

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

**SIÇAN KRONİK PERİTON DİYALİZİ MODELİNDE
HİPERTONİK DİYALİZ SIVISINA BAĞLI GELİŞEN
PERİTON FİBROZİSİ İLE TGF- β 1, VEGF, INTERLÖKİN-6
SEVİYELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ VE LÖKOTRIEN
ANTAGONİSTLERİNİN
ETKİSİ**

**DR.SİBEL KOÇAK YÜCEL
NEFROLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

İSTANBUL 2004

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

**SIÇAN KRONİK PERİTON DİYALİZİ MODELİNDE
HİPERTONİK DİYALİZ SIVISINA BAĞLI GELİŞEN
PERİTON FİBROZİSİ İLE TGF- β 1, VEGF, INTERLÖKİN-6
SEVİYELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ VE LÖKOTRIEN
ANTAGONİSTLERİNİN
ETKİSİ**

**DR.SİBEL KOÇAK YÜCEL
NEFROLOJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN:PROF.DR.İ.ÇETİN ÖZENER

İSTANBUL 2004

ÖNSÖZ

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalındaki eğitimim süresince bilimsel ve kişisel açıdan gelişmemde emekleri olan Nefroloji Bilim Başkanı Prof. Dr. Emel Akoğlu, Nefroloji Bilim Dalı Öğretim üyeleri; Prof. Dr.Çetin Özener ve Doç. Dr.Serhan Tuğlular'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmanın gerçekleşmesindeki değerli katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Halil Tuğtepe, Doç. Dr. Fulya Çakalağaoğlu, Dr. Leyla Çıtak, Patoloji Teknisyeni Naziye Özkan, Marmara Üniversitesi Deneysel Hayvan Laboratuvarı çalışanlarına, Biyokimya A.B.D.'dan Doç. Dr. Önder Şirikçi ve Dr.Cemalettin Ulusoy ve diğer çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.Tüm eğitimim süresince manevi desteğini esirgemeyen ve sevgilerini her zaman hissettiğim sevgili anneme ve rahmetli babama çok teşekkür ederim.

KISALTMALAR

AA:	Araşidonik asit
AGE:	İleri glikozilasyon son ürünü
CysLT:	Sisteinil lökotrien
D/P üre:	Diyalizat/Plazma üre
D/Pkreatinin:	Diyalizat/Plazma kreatinin
D ₁ /P ₀ glukoz	Diyalizat/Plazma glukoz
ESM:	Ekstraselüler matriks
GDP:	Glukoz yıkım ürünü
IL:	Interlökin
LT:	Lökotrien
PD:	Periton diyalizi
PET:	Periton eşitlenme testi
SAPD:	Sürekli ayaktan periton diyalizi
SRS-A:	Yavaş reaksiyon gösteren anaflaksi maddesi
TGF-β1	Transforme edici büyüme faktörü beta
TNF-α	Tümör nekroz faktörü alfa
UF:	Ultrafiltrasyon
VEGF:	Vasküler endotelial büyüme faktörü

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	i
KIZALTMALAR	İV
1.GİRİŞ VE AMAÇ	
2.GENEL BİLGİLER	
2.1. PERİTON DİYALİZİ	
2.1.1. Tarihçesi.....	
2.1.2. Periton Membranının Anatomisi ve Fonksiyonları.....	
2.1.3. Periton Diyalizi İşlemi.....	
2.1.4. Periton Fibrozisi.....	
2.1.4.a. Periton Fibrozisi ve Ultrafiltrasyon Yetmezliği.....	
2.1.4.b. Periton Fibrozisi ve Periton Diyalizi Solüsyonları.....	
2.1.4.c. Periton Diyalizi ve Enflamasyon.....	
2.1.4.d. Periton Diyalizi Solüsyonlarının Peritona Etkisi.....	
2.2.LÖKOTRIEN RESEPTÖR ANTAGONİSTİ VE SENTEZ İNHİBİTÖRLERİ	
2.2.1. Tarihçesi.....	
2.2.2. Farmakokinetik ve Metabolizma.....	
2.2.3. Toksikite.....	
2.2.4. 5-Lipooksijenaz Yolu.....	
2.2.5. Lökotrien Reseptörleri.....	
2.2.6. Lökotrien ve Periton.....	
2.3. TRANSFORMİNG GROWTH FACTOR - β 1(TGF- β 1)..	
2.3.1. Yapısı.....	
2.3.2. TGF- β 1 Reseptörleri.....	
2.3.3. Biyolojik Etkileri.....	
2.4. VASCÜLER ENDOTELİAL GROWTH FACTOR (VEGF)	
2.4.1. Biyolojik Etkileri.....	
2.5. İNTERLÖKİN.....	
3.MATERYAL- METOD	
3.1. Deney Hayvanlarının Seçimi.....	
3.2. Kronik Periton Diyalizi Modeli.....	
3.3. Çalışma Grupları.....	
3.4. İlaçlar ve Solüsyonlar.....	
3.5. Çalışma Verilerinin Toplanması.....	
3.6. Biyokimyasal Değerlerin Ölçümü.....	
3.7. Verilerin Değerlendirilmesi.....	
3.7.1.Fonksiyonel Çalışmalar	

3.7.2.Histopatolojik Çalışmalar	
3.7.2.a.Hematoksilen-Eosin Boyama.....	
3.7.2.b.Periodik Asit-Schihh (PAS) Boyama.....	
3.7.2.c Trikrom-Masson Boyama.....	
3.7.3.İmmunhistokimyasal Çalışmalar.....	
3.7.3.a TGF-β1 immunekspresyonu.....	
3.7.3.b. VEGF immunekspresyonu	
3.7.3.c. Interlökin-6 immunekspresyonu.....	
3.7.4Histopatolojik Değerlendirme.....	

4.BULGULAR

4.1.Biyokimyasal Bulgular.....	
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	
4.3.İmmunhistokimyasal Bulgular.....	

5.RESİMLER.....

6.TARTIŞMA.....

7.ÖZET.....

8. SUMMARY.....

9.KAYNAKLAR.....

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD), son dönem böbrek yetmezliğinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan renal yerine koyma tedavilerinden biridir. Bu işlemde, abdominal boşluğa yerleştirilen kateter aracılığıyla steril diyaliz solüsyonu periton boşluğuna verilmekte, sonrasında oluşan konsantrasyon gradiyenti ile toksinlerin plazmadan diyaliz sıvısına geçmesi sağlanmaktadır. Dünyadaki diyaliz hastalarının %15 i bu şekilde tedavi olmaktadır (1,2). Kısa dönem sonuçları (3-5 yıl) göz önüne alındığında hasta sağ kalımı hemodiyaliz ile benzer bulunmaktadır (3,4). 10 yıllık yaşam süresinin karşılaştırıldığı çalışmalarda hemodiyalize göre eşit yada daha iyi olduğu gösterilmektedir (5-6). Yaşlı hastalarda yaşam kalitesi açısından periton diyalizi ile hemodiyaliz arasında fark bulunmamaktadır (7).

SAPD, uzun dönemde periton membranında yapısal ve işlevsel değişikliklere neden olarak diyalizin etkinliğini ve kullanımını kısıtlamaktadır. Diyaliz solüsyonları ve tekrarlayan peritonit atakları sonucu periton zarı hasarlanmakta ve peritoneal fibrozis gelişmektedir (8). Histolojik incelemelerde peritondaki vasküler morfolojik değişikliklerin diyabetik mikroanjiyopatiye benzer olduğu gösterilmiştir. TGF- β 1 in inhibe edilmesiyle diyabette görülen proteinürinin azaltıldığı saptanmıştır (9,10). Diyaliz solüsyonları ,içerdikleri yüksek glukoz konsantrasyonu ve bu glukozun parçalanması ile oluşan glukoz yıkım ürünleri ile periton zarının fonksiyonunu ve geçirgenliğini olumsuz yönde etkilemektedir (11,12). Yapılan hayvan çalışmalarında Transforming Growth Faktör- β 1(TGF- β 1) ve Vascüler Endothelial Growth Faktör (VEGF) ünün fibrozis ve yeni damar oluşumuna neden olarak bu yapısal değişikliklerde rol oynadığı gösterilmiştir (13,14,15).

SAPD hastalarında immunolojik değişiklikler de meydana gelmektedir. Uzun dönemde, peritoneal makrofajlar giderek immatür hale gelmekte, bakterisidal etkileri azalmakta, kemotaktik aktiviteleri ve Transferrin Reseptör Ekspresyonu (TfR) artmaktadır (16). SAPD hastalarının birinci yıl sonunda peritoneal makrofajlarından TNF- α ve IL-6 nın salınımının arttığı gösterilmiştir (17). Mezotel

hücreleri, Interlökin-1(IL-1), Intelökin-6 (IL-6), Intelökin-8 (IL-8) ve prostaglandin sentezlerken, periton makrofajları TNF- α üreterek mezotel hücrelerini tetiklemektedir (18,19). TNF- α immun cevap sırasında IL-6 dan daha önce üretilir. Bu nedenle peritonit başlangıcında TNF- α nın , infeksiyonun geç evresinde ise IL-6 nın seviyesi yüksektir (20).

Periton diyalizinin hayvan deneyi modelleri hem periton transport fizyolojisi hem de yeni diyaliz solüsyonlarının biyouyumluluklarının test edilmesi için kullanılmaktadır. Bu çalışmaların çoğu kısa süreli ve üremik olmayan modellerde yürütülmektedir. Kronik periton diyaliz modelinin zor, zaman alıcı ve pahalı olması nedeniyle literatürde bu konuda çok az çalışma bulunmaktadır. Halbuki fonksiyonel ve yapısal olarak üremik periton hücreleri normal hücrelerden farklıdır (21,22,23).

Son yıllarda astım bronsiale, sistemik mastositoz, interstisyel sistit tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılan lökotrien antagonistlerinin antikemotaktik, anti inflamatuvar ve antivazospastik etkilerine dair yayınlar mevcuttur (24). Bu çalışmada amacımız lökotrien antagonistlerinin hipertonic diyaliz sıvısına bağlı gelişen periton fibrozisine etkisini değerlendirmektir. Bu amaçla kronik periton diyaliz modeli oluşturulan üremik sıçanlarda lökotrien antagonistlerinin TGF- β 1,VEGF sentezini inhibe edip etmediği ve peritonun morfoloji ve fonksiyonlarını nasıl etkilediği araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Kronik böbrek yetmezliğinin tedavisinde hemodiyaliz ve transplantasyonun yanı sıra SAPD’de renal yerine koyma tedavilerinden biridir. Uzun süredir bilinen ama akut amaçlı geçici bir hastane yöntemi olarak kullanılan periton diyalizi, 1976 yılında Moncrief ve Popovich’in peritona geçici bir kateter koymaları ile kronik amaçla kullanılan bir yöntem olarak tanımlanmıştır (25). Günümüzde dünyada 750 000 civarında olan diyaliz hastalarının, 1997 yılı sonu göz önüne alındığında 115 000’i yani %14’ü SAPD hastasıdır. Bu oran ABD de % 17, İngiltere de %50, Meksika da % 90, Almanya da % 8 civarındadır. Ülkemizde ise bu oran %12 dir. 2002 yılı sonu rakamlarına göre 67 merkezde 2556 hasta SAPD programında bulunmaktadır (26,27,28).

2.1. PERİTON DİYALİZİ

2.1.1 Tarihçesi

Tarihte periton boşluğunu ilk fark edenler eski Mısır’daki mummyacılar olmuştur. Cunningham M.Ö. 3000 de periton boşluğunun mutlak bir boşluk olduğunu ve içinde barsakların bulunduğunu rapor etmiştir. Antik dönemde Bergama’da yaşayan ünlü hekim Galen, gladyatörlerin yaralarını tedavi ederken abdomenin tanımını yapmış ve periton boşluğunun ve periton zarının ayrıntılarını belirtmiştir (25). Periton lavajı fikri ilk kez bundan 150 yıl kadar önce Christopher Warrick (İngiltere) tarafından refrakter asitlerin kesin tedavisinde yeni ve kesin bir yöntem olarak ortaya atılmıştır. Sonraları bu alandaki çalışmalar devam ettirilmiştir. Alman klinisyen Ganter, geleneksel periton diyalizinin temelini atan ilk araştırmacı olmuştur. Uterus kanserine bağlı obstrüktif üropatiye ikincil olarak üremi gelişen bir hastada periton boşluğuna 1.5 litrelik tuz solüsyonu vererek hastanın semptomlarını geçici bir süre düzeltmiştir (25). Sonraki yıllarda, teknolojik gelişmelerle bu tedavi daha güvenli ve kolay uygulanabilir bir düzeye gelmiştir.

2.1.2. Periton Membranının Anatomisi ve Fonksiyonları

Periton zarı seroza olarak bilinen doku yapılarına benzer hücresel ve histolojik özellikler taşımaktadır. Kan ve diyalizat arasındaki ana bölmeyi oluşturan periton membranı başlıca iki kısımdan oluşmaktadır.

1-Parietal periton:Karın duvarı,pelvis ve diyafragmayı örter. Membranın % 10 unu oluşturur.

2-Visseral periton:Karaciğer,dalak ve gastrointestinal sistemin karın içindeki bölümünü örter.% 90 ını oluşturur.

Yetişkinlerde periton membranının ortalama yüzey alanı 1-2m² dir.Periton membranı 3 kısımdan oluşmaktadır.Bunlar peritoneal boşluktan başlayarak sırasıyla

1-Mezotelyum:Tüm periton boşluğu tek katlı, visseral yüzeyi villuslarla kaplı, mezengiyal kaynaklı squamöz epitel tabakası ile örtülüdür. Mikrovilluslar 2-3 mikron uzunluğunda ve 0.8 mikron kalınlığındadır. Mezotel hücreleri endoplazmik retikulumlarından sitokinler, fosfolipidler, glikoproteinler, glukozaminoglikanlar ve fibrinolitik ve koagulyasyonda rol alan proteinler üretmektedirler (11,12,29).

2-Bazal membran:Mezotel hücrelerinin altındadır. Bu hücreler tarafından yapıldığı ileri sürülen bu ince yapı tip IV kollajen ,proteoglikanlar ve laminin gibi glikoproteinleri içermektedir.

3-İnterstisyum:Mezotel altı bağ dokusu, tip I ve tip III kollajen lifleri, elastin, fibronektin, hyaluronan, proteoglikanlar, kan damarları, lenfatikler, fibroblastlar, doku makrofajları ve mast hücrelerini içermektedir.

İnsanlarda istirahat halinde abdominal kan akımı 1000-2400ml/dk arasındadır. Periton membranının kan akımı 1-2 ml/dk/kg arasında değişmektedir. Tüm periton diyafram altı bölgede daha belirgin olmak üzere lenfatik ağla kaplıdır. Lenfatikler sıvı, solüt ve makromoleküllerin peritoneal boşluktan alınıp sistemik dolaşıma katılmasında oldukça önemli rol oynamaktadır. Periton lenfatiklerinin ortalama absorpsiyon hızları 1.2-2.4ml/kg/saat arasında değişmektedir. Bu miktar ultrafiltrasyon yetmezliğine(UF) neden olduğundan önemli kabul edilmektedir (30,31).

2.1.3. Periton Diyalizi İşlemi

Periton diyalizinde mezotel altı kapiller ağ ile periton boşluğu içindeki diyalizat arasında sürekli bir madde alış verişi vardır (32). Diyaliz mezotel hücre yüzeyiyle ,periton kapiller endotel hücrelerinin iç yüzeyi arasında olur (33). Peritoneal kapillerlerden diyalizata solüt transportu başlıca diffüzyon ve konveksiyon ile olmaktadır. Diffüzyonda, moleküllerin yer değiştirmesine yol açan kuvvet membranın iki yanındaki konsantrasyon farkıdır. Konveksiyonda ise moleküller suyla birlikte yer değiştirirler ve membranı aşan molekül sayısı yer değiştiren suyun miktarına bağlıdır (34). Önceki çalışmalarda diffüzyonun daha önemli olduğu ileri sürülürken, sodyum klirensini incelemek için yapılan bir çalışmada solüt transportunda konveksiyonun çok daha önemli olduğu gösterilmiştir (35). Solüt transportu, konsantrasyon gradiyenti, molekül büyüklüğü, peritonun geçirgenlik özelliği ve yüzey alanı, bekleme süresi ve solütün elektrik yüküne bağlı olarak değişmektedir.

Sıvı transportu hidrostatik ve osmotik basınçlar ve lenfatik akım tarafından belirlenir. Ultrafiltrasyon hızı, