate nephrolithiasis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 296, 544-552.
5. Menon, M., Parulkar, B.C. and Drach, G.W. (1998). Urinary lithiasis: etiology, diagnosis and medical management. *Campbell's Urology* (7th edition). Philadelphia: Saunders, 661-733.
6. Mittal, R., Bid, H., Manchanda, P. and Kapoor, R. (2008). Predisposition of genetic polymorphism with the risk of urolithiasis. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 23(2), 106-116.
7. Jang, J. H., Yang, E. S., Min, K. J. and Kwon, T. K. (2012). Inhibitory effect of butein on tumor necrosis factor-alpha-induced expression of cell adhesion molecules in human lung epithelial cells via inhibition of reactive oxygen species generation, NF-kappaB activation and Akt phosphorylation. *International Journal of Molecular Medicine*, 30, 1357-1364.
8. Ojakian, G. K., Ratcliffe, D. R. and Schwimmer, R. (2001). Integrin regulation of cell-cell adhesion during epithelial tubule formation. *Journal of Cell Science*, 114(5), 941-952.
9. Li, L. C., Chui, R. M., Sasaki, M., Nakajima, K. and Perinchery, G. (2000). A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter alters transcriptional activities. *Cancer Research*, 60, 873-876.
10. Nakamura, A., Shimazaki, T., Kaneko, K., Shibata, M. and Matsumura, T. (2002). Characterization of DNA polymorphisms in the E-cadherin gene (CDH1) promoter region. *Mutation Research*, 502, 19-24.
11. Eknayan, G. (2004). History of urolithiasis. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism*, 2(3), 177-185.
12. L'opez, M. and Hoppe, B. (2010). History, epidemiology and regional diversities of urolithiasis. *Pediatric Nephrology*, 25(1), 49-59.

13. Wilkinson, H. (2001). Clinical investigation and management of patients with renal Stones. *Annals of Clinical Biochemistry*, 38(3), 180–187.
14. Bihl, G. and Meyers, A. (2001). Recurrent renal stone disease advances in pathogenesis and clinical management. *The Lancet*, 358(9282), 651–656.
15. Reynolds, T.M. (2005). Chemical pathology clinical investigation and management of nephrolithiasis. *Journal of Clinical Pathology*, 58(2), 134–140.
16. Aggarwal, S., Tandon, C. D., Forouzandeh, M., Singla, S. K., Kiran, R. and Jethi, R. K. (2000). Role of biomolecules from human renal stone matrix on COM crystal growth. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 210(1-2), 109–119.
17. Gill, W. B., Jones, K. W. and Ruggiero, K. J. (1982). Protective effects of heparin and other sulfated glycosaminoglycans on crystal adhesion to injured urothelium. *The Journal of Urology*, 127(1), 152–154.
18. Bigelow, M. W., Wiessner, J. H., Kleinman, J. G and Mandel, N. S. (1996). Calcium oxalate-crystal membrane interactions: dependence on membrane lipid composition. *The Journal of Urology*, 155(3), 1094–1098.
19. Tan, M., Xia, S., Zhang, Q., Zhu, J. and Bao, E. (2013). The -160C>A Polymorphism in e-Cadherin Is Associated with the Risk of Nephrolithiasis. *PLoS ONE*, 8(9), e73109.
20. Carvahlo, M. and Nakagawa, Y. (1999). Urinary supersaturation and recurrence in nephrolithiasis. *International Brazilian Journal of Urology*, 25, 475–479.
21. Tiselius, H. G. (2005). Aetiological factors in stone formation. *Oxford University Press* (3rd edition). New York: Oxford, 1199-1223.
22. Robertson, W. G., Peacock, M., and Nordin, B. E. C. (1968). Activity products in stone-forming and non-stone-forming urine. *Clinical Science*, 34(3), 579–594.
23. Kok, D. J. and Papapoulos, S. E. (1993). Physicochemical considerations in the development and prevention of calcium oxalate urolithiasis. *Bone and Mineral*, 20(1), 1–15.
24. Boskey, A. L. (1981). Current concepts of the physiology and biochemistry of calcification. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 157, 25–257.
25. Smith, L. H. (1990). Solutions and solute. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 19(4), 767–772.
26. Buki, A., Okonkwo, D. O., Wang, K. K. W. and Povlishock, J. T. (2000). Cytochrome C release and caspase activation in traumatic axonal injury. *Journal of Neuroscience*, 20(8), 2825–2834.

