

KRONİK BÖBREK HASTALIĞI
(YETMEZLİĞİ) OLAN TÜRK
HASTALARINDA
TÜMÖR NEKROZ FAKTÖR ALFA ve
İNERLÖKİN-6
PROMOTER POLİMORFİZMLERİNİN
ETKİSİ



Hazırlayan: Meral YILMAZ
Cumhuriyet Üniversitesi



KRONİK BÖBREK HASTALIĞI NEDİR?

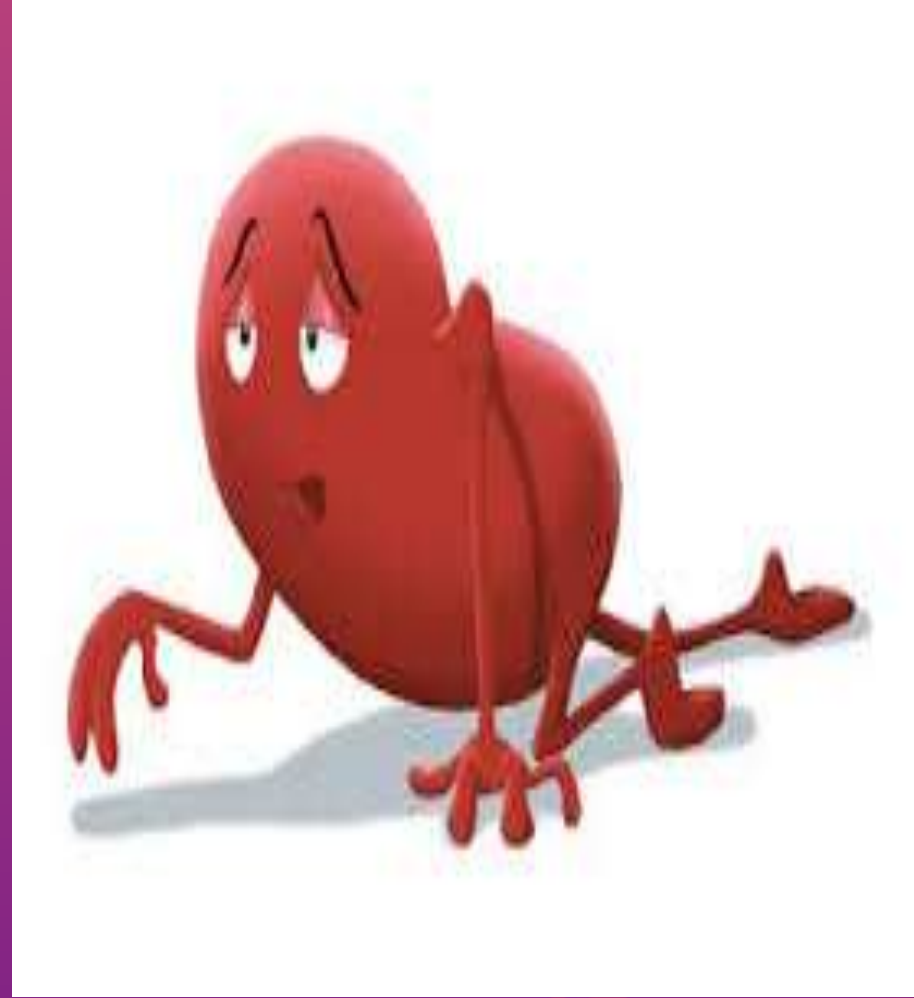
Kronik böbrek yetmezliği (KBY): glomerüler filtrasyon değerinde azalmanın sonucu böbreğin sıvı-solüt dengesini ayarlama ve metabolik-endokrin fonksiyonlarda kronik, ilerleyici bozulma hali olarak tanımlanabilir.



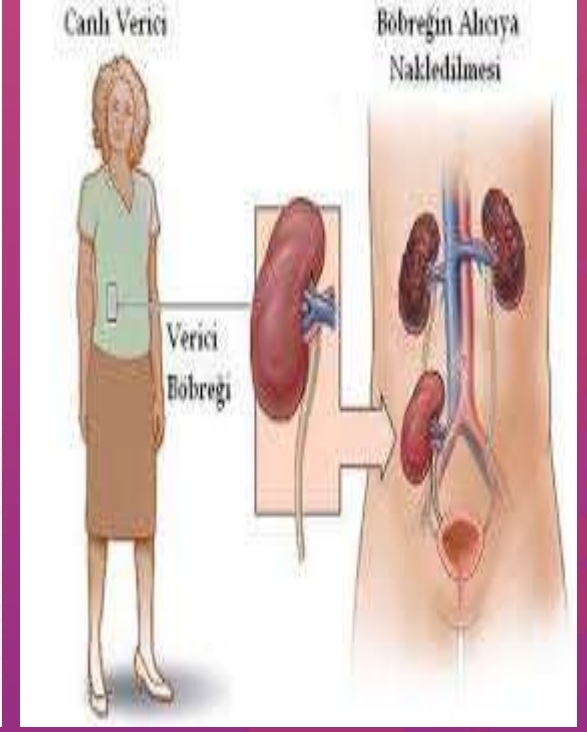
SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİ?

Glomerüler filtrasyon değeri 35-50 ml/dakikanın altına inmedikçe hastalar semptom vermeyebilir.

Glomerüler filtrasyon değeri 5-10 ml/dakikaya inince son dönem böbrek yetmezliğinden (SDBY) bahsedilir ve hastalar diyaliz, böbrek transplantasyon gibi böbrek replasman tedavilerine ihtiyaç duyarlar.

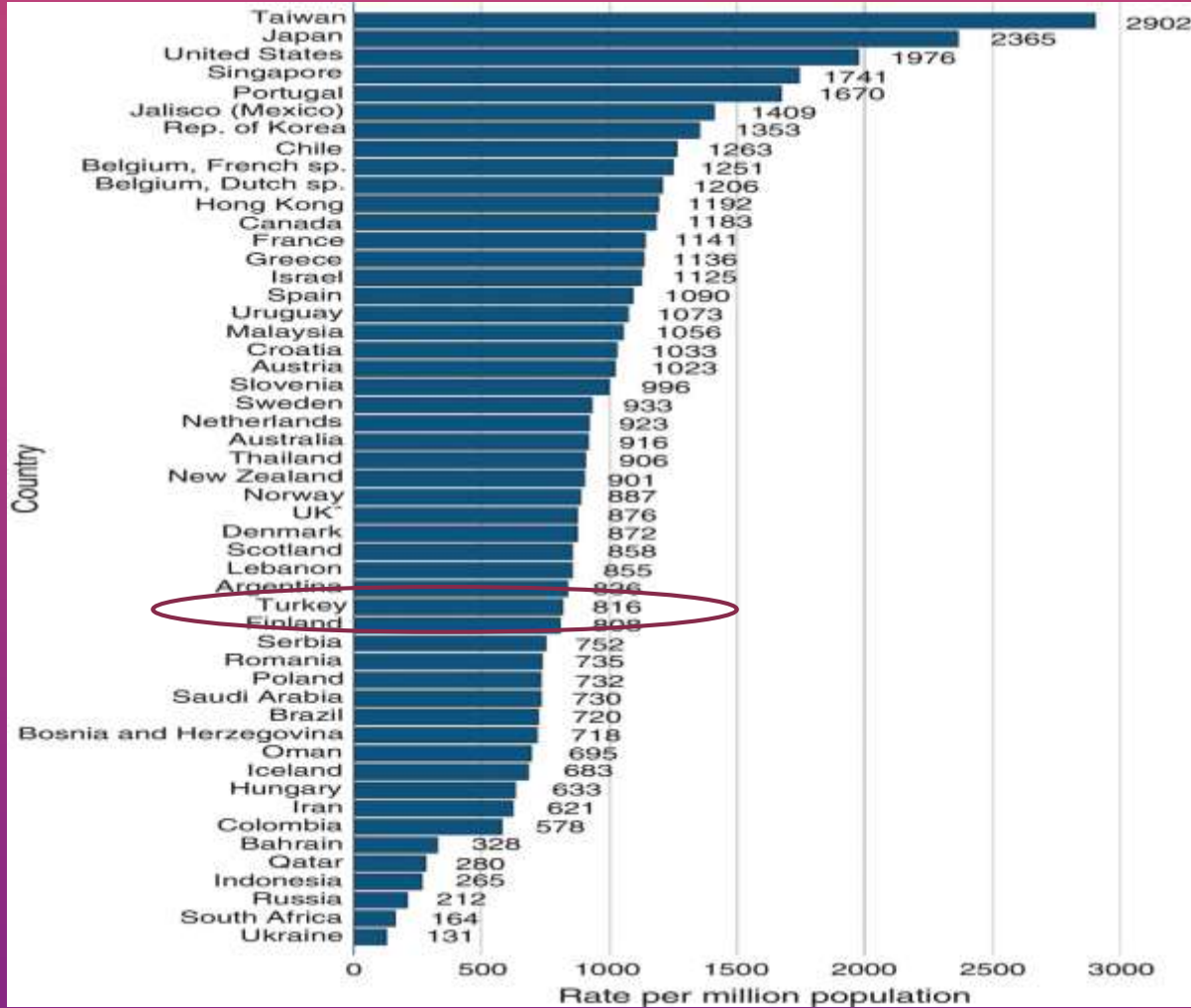


BÖBREK REPLASMAN TEDAVİSİ



Hemodiyaliz tedavisi hastanın böbrek yetmezliğinin şiddetine, çıkardığı idrar miktarına bağlı olmak üzere haftada 2 - 3 kez, 4 - 6 saat süre ile uygulanır

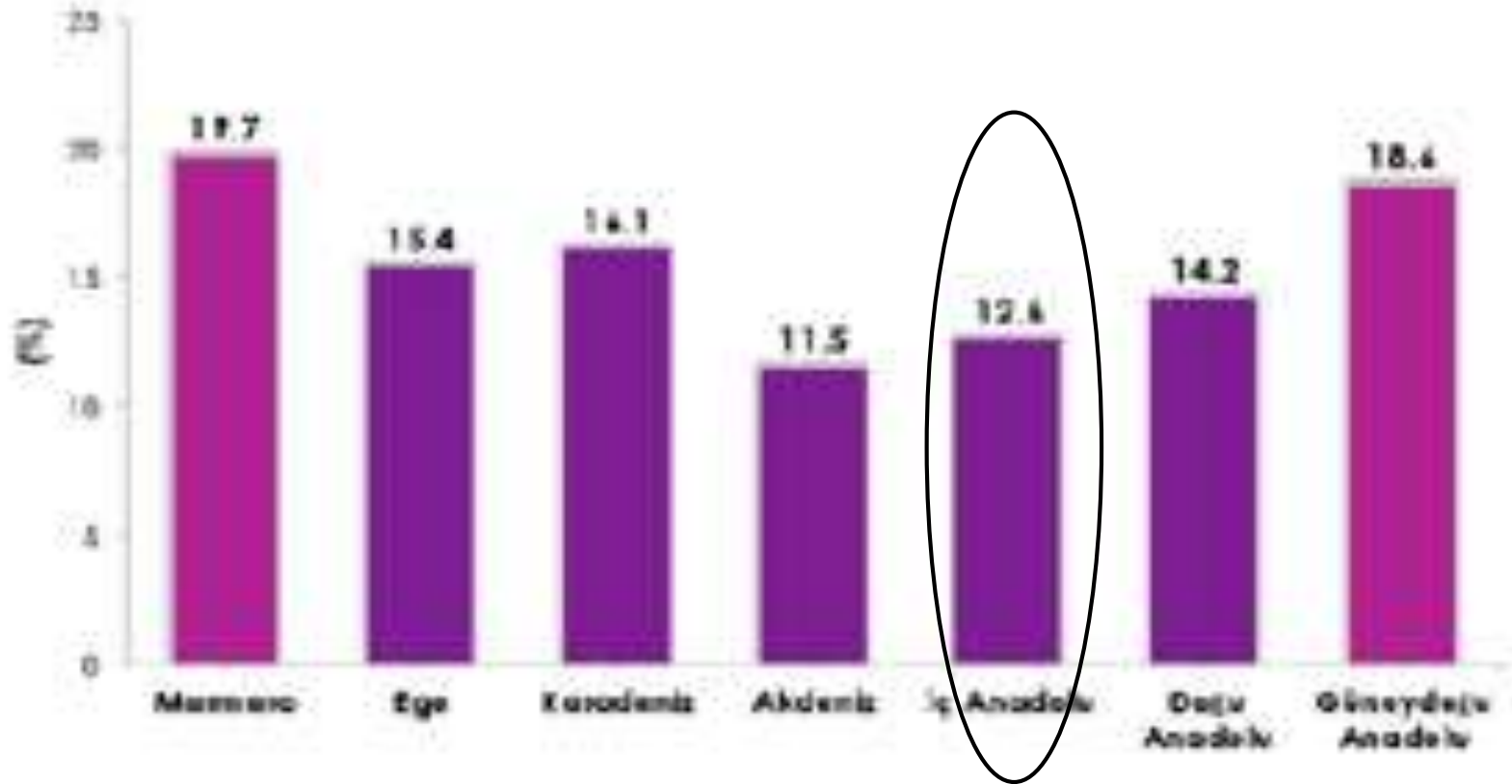
ÇEŞİTLİ ÜLKELERDE SON DÖNEM BÖBREK YETMEZLİĞİNİN PREVALANSI



ABD Renal Veri Sistemine göre 2013 yılı raporuna göre Türkiye Böbrek Hastalıkları Önleme Ve Kontrol Programı (2014-2017), 2014-ankara

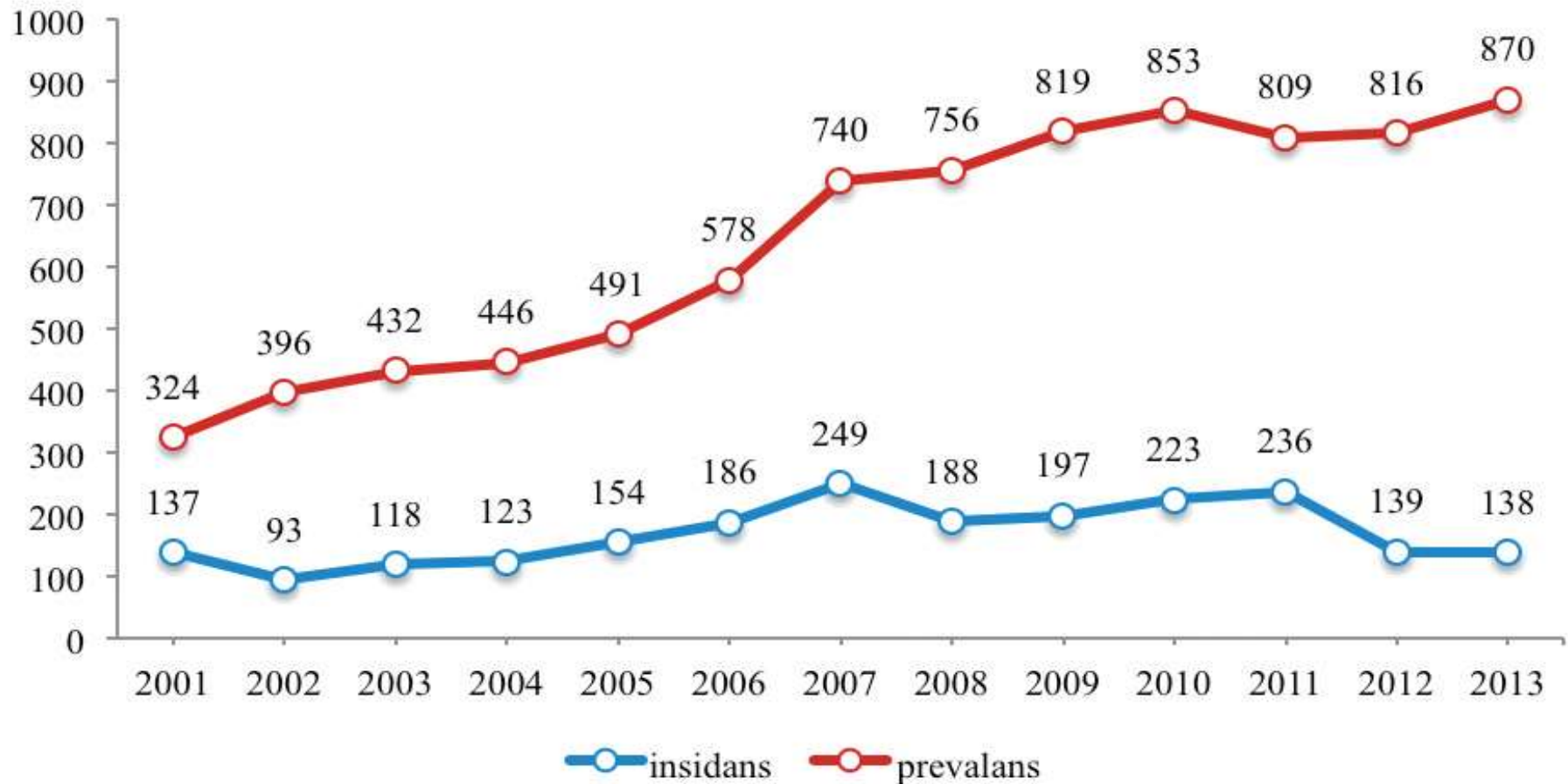


Bölgelere göre kronik böbrek hastalığı prevalansı

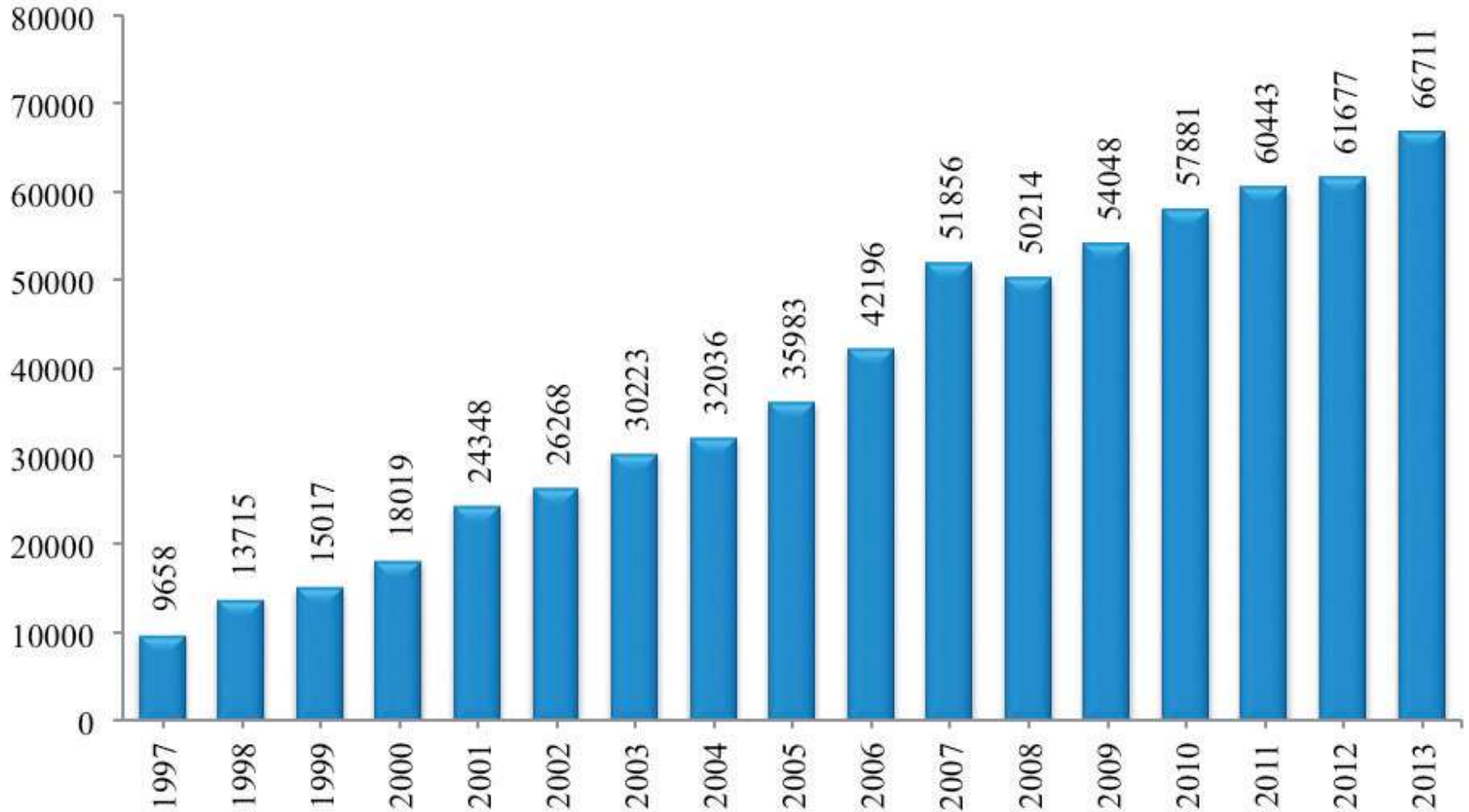


CREDİT Türkiye KİH Prevalans Çalışması

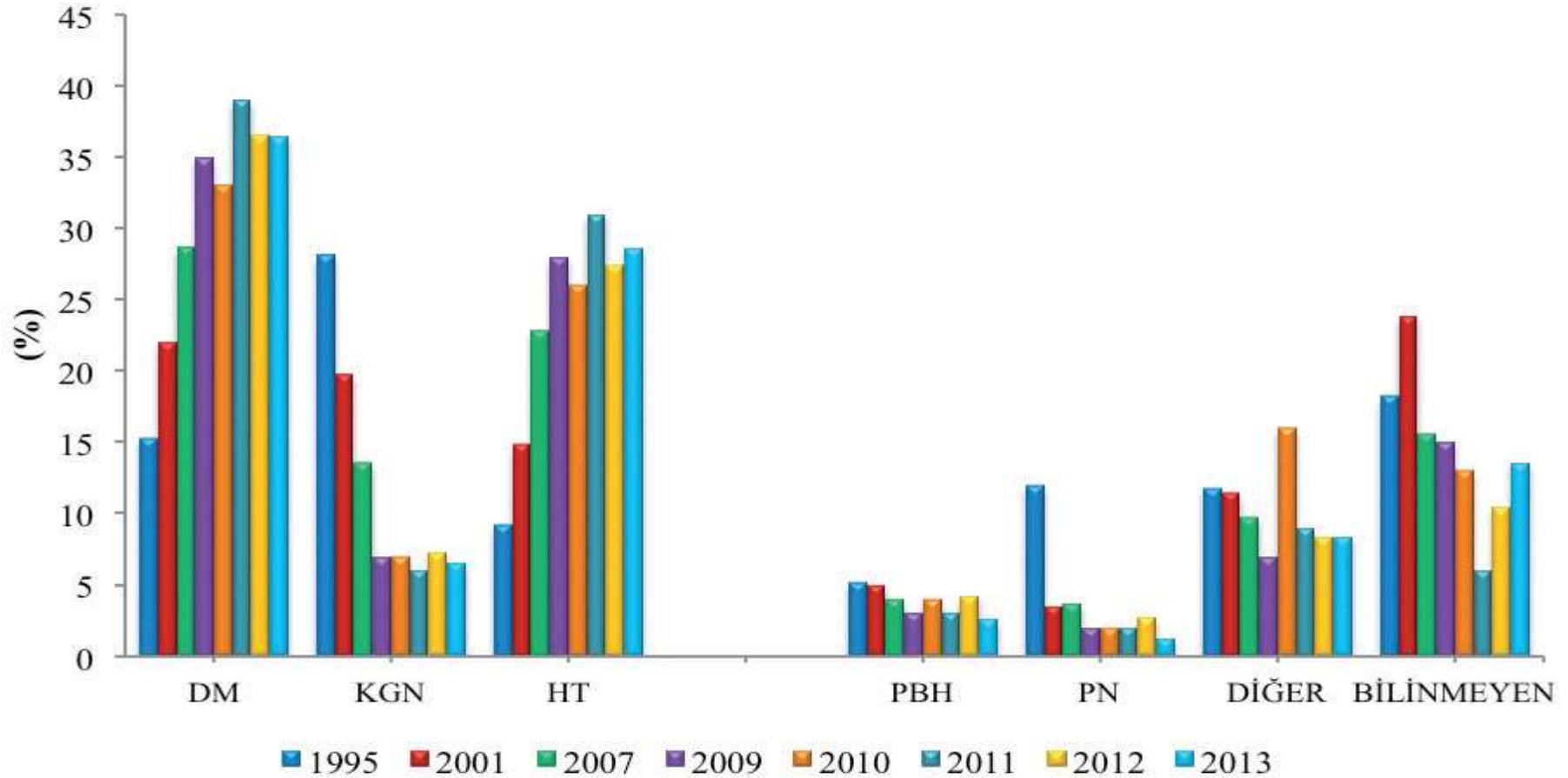
TÜRKİYE'DE RENAL REPLASMAN TEDAVİSİ GÖREN HASTALARIN YILLAR İÇİNDE MİLYON NÜFUS BAŞINA İNSİDANS VE PREVALANSINDAKİ DEĞİŞİM



TÜRKİYE'DE RENAL REPLASMAN TEDAVİSİ UYGULANAN HASTA SAYILARININ YILLAR İÇİNDE DEĞİŞİMİ (Turk Neph Dial Transpl 2015; 24 (1): 10-16)



RENAL REPLASMAN TEDAVİSİ GÖREN HASTALARDA PRİMER ETİYOLOJİNİN YILLAR İÇİNDEKİ DEĞİŞİMİ



DM: Diabetes mellitus, **KGN:** Kronik glomerülonefrit, **HT:** Hipertansiyon, **PBH:** Polikistik böbrek hastalığı, **PN:** Piyelonefrit.

HASTALARIN RENAL REPLASMAN TEDAVİSİNDE GEÇİRDİKLERİ SÜRE

Süre (yıl)	0-5	6-10	11-15	16-20	>20
Hemodiyaliz (%)	66,4	21,8	8,0	2,7	1,1
Periton diyalizi (%)	70,2	24,2	5,0	0,6	0,0

Bugüne kadar, hemodializ tekniklerinde önemli gelişmeler olmasına karşın SDBH'lı hastalarda mortalite ve morbitide oranlarında herhangi bir değişiklik olmamıştır.

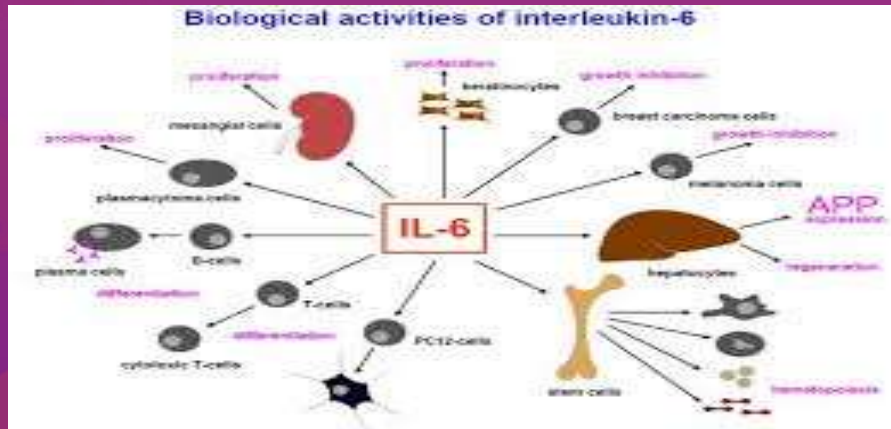
Bundan dolayı, KBH ve SBY gelişme riski yüksek olan vakaların erken tanımlanması önemli bir faktördür.



PROİNFLAMATUAR SİTOKİNLER

IL-6

- 7p21 kromozomal bölgede lokalize olmaktadır.
- Çok fonksiyonlu sitokin olarak bilinmektedir.
- İmmün yanıtı, hematopoezi, akut faz yanıtı ve inflamasyonu düzenlemektedir.



TNF- α

- Gen; 6. kromozom üzerinde major histocompatibility complex (MHC)'nin class III bölgesi üzerinde lokalize olmaktadır.
- Çoklu inflammatuar ve immün yanıtla ilişkilidir.
- Bazı otoimmün ve infeksiyon hastalıkların patogenetiğinde rol oynadığı bildirilmiştir.



Çeşitli çalışmalarda, interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) gibi proinflammatory sitokinlerin promoter polimorfizmlerinin böbrek fonksiyonu ve co-morbidite ile güçlü bir korelasyon gösterdikleri bildirilmiştir.

ÇALIŞMANIN AMACI

Biz bu çalışmada; bir Türk popülasyonunda KBH gelişme riski ve IL-6 (-174G/C), TNF- α (-308G/A) polimorfizmleri arasında bir ilişkinin olup olmadığının tanımlanması amaçlanmıştır.



ETİK KURUL KARARI

Çalışmamız Cumhuriyet Üniversitesi İnsan Etik Kurul Komitesi tarafından (13/04/2012) onaylanmıştır.

ÇALIŞMA GRUBU VE YÖNTEM

ÇALIŞMA GRUBU



➤ HASTA GRUBU:

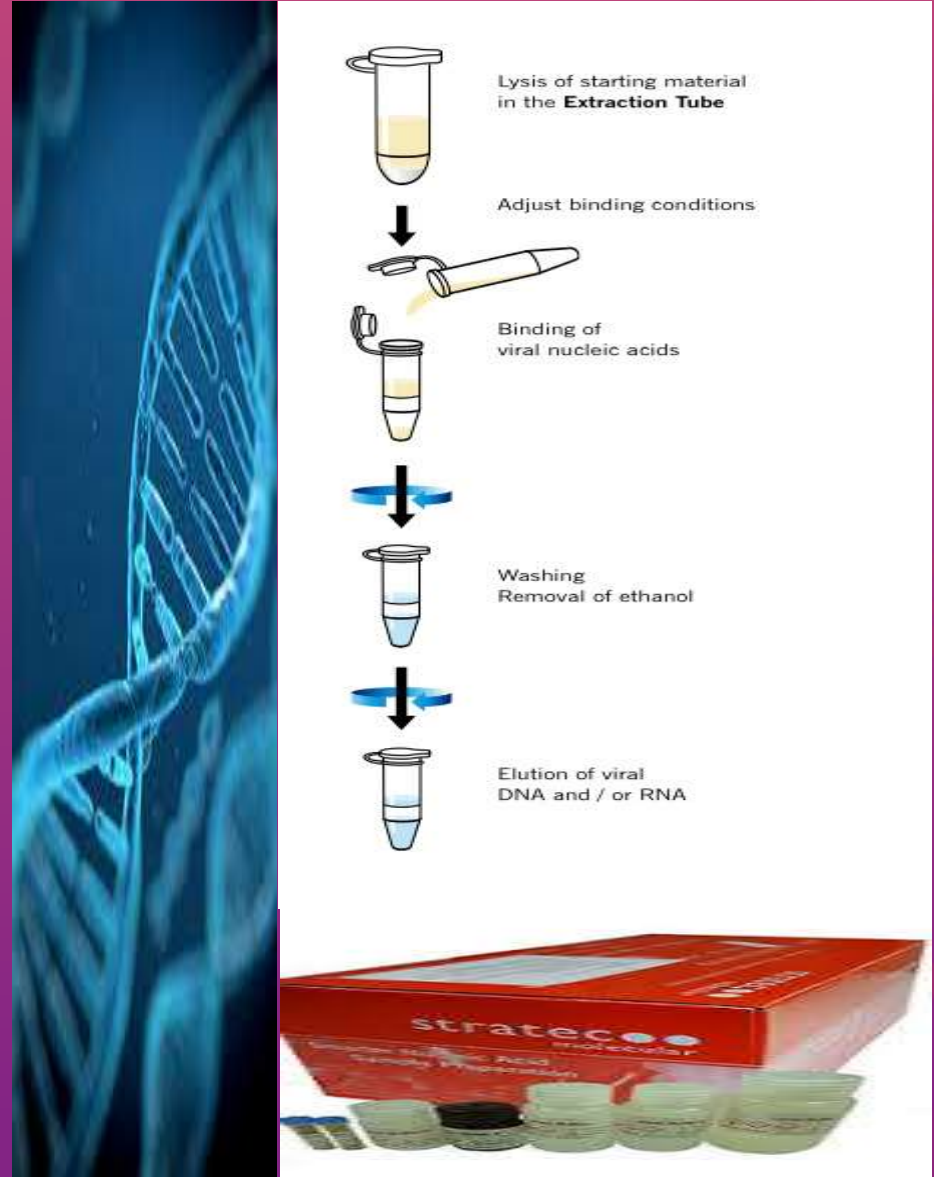
Kronik böbrek yetmezliği tanısı konmuş, hastalığın 5. safhasında olan ve hemodiyaliz tedavisi alan toplam 240 birey hasta grubu olarak değerlendirilmiştir.

➤ KONTROL GRUBU:

Bilinen böbrek, kalp, tansiyon ya da ateroskleroz hastalığı bulunmayan yaş ve cinsiyet dağılımı açısından hasta grubu ile uyumlu gönüllü-sağlıklı 240 birey kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir.

TOTAL GENOMİK DNA ELDESİ

Hasta ve kontrol gruplarından EDTA'lı tüplere alınan 100 µL tam periferik kan örneklerinden «Invitek kit extraction technique» (Invisorb spin blood; Invitek, Berlin, Germany) kullanılarak total genomik DNA elde edilmiştir. Çalışma anına kadar örnekler -20°C'de saklanmıştır.

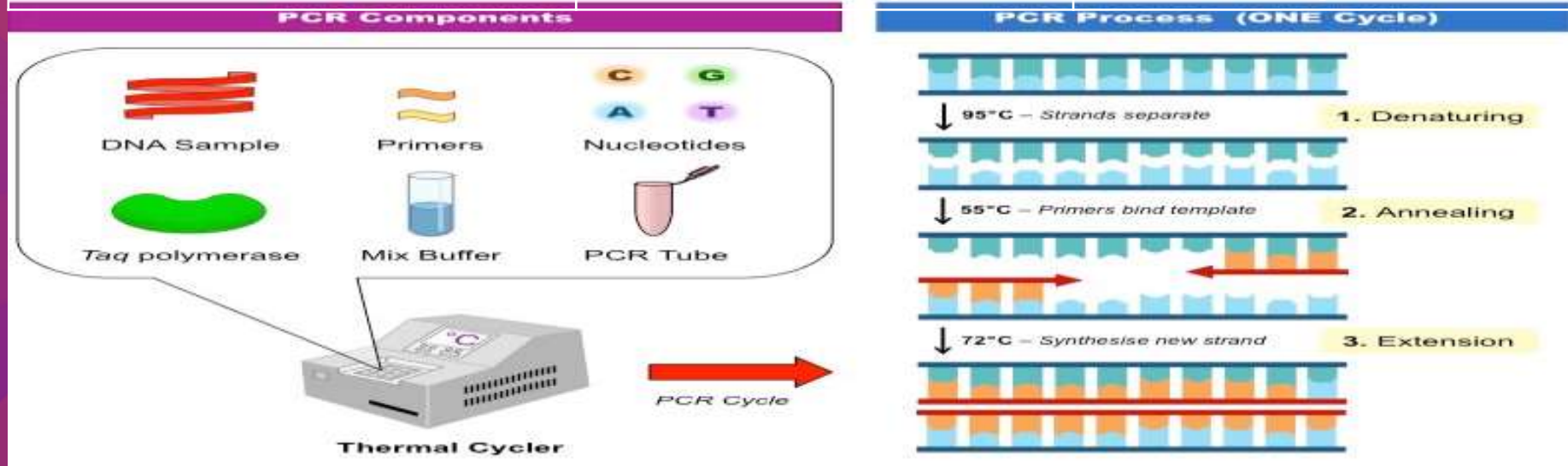


TNF- α ve IL-6 polimorfizmlerinin genotip analizi için PCR ve RFLP yöntemleri kullanılmıştır

Polimorfizm	IL-6 (-174G/C)	TNF- α (-308G/A)
Primer Dizileri	5'-TCCTCCCTGCTCCGATTCCG-3' 5'-GGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT-3'	5'-AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT-3' 5'-TTGTCAAGACATGCCAAGTGCT-3'
PCR şartları	<u>95°C- 1 dk ilk denaturasyon aşaması</u> 95°C-30 s 58°C-30 s 35 döngü <u>72°C-45 s.....</u> 72°C-5 dk son uzama aşaması	<u>95°C-5 dk ilk denaturasyon aşaması</u> 95°C-45 s 59°C-45 s 35 döngü <u>72°C-45 s.....</u> 72°C-5 dk son uzama aşaması
PCR ürünü	299 bp	107 bp

PCR REAKSİYONU

Solüsyonlar	Konsantrasyon	Miktar
PCR tamponu	1X	2.5 µl
dNTP karışımı	2 mM	2.5 µl
MgCl ₂	25 mM	1.5 µl
Forward primeri	10 pmol	1 µl
Reverse primeri	10 pmol	1 µl
Taq DNA polimeraz	5 U/µl	0.5 µl
dH ₂ O	-	15 µl
DNA	100 ng/µl	1µl



RFLP REAKSİYONU

Solüsyonlar	Konsantrasyon	Miktar
PCR tamponu	10X	1 µl
<i>RE enzim</i>	5 U/µl	1µl
PCR ürünü		8µl

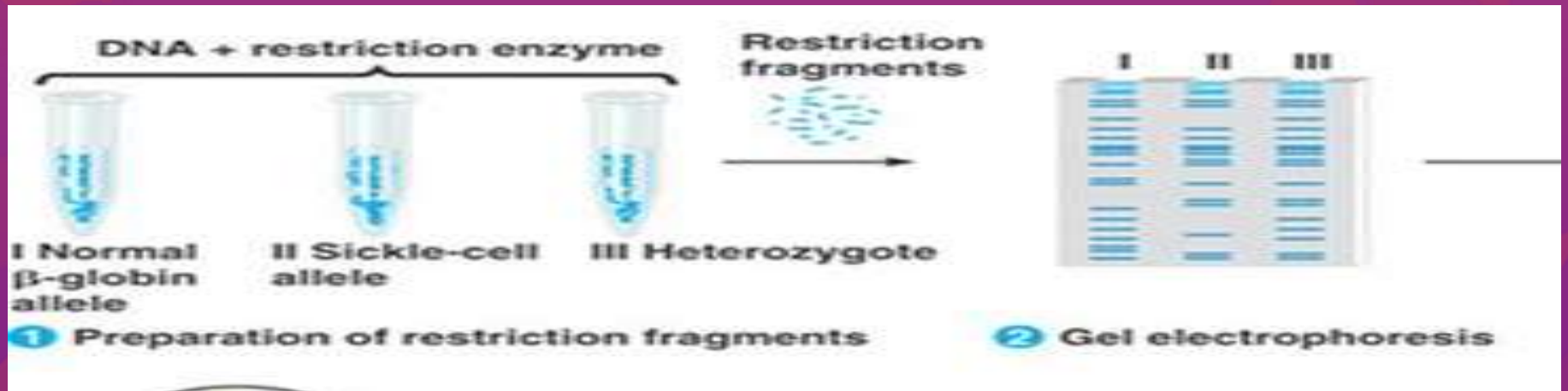
37°C → 16 saat inkübasyon

TNF-α (-308 G/A):

NcoI → 5'-C↓CATGG-3'
3'-GGTAC↑C-5'

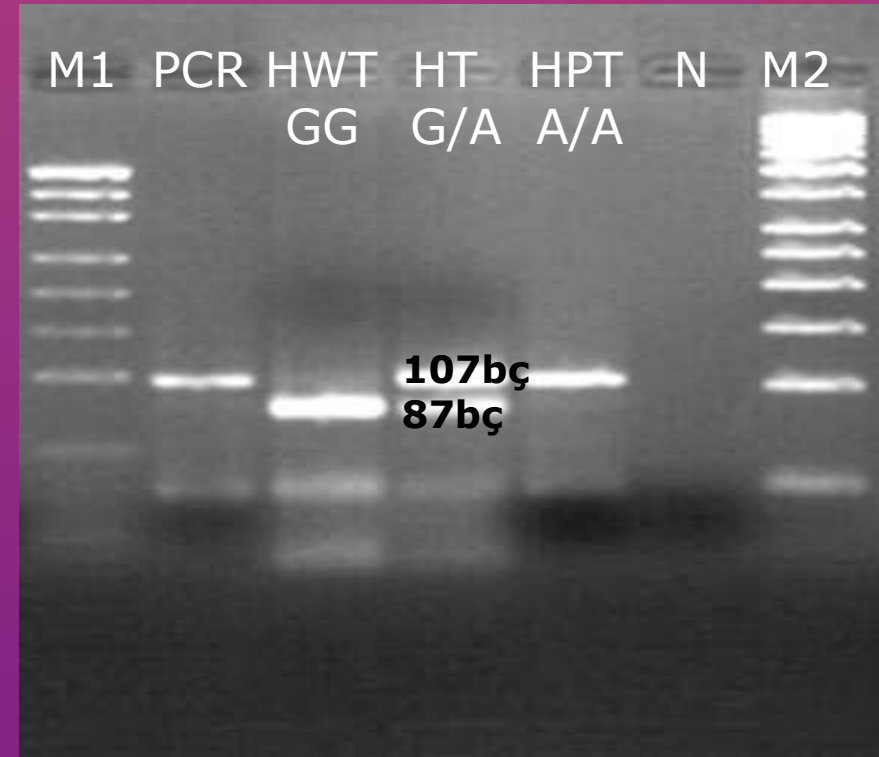
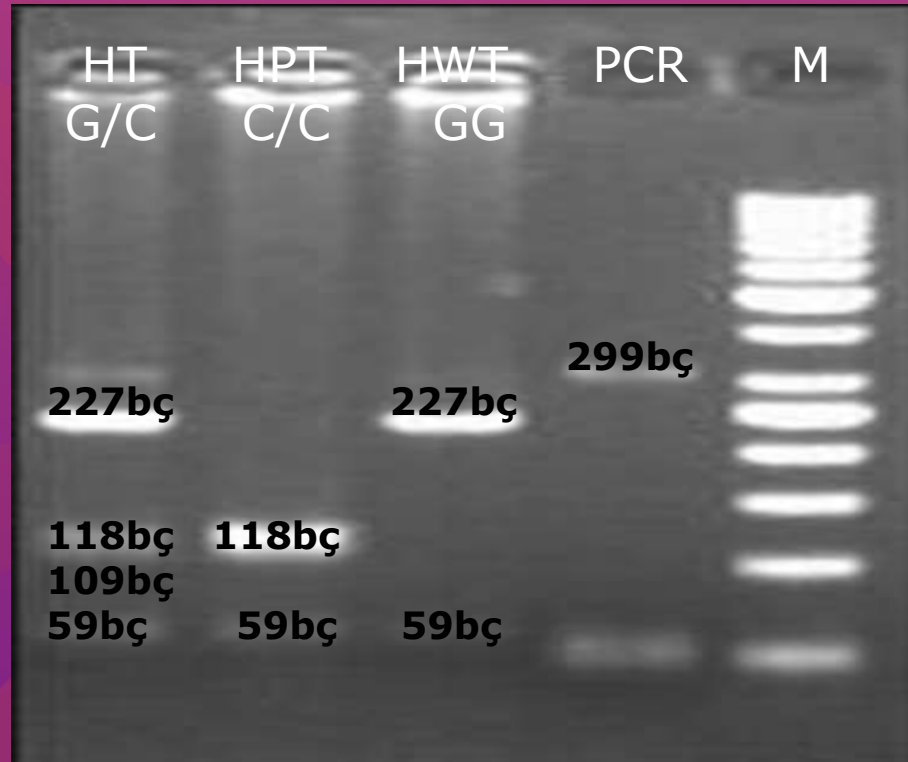
IL-6 (-174 G/C):

NlaIII → 5'-CATG↓-3'
3'-↑GTAC-5'



RFLP SONRASI GÖZLENEN GENOTİPLER

Polimorfizm	IL-6 (-174G/C)	TNF- α (-308G/A)
RE enzim	NlaIII (Fermentas)	NcoI (Fermentas)
RFLP ürünleri		
HWT	227, 59, 13 bç	87, 20 bç
HT	227, 118, 109, 59, 13 bç	107, 87, 20 bç
HPT	118, 109, 59, 13 bç	107 bç



Daha önce yayınlanmış *in vitro* transfeksiyon çalışmaları baz alınarak ileri sürülen IL-6 (-174G/C) ve TNF- α (-308 G/A) FENOTİPLER

IL-6
(-174G/C)

- Yüksek IL-6 ekspresyonu (GG+GC)
- Düşük IL-6 ekspresyonu(CC)

TNF- α
(-308 G/A)

- Yüksek TNF- α ekspresyonu (GA+AA)
- Düşük TNF- α ekspresyonu (GG)



BULGULAR

HASTA VE KONTROL GRUPLARININ DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ

Demografik özellikler	Hastalar n=240 (%)	Kontroller n=240 (%)
Yaş (yıl) (üst-alt sınırlar)	55.9±15.6 (16-87)	53.0±15.6 (23-86)
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	128 (53.3)/112 (46.7)	142 (59.2)/98 (40.8)
Hemodiyaliz süresi (yıl)	4.6±4.3 (1-21)	
Hipertansiyon (HT)	127 (52.9)	
Diabetes Mellitus (DM)	65 (27.1)	
HT+DM	43 (17.9)	
Aterosikleroz (A)	33 (13.8)	
HT+DM+ Aterosikleroz	16 (6.7)	
Böbrek hastalığının nedenleri		
Bilinmeyen	77 (32.1)	
HT	45 (18.8)	
DM	42 (17.5)	
Nefrolitiazis	17 (7.1)	
Polikistik böbrek	15 (6.3)	
Glomerulonefrit	10 (4.2)	
Diğerleri	34 (14)	

Hasta ve kontrol grupları arasında IL-6 (-174 G/C) ve TNF- α (-308G/A) polimorfizmlerinin genotip sıklıkları, ve risk analizi sonuçları

SNP	Genotipler	Kontroller n (%)	Hastalar n (%)	P Değeri	OR (%95 CI)
IL-6 (-174G/C)	GG	147 (61.2)	192 (80.0)		Referans
	GC	89 (37.1)	43 (17.9)	0.001*	0.37 (0.24-0.56)*
	CC	4 (1.7)	5 (2.1)	0.99	0.95 (0.25-3.96)
	GG+GC	236 (98.3)	235 (97.9)	0.75	1.25 (0.33-4.73)
	G	383 (79.8)	427 (89.0)		Referans
	C	97 (20.2)	53 (11.0)	0.001*	0.49 (0.34-0.70)*
TNF- α (-308G/A)	GG	197 (84.1)	174 (72.5)		Referans
	GA	42 (17.5)	63 (26.2)	0,02*	1.69 (1.09-2.63)*
	AA	1 (0.4)	3 (1.2)	0,34	3,39 (0,35-32,9)
	GA+AA	43 (17.9)	66 (27.4)	0.01*	1.73 (1.12-2.68)*
	G	436 (90,8)	411 (85.6)		Referans
	A	44 (9,2)	69 (14.4)	0,01*	1.66 (1.11-2.48)*

Hasta ve kontrol grupları arasında IL-6 (-174 G/C) ve TNF- α (-308G/A) polimorfizmlerinin fenotip dağılımları ve risk oranları

Fenotipler	Kontroller n (%)	Hastalar n (%)	P Değeri	OR (%95 CI)
Yüksek IL-6 ekspresyonu (GG+GC)	236 (98.3)	235 (97.9)		Referans
Düşük IL-6 ekspresyonu(CC)	4 (1.7)	5 (2.1)	0.75	1.2 (0.3-4.7)
Yüksek TNF- α ekspresyonu (GA+AA)	197 (84.1)	174 (72.5)	0.01*	1.7 (1.1-2.6)*
Düşük TNF- α ekspresyonu (GG)	43 (15.9)	66 (27.5)		Referans
Düşük IL-6 +Düşük TNF- α ekspresyonu	4 (100)	2 (40)		Referans
Yüksek IL-6 + Düşük TNF- α ekspresyonu	193 (81.8)	172 (73.2)	0.68	1.7 (0.3-9.8)
Yüksek IL-6 + Yüksek TNF- α ekspresyonu	43 (18.2)	63 (26.8)	0.23	2.9 (0.5-16.7)
Düşük IL-6 + Yüksek TNF- α ekspresyonu	0 (0)	3 (60)		

HT, DM ve Aterosiklerozlu hasta grupları arasında IL-6 ve TNF- α promoter polimorfizmlerinin genotip dağılımları ve risk oranları

Patient Groups N (%)	IL-6 (-174 G/C)			TNF- α (-308G/A)		
	GG	GC	CC	GG	GA	AA
With HT 127 (52.9)	102 (80.3)	23 (18.1)	2 (1.6)	94 (74)	31 (24.4)	2 (1.6)
Without HT 113 (47.1)	90 (79.6)	20 (17.7)	3 (2.7)	80 (70.8)	32 (28.3)	1(0.9)
P Value		0.98	0.66		0.55	0.98
OR (% 95 CI)	Referans	1.0 (0.5-1.9)	0.5 (0.1-3.6)	Referans	0.8 (0.4-1.4)	1.7 (0.1-19)
With DM 65 (27.1)	53 (81.5)	11 (16.9)	1 (1.5)	51 (78.5)	14 (21.5)	0 (0)
Without DM 175 (72.9)	139 (79.4)	32 (18.3)	4 (2.3)	123 (70.3)	49 (28)	3 (1.7)
P Value		0.85	0.98		0.32	
OR (%95 CI)	Referans	0.9 (0.4-1.9)	0.65 (0.07-6.0)	Referans	0.6 (0.3-1.3)	
With A 33 (13.8)	31 (93.9)	2 (6.1)	0 (0)	29 (87.9)	4 (12.1)	0 (0)
Without A 207 (86.2)	161 (77.8)	41 (19.8)	5 (2.4)	145 (70)	59 (28.5)	3 (1.4)
P Value		0.05			0.05	
OR (%95 CI)	Referans	0.2 (0.1-1.1)		Referans	0.3 (0.1-1.0)	

SONUÇ

Çalışma sonunda elde ettiğimiz veriler ışığında bizim popülasyonumuzda TNF- α (308G/A) gen polimorfizminin KBH gelişimi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

SORULARINIZ?