27. Qiu, S. R., Wierzbicki, A. and Orme, C. A. (2004). Molecular modulation of calcium oxalate crystallization by osteopontin and citrate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 1811–1815.
28. Kok, D. J. (1996). Crystallization and stone formation inside the nephron. *Scanning Microscopy*, 10, 471–484.
29. Kok, D. J. and Khan, S. R. (1994). Calcium oxalate nephrolithiasis, a free or fixed particle disease. *Kidney International*, 46(3), 847–854.
30. Coe, F. L. and Parks, J. H. (2002). Does a failure of crystal inhibition cause calcium renal stones?. *Nephron*, 90, 361–364.
31. Khan, S. R., Byer, K. J. and Thamilselvan, S. (1999). Crystal-cell interaction and apoptosis in oxalate-associated injury of renal epithelial cells. *Journal of the American Society of Nephrology*, 10, 457–63.
32. Lieske, J. C., Leonard, R. and Toback, G. F. (1995). Adhesion of calcium oxalate monohydrate crystals to renal epithelial cells is inhibited by specific anions. *American Journal of Physiology*, 268(4), 604–612.
33. Lieske, J. C., Deganello, S. and Toback, G. F. (1999). Cell-crystal interactions and kidney stone formation. *Nephron*, 81(1), 8–17.
34. Lieske, J. C., Spargo, B. H. and Toback, F. G. (1992). Endocytosis of calcium oxalate crystals and proliferation of renal tubular epithelial cells in a patient with type 1 primary hyperoxaluria. *The Journal of Urology*, 148(5), 1517–1519.
35. Lieske, J. C., Swift, H., Martin, T., Patterson, B. and Toback, F. G. (1994). Renal epithelial cells rapidly bind and internalize calcium oxalate monohydrate crystals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(15), 6987–6991.
36. Hess, B. (1992). Tamm-Horsfall glycoprotein-inhibitor or promoter of calcium oxalate monohydrate crystallization processes?. *Urological Research*, 20(1), 83–86.
37. Kumar, S. and Muchmore, A. (1990). Tamm-Horsfall protein/uromodulin (1950–1990). *Kidney International*, 37(6), 1395–1401.
38. Lieske, J. C. and Toback, F. G. (1993). Regulation of renal epithelial cell endocytosis of calcium oxalate monohydrate crystals. *American Journal of Physiology*, 264(5), 800–807.
39. Khan, S. R. (1995). Calcium oxalate crystal interaction with renal tubular epithelium, mechanism of crystal adhesion and its impact on stone development. *Urological Research*, 23(2), 71–79.
40. Wiessner, J. H., Hasegawa, A. T., Hung, L. Y. and Mandel, N. S. (1999). Oxalate-induced exposure of phosphatidylserine on the surface of renal epithelial cells in culture. *Journal of the American Society of Nephrology*, 10(14), 441–445.

41. Khan, S. R. and Hackett, R. L. (1993). Hyperoxaluria, enzymuria and nephrolithiasis. *Contributions to Nephrology*, 101, 190–193.
42. Khan, S. R., Finlayson, B. and Hackett, R. L. (1979). Histologic study of the early events in oxalate induced intranephronic calculosis. *Investigative Urology*, 17(3), 199–203.
43. Khan, S. R., Finlayson, B. and Hackett, R. L. (1982). Experimental calciumoxalate nephrolithiasis in the rat. *The American Journal of Pathology*, 107(1), 59–69.
44. Coe, F. L., Nakagawa, Y., Asplin, J. and Parks, J. H. (1994). Role of nephrocalcin in inhibition of calcium oxalate crystallization and nephrolithiasis. *Mineral and Electrolyte Metabolism*, 20, 378–84.
45. Wesson, J. A., Johnson, R. J., Mazzali, M., Beshensky, A. M., Stietz, S., Giachelli, C. and Hughes, J. (2003). Osteopontin is a critical inhibitor of calcium oxalate crystal formation and retention in renal tubules. *Journal of the american society of nephrology*, 14(1), 139-147.
46. Worcester, E. M. and Coe, F. L. (2010). Calcium kidney stones. *New England Journal of Medicine*, 363(10), 954-963.
47. Paliouras, C., Trampikaki, E., Alirasis, P. and Aperis, G. (2012). Pathophysiology of nephrolithiasis. *Nephrology Reviews*, 4(4), 14.
48. Hodgkinson, A. and Pyrah, L. N. (1958). The urinary excretion of calcium and inorganic phosphate in 344 patients with calcium stone of renal origin. *British Journal of Surgery*, 46(195), 10–8.
49. Laminski, N. A., Meyers, A. M. and Kruger, M. (1991). Hyperoxaluria in patients with recurrent calcium oxalate calculi: dietary and other risk factors. *British Journal of Urology*, 68, 454-458.
50. Pak, C. Y., Adams-Huet, B. and Poindexter, J. R. (2004). Rapid Communication: relative effect of urinary calcium and oxalate on saturation of calcium oxalate. *Kidney International*, 66, 2032-2037.
51. Müslümanoğlu, A., Esen, T. ve Tefekli, A. (2007). *Üriner Sistem Taş Hastalığı*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
52. Yapanoğlu, T. ve Okyar, G. (2009). Kalsiyum Oksalat Taş Hastalığı. Türkiye Klinikleri. *Journal of Urology Special Topics*, 2(3), 20-25.
53. Grover, P. K., Marshall, V. R. and Ryall, R. L. (2003). Dissolved urate salts out calcium oxalate in undiluted human urine in vitro: implications for calcium oxalate stone genesis. *Chemistry & Biology*, 10, 271-8.
54. Zuckerman, J. M. and Assimos, D. G. (2009). Hypocitraturia: pathophysiology and medical management. *Reviews in Urology*, 11, 134-144.

55. Nicar, M. J., Hill, K. and Pak, C.Y. (1987). Inhibition by citrate of spontaneous precipitation of calcium oxalate in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2, 215-220.
56. Sheng, X., Jung, T., Wesson, J. A. and Ward, M. D. (2005). Adhesion at calcium oxalate crystal surfaces and the effect of urinary constituents. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 267-272.
57. Ryall, R. L. (1993). The scientific basis of calcium oxalate urolithiasis. *World journal of urology*, 11(1), 59-65.
58. Moe, O. W. (2006). Kidney stones: pathophysiology and medical management. *Lancet*, 367, 333-44.
59. Sakhaee, K. (2009). Recent advances in the pathophysiology of nephrolithiasis. *Kidney International*, 75, 585-595.
60. Kramer, H. J., Choi, H. K. and Atkinson, K. (2003). The association between gout and nephrolithiasis in men: the health professionals' follow-up study. *Kidney International*, 64, 1022-1026.
61. Chillarón, J., Roca, R., Valencia, A., Zorzano, A. and Palacín, M. (2001). Heteromeric amino acid transporters: biochemistry, genetics, and physiology. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 281(6), 995-1018.
62. Knoll, T., Zollner, A. and Wendt-Nordahl, G. (2005). Cystinuria in childhood and adolescence: recommendations for diagnosis, treatment, and follow-up. *Pediatric Nephrology*, 20, 19-24.
63. Robertson, W. G. and Hughes, H. (1994). Epidemiology of urinary stone disease in Saudi Arabia. In: Ryall R, Bais R, Marshall VR, Rofo AM, Smith LH, Walker VR (eds), *Urolithiasis* (2. Plenum Press). New York London, pp. 453-455.
64. Trinchieri, A. (1996). Epidemiology of urolithiasis. *Archivio italiano di urologia, andrologia*, 68(4), 203.
65. Akinci, M., Esen, T. ve Tellaloğlu, S. (1990). Urinary stone disease in Turkey: an updated epidemiological study. *European urology*, 20(3), 200-203.
66. Abbagani, S., Gundimeda, S. D., Varre, S., Ponnala, D. and Mundluru, H. P. (2010). Kidney stone disease: etiology and evaluation. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 1(1), 175-182.
67. Adayener, C., İşeri, C., Şenkul, T., Kardemir, K., Baykal, K. ve Erden, D. (2002) Tekrarlayan Taş Hastalığı: Epidemiyolojik Bir Araştırma. *Türk Üroloji Dergisi*, 28 (4): 428-436
68. Demirel, A., Adanur, Ş. (2009). Üriner Sistem Taş Hastalığı Epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri. *Journal of Urology Special Topics*, 2(3), 1-5.

69. Johnson, C. M., Wilson, D. M. and O'Fallon, W. M. (1979). Renal stone epidemiology: A 25 year study in Rochester, Minnesota. *Kidney International*, 16, 624–31.
70. Hiatt, R. A., Dales, L. G., Friedman, G. D. and Hunkeler, E. M. (1982). Frequency of urolithiasis in a prepaid medical care program. *American Journal of Epidemiology*, 115, 255–265.
71. Soucie, J. M., Thun, M. J. and Coates, R. J. (1994). Demographic and geographic variability of kidney stones in the United States. *Kidney International*, 46, 893–899.
72. Curhan, G. C., Willett, W. C. and Speizer, F. E. (1997). Comparison of dietary calcium with supplemental calcium and other nutrients as factors affecting the risk for kidney stones in women. *Annals of Internal Medicine*, 126, 497.
73. Madore, F., Stampfer, M. J., Willett, W. C., Speizer, F. E. and Curhan, G. C. (1998). Nephrolithiasis and risk of hypertension in women. *American journal of kidney diseases*, 32(5), 802-807.
74. Sowers, M. R., Jannausch, M., Wood, C., Pope, S. K., Lachance, L. L. and Peterson, B. (1998). Prevalence of renal stones in a population-based study with dietary calcium, oxalate, and medication exposures. *American Journal of Epidemiology*, 147(10), 914-920.
75. Stamatelou, K. K., Francis, M. E. and Jones, C. A. (2003). Time trends in the reported prevalence of kidney stones in the United States:1976–1994. *Kidney International*, 63, 1817–1823.
76. Baker, P. W., Coyle, P., Bais, R. and Rofo, A. M. (1993). Influence of season, age, and sex on renal stone formation in South Australia. *The Medical journal of Australia*, 159(6), 390-392.
77. Yagisawa, T., Chandhoke, P. S. and Fan, J. (1998). Metabolic risk factors in patients with first-time and recurrent stone formations as determined by comprehensive metabolic evaluation. *Urology*, 52(5), 750-755.
78. Robertson, W.J. and Peacock, M. (1981). Epidemiological factors in the genesis of calcium-containing urinary stones. *Metabolic, physico-chemical, therapeutical aspects of urolithiasis*. Wichtig Editore, Milan, pp 5–20.
79. Curhan, G. C. (2007). Epidemiology of stone disease. *Urologic Clinics of North America*, 34(3), 287-293.
80. Goldfarb, D. S., Fischer, M. E., Keich, Y. and Goldberg, J. (2005). A twin study of genetic and dietary influences on nephrolithiasis: a report from the Vietnam Era Twin (VET) Registry. *Kidney international*, 67(3), 1053-1061.
81. Tefekli, A., Tok A., Altunrende, F., Barut, M., Berberoğlu, Y. ve Müslümnoğlu, A., (2005) Üriner sistem taş hastalarında yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıkları. *Türk Üroloji Dergisi*: 31(1),113-118.

82. Goodman, H. O., Brommage, R., Assimos, D. G. and Holmes, R. P. (1997). Genes in idiopathic calcium oxalate stone disease. *World journal of urology*, 15(3), 186-194.
83. Danpure, C. J. (2000). Genetic disorders and urolithiasis. *Urologic Clinics of North America*, 27(2), 287-299.
84. Coe, F. L., Parks, J. H. and Asplin, J. R. (1992). The pathogenesis and treatment of kidney stones. *New England Journal of Medicine*, 327(16), 1141-1152.
85. Kwok, P. Y. and Gu, Z. (1999). Single nucleotide polymorphism libraries: why and how are we building them?. *Molecular medicine today*, 5(12), 538-543.
86. Bartoletti, R., Cai, T., Mondaini, N., Melone, F., Travaglini, F., Carini, M., Rizzo, M. (2007). Epidemiology and risk factors in urolithiasis. *Urologia internationalis*, 79(1), 3-7.
87. Chauhan, V., Eskin, B., Allegra, J.R. and Cochrane, D.G. (2004). Effect of season, age, and gender on renal colic incidence. *American Journal of Emergency Medicine*, 22, 560-563.
88. Chen, Y.K., Lin, H.C., Chen, C.S. and Yeh, S.D. (2008). Seasonal variations in urinary calculi attacks and their association. with climate: a population based study. *Journal of Urology*, 179, 564-569.
89. Basiri, A., Moghaddam, S.M., Khoddam, R., Nejad, S.T. and Hakimi, A. (2004). Monthly variations of urinary stone colic in Iran and its relationship to the fasting month of Ramadan. *Journal of the Pakistan Medical Association*, 54, 6-8.
90. Fletcher, B. A., Lin, S., Fitzgerald, E. F. and Hwang, S. A. (2012). Association of summer temperatures with hospital admissions for renal diseases in New York State: a case-crossover study. *American journal of epidemiology*, 175, 907-916.
91. Soucie, J. M., Coates, R. J., McClellan, W., Austin, H. and Thun, M. (1996). Relation between geographic variability in kidney stones prevalence and risk factors for stones. *American Journal of Epidemiology*, 143(5), 487-495.
92. Sutor, D. and Wooley, S. E. (1974). Composition of Urinary Calculi by X-ray Diffraction. Collected Data from Various Localities. Parts XV-XVII. *British journal of urology*, 46(2), 229-232.
93. Hesse, A., Tiselius, H. G. and Jahn, A. (2002). *Urinary Stones—Diagnosis, Treatment, and Prevention of Recurrence*. (2nd edition), Karger, Basel, pp.228.
94. Curhan, G. C., Willett, W. C., Speizer, F. E. and Stampfer, M. J. (1998). Beverage use and risk for kidney stones in women. *Annals of Internal Medicine*, 128(7), 534-540.
95. Borghi, L., Meschi, T., Amato, F., Briganti, A., Novarini, A. and Giannini, A. (1996). Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: a 5-year randomized prospective study. *The Journal of urology*, 155(3), 839-843.

96. Wabner, C. L. and Pak, C. Y. (1993). Effect of orange juice consumption on urinary stone risk factors. *The Journal of urology*, 149(6), 1405-1408.
97. Curhan, G. C. (1996). Dietary calcium, dietary protein, and kidney stone formation. *Mineral and electrolyte metabolism*, 23(3-6), 261-264.
98. Reddy, S. T., Wang, C. Y., Sakhaee, K., Brinkley, L. and Pak, C. Y. (2002). Effect of low-carbohydrate high-protein diets on acid-base balance, stone-forming propensity, and calcium metabolism. *American Journal of Kidney Diseases*, 40(2), 265-274.
99. Ince, B. A., Anderson, E. J. and Neer, R. M. (2004). Lowering dietary protein to US Recommended dietary allowance levels reduces urinary calcium excretion and bone resorption in young women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(8), 3801-3807.
100. Robertson, W. G., Peacock, M. and Marshall, D. H. (1982). Prevalence of urinary stone disease in vegetarians. *European Urology*, 8, 334-339.
101. Curhan, G. C., Willett, W. C., Rimm, E. B. and Stampfer, M. J. (1993). A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. *New England Journal of Medicine*, 328(12), 833-838.
102. Borghi, L., Meschi, T., Maggiore, U. and Prati, B. (2006). Dietary therapy in idiopathic nephrolithiasis. *Nutrition reviews*, 64(7), 301-312.
103. Cirillo, M., Ciacchi, C., Laurenzi, M., Mellone, M., Mazzacca, G., De Santo and N. G. (1996). Salt intake, urinary sodium, and hypercalciuria. *Mineral and electrolyte metabolism*, 23(3-6), 265-268.
104. Brenna, I., Dogliotti, E., Terranegra, A., Raspini, B. and Soldati, L. (2013). Nephrolithiasis: nutrition as cause or therapeutic tool. *Journal of translational medicine*, 11(1), 1-2.
105. Daudon, M., Jungers, P. and Traxer, O. (2012). *Lithiase urinaire* (2d edition). Médecine-Sciences, Lavoisier, Paris, 672.
106. Siener, R., Glatz, S., Nicolay, C. and Hesse, A. (2004). The role of overweight and obesity in calcium oxalate stone formation. *Obesity research*, 12(1), 106-113.
107. Borghi, L., Meschi, T., Guerra, A., Briganti, A., Schianchi, T., Allegri, F. and Novarini, A. (1999). Essential arterial hypertension and stone disease. *Kidney international*, 55(6), 2397-2406.
108. Cappuccio, F. P., Siani, A., Barba, G., Mellone, M. C., Russo, L., Farinaro, E. and Strazzullo, P. (1999). A prospective study of hypertension and the incidence of kidney stones in men. *Journal of hypertension*, 17(7), 1017-1022.
109. Collins, F. S., Guyer, M. S. and Chakravarti, A. (1997). Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. *Science*, 278(5343), 1580-1581.

110. Wang, D.G., Fan, J. B. and Siao, C. J. (1998). Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*, 280(5366), 1077–1082.
111. Li, G., Pan, T., Guo, D. and Li, L. C. (2014). Regulatory Variants and Disease: The E-Cadherin–160C/A SNP as an Example. *Molecular biology international*, 2014, 9.
112. Schaub, M. A., Boyle, A. P., Kundaje, A., Batzoglou, S. and Snyder, M. (2012). Linking disease associations with regulatory information in the human genome. *Genome Research*, 22(9), 1748–1759.
113. Molineris, I., Schiavone, D., Rosa, F., Matullo, G., Poli, V. and Provero, P. (2013). Identification of Functional cis regulatory Polymorphisms in the Human Genome. *Human mutation*, 34(5), 735–742.
114. J. C. Knight, B. J. Keating, K. A. Rockett, and D. P. Kwiatkowski. (2003). In vivo characterization of regulatory polymorphisms by allele-specific quantification of RNA polymerase loading, *Nature Genetics*, 33(4), 469–475.
115. T. J. Hudson. (2003). Wanted: regulatory SNPs, *Nature Genetics*, 33, 439–440.
116. Gao, B., Yasui, T., Itoh, Y., Li, Z., Okada, A., Tozawa, K., Hayashi, Y. and Kohri, K. (2007). Association of osteopontin gene haplotypes with nephrolithiasis. *Kidney International*, 72(5), 592–598.
117. Liu, C. C., Huang, S. P., Tsai, L. Y., Wu, W. J., Juo, S. H., Chou, Y. H., Huang, C. H. and Wu, M. T. (2010). The impact of osteopontin promoter polymorphisms on the risk of calcium urolithiasis. *Clinica Chimica Acta*, 411(9–10), 739–743.
118. Chen, W. C., Wu, H. C., Lu, H. F. and Tsai, F. J. (2001). Calcitonin receptor gene polymorphism: a possible genetic marker for patients with calcium oxalate stones. *European Urology*, 39(6), 716–719.
119. Chen, W. C., Chen, H. Y., Lu, H. F., Hsu, C. D. and Tsai, F. J. (2001). Association of the vitamin D receptor gene start codon Fok I polymorphism with calcium oxalate stone disease. *BJU International*, 87(3), 168–171.
120. Tsai, F. J., Lin, C. C., Lu, H. F., Chen, H. Y. and Chen, W. C. (2002). Urokinase gene 3'-UTR T/C polymorphism is associated with urolithiasis. *Urology*, 59(3), 458–461.
121. Chen, W. C., Wu, H. C., Chen, H. Y., Wu, M. C., Hsu, C. D. and Tsai, F. J. (2001). Interleukin-1 β gene and receptor antagonist gene polymorphisms in patients with calcium oxalate stones. *Urological Research*, 29(5), 321–324.
122. Mittal, R. D., Bid, H. K., Manchanda, P. K. and Kapoor, R. (2007). Association of interleukin-1 β gene and receptor antagonist polymorphisms with calcium oxalate urolithiasis. *Journal of Endourology*, 21(12), 1565–1570.

123. Tsai, F. J., Wu, H. C., Chen, H. Y., Lu, H. F., Hsu, C. D. and Chen, W. C. (2003). Association of E-cadherin gene 3'-UTR C/T polymorphism with calcium oxalate stone disease. *Urologia internationalis*, 70(4), 278-281.
124. Chen, W. C., Wu, H. C., Lin, W. C., Wu, M. C., Hsu, C. D. and Tsai, F. J. (2001). The association of androgen-and oestrogen-receptor gene polymorphisms with urolithiasis in men. *BJU international*, 88(4), 432-436.
125. Chen, W. C., Chen, H. Y., Wu, H. C., Wu, M. C., Hsu, C. D. and Tsai, F. J. (2003). Vascular endothelial growth factor gene polymorphism is associated with calcium oxalate stone disease. *Urological Research*, 31(3), 218-222.
126. Vezzoli, G., Terranegra, A., Arcidiacono, T., Biasion, R., Coviello, D., Syren, M. L., Paloschi, V., Giannini, S., Mignogna, G., Rubinacci, A., Ferraretto, A., Cusi, D., Bianchi, G. and Soldati, L. (2007). R990G polymorphism of calcium-sensing receptor does produce a gain-of-function and predispose to primary hypercalciuria. *Kidney International*, 71(11), 1155-1162.
127. Berx G, Staes K, van Hengel J, Molemans F, Bussemakers MJ, van Bokhoven A and van Roy F. (1995). Cloning and characterization of the human invasion suppressor gene E-cadherin (CDH1). *Genomics*, 26(2):281-289.
128. Shimoyama, Y., Hirohashi, S., Hirano, S., Noguchi, M., Shimosato, Y., Takeichi, M. and Abe, O. (1989). Cadherin cell adhesion molecules in human epithelial tissues and carcinomas. *Cancer Research*, 49, 2128-2133.
129. Ozawa, M., Baribault, H. and Kemler, R. (1989). The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species. *The EMBO Journal*, 8(6), 1711.
130. Knudsen, K. A. and Wheelock, M. J. (1992). Plakoglobin, or an 83-kD homologue distinct from beta-catenin, interacts with E-cadherin and N-cadherin. *The Journal of cell biology*, 118(3), 671-679.
131. Ozawa, M. and Kemler, R. (1992). Molecular organization of the uvomorulin-catenin complex. *The Journal of Cell Biology*, 116(4), 989-996.
132. Yoshida, K., Yoshihara, K., Adachi, S., Haino, K., Nishino, K., Yamaguchi, M. and Katabuchi, H. (2012). Possible involvement of the E-cadherin gene in genetic susceptibility to endometriosis. *Human reproduction*, 27(6), 1685-1689.
133. Wang, M. F., Kuo, S. H., Huang, C. H., Chen, Y. J., Lin, S. H., Lee, C. J. and Wong, R. H. (2013). Exposure to environmental tobacco smoke, human E-cadherin C-160A polymorphism, and childhood asthma. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 111(4), 262-267.
134. Villani, A. C., Lemire, M., Thabane, M., Belisle, A., Geneau, G., Garg, A. X. and Marshall, J. K. (2010). Genetic risk factors for post-infectious irritable bowel syndrome following a waterborne outbreak of gastroenteritis. *Gastroenterology*, 138(4), 1502-1513.

135. Evan, A. P. (2010). Physiopathology and etiology of stone formation in the kidney and the urinary tract. *Pediatric Nephrology*, 25(5), 831-841.
136. Hackett, R. L., Shevock, P. N. and Khan, S. R. (1995). Alterations in MDCK and LLC-PK1 cells exposed to oxalate and calcium oxalate monohydrate crystals. *Scanning microscopy*, 9(2), 587-596.
137. Onaran, M., Yılmaz, A., Sen, I., Ergun, M.A., Camtosun, A., Küpeli, B., Menevşe, S. ve Bozkirli, I. (2009). Heparan sulfate gene polymorphism in calcium oxalate nephrolithiasis. *Urological Research*, 37(1), 47-50.
138. Onaran, M., Yılmaz, A., Sen, I., Ergun, M.A., Camtosun, A., Küpeli, B., Menevşe, S. ve Bozkirli, I. (2009). A HindIII polymorphism of fibronectin gene is associated with nephrolithiasis. *Urology*, 74(5), 1004-1007.
139. Bid, H.K., Chaudhary, H. and Mittal, R.D. (2005). Association of vitamin- D and calcitonin receptor gene polymorphism in paediatric nephrolithiasis. *Pediatric Nephrology*, 20(6), 773-77.
140. Shin, Y., Kim, I. J., Kang, H. C., Park, J. H., Park, H. R., Park, H. W. And Park, J. G. (2004). The E-cadherin -347G→ GA promoter polymorphism and its effect on transcriptional regulation. *Carcinogenesis*, 25(6), 895-899.
141. Zou, X. P., Dai, W. J. and Cao, J. (2009). CDH1 promoter polymorphism (-347G→ GA) is a possible prognostic factor in sporadic colorectal cancer. *World journal of gastroenterology: WJG*, 15(42), 5340.
142. Zhang, B., Pan, K., Liu, Z., Zhou, J., Gu, L., Ji, J. and Deng, D. (2008). Genetic polymorphisms of the E-cadherin promoter and risk of sporadic gastric carcinoma in Chinese populations. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 17(9), 2402-2408.
143. Kiemeny, L. A., van Houwelingen, K. P., Bogaerts, M., Witjes, J. A., Swinkels, D. W., den Heijer, M. and Verhaegh, G. W. (2006). Polymorphisms in the E-cadherin (CDH1) gene promoter and the risk of bladder cancer. *European Journal of Cancer*, 42(18), 3219-3227.
144. Lin, J., Dinney, C. P., Grossman, H. B., Jhamb, M., Zhu, Y., Spitz, M. R. and Wu, X. (2006). E-cadherin promoter polymorphism (C-160A) and risk of recurrence in patients with superficial bladder cancer. *Clinical genetics*, 70(3), 240-245.
145. Kuraoka, K., Oue, N., Yokozaki, H., Kitadai, Y., Ito, R., Nakayama, H. and Yasui, W. (2003). Correlation of a single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter with tumorigenesis and progression of gastric carcinoma in Japan. *International journal of oncology*, 23(2), 421-427.
146. Chien, M. H., Yeh, K. T., Li, Y. C., Hsieh, Y. H., Lin, C. H., Weng, M. S. and Yang, S. F. (2011). Effects of E-cadherin (CDH1) gene promoter polymorphisms on the risk and clinicopathological development of hepatocellular carcinoma. *Journal of surgical oncology*, 104(3), 299-304.

- 147.Yılmaz, A., Menevse, S., Onaran, M., Sen, I., Ergun, M. A., Camtosun, A. ve Bozkırlı, I. (2011). E-cadherin gene 3'-UTR C/T polymorphism in Turkish patients with nephrolithiasis. *Molecular Biology Reports*, 38(8), 4931-4934.
- 148.Üliç Çatar Ö. (2010). *Böbrek Taşı Oluşumunu Etkileyen Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 37-38.





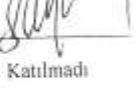
EK- 1. - Etik kurul kararı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU					
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara			
	TELEFON	0312 202 69 58			
	FAKS	0312 202 46 73			
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr			
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	E-Kaderin Geni (CDH1) -160C> A (rs16260) Polimorfizminin BöbrekTaşı Oluşumundaki Rolü			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Ece KONAÇ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D/ G.Ü.T.F.			
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya,mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji kolleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar - Tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalde yapılacak araştırmalar (Gen tedavisi klinik araştırmaları ve farmakogenetik çalışmalar dışında kalan) Yüksek Lisans Tezi			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	05.01.2015	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐ Diğer ☐
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	05.01.2015	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒			
	BIYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU	☐			
	DİĞER	☐			

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 18	Toplantı tarihi: 12.01.2015
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtiler merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.	

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik (13.04.2013), İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof.Dr.Caann ULUOĞLU							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişi		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Caann ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof.Dr.Arzu BAKIRTAŞ BAŞKAN YARDI	Çocuk Sağlığı ve Hast.A.D	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji A.D	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

EK- 1. (devam) - Etik kurul kararı

Prof.Dr.Bülent BOYACI ÜYE	Kardiyoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Sefer AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Mehmet Akif ÖZTÜRK ÜYE	İç Hastalıkları A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof.Dr.Elvan İŞERİ ÜYE	Çocuk Psikiyatrisi A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etiği A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof.Dr.Sercan AKSOY ÜYE	İç Hastalıkları A.D	H.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Hakan KAYIR ÜYE	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.A.T.A	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Mustafa ARSLAN ÜYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Murat AKIN ÜYE	Genel Cerrahi A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Av.Arzu BUZKIRAN KAYA ÜYE	Avukat	G.Ü.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Emine ŞEKER ÜYE	Sivil Temsilci	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

- * :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DÖNMEZ, Çiğdem
 Uyruğu : T.C
 Doğum tarihi ve yeri : 1985 / Kırıkkale
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : (0312) 2024749
 Faks : -
 e-mail : cigdemdonmez@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/ Sağlık Bilimleri Enstitüsü/ Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD.	Devam ediyor
Bütünleştirilmiş Doktora	Ankara Üniversitesi/ Fen Bilimleri Enstitüsü/ Biyoloji	2009 –devam ediyor
Lisans	Ankara Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2009
Lise	Başkent Süper Lisesi	2003

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2014 -	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Araştırma Görevlisi
2013-2014	Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Kiliccioglu, I., Konac, E., Albayrak, G., Donmez, C., Bilen, C. Y. (2015). Combination of Metformin and Dichloroacetate Inhibits Proliferation and Induce Intrinsic Pathway of Apoptosis in PC-3 Human Prostate Cancer Cells. *Gazi Medical Journal*, 26(4A).
2. Sumer Aras, Semra Soydam Aydin, Didem Aksoy Körpe and Çiğdem Dönmez. 2011. Comparative Genotoxicity Analysis of Heavy Metal Contamination in Higher Plants in Ecotoxicology. InTech- Open Access Publisher, Croatia.
3. Dönmez Ç., Konaç, E., Aydoğan, T.B., Bilen, C.Y.. E-Kaderin Geni (CDH1) -160C>A (rs16260) Polimorfizminin Böbrek Taşı Oluşumundaki Rolü. XIV. Ulusal Tbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Ölüdeniz /Fethiye. 27 – 30 Ekim 2015, Poster No: PS-07 52.





GAZİ GELECEKTİR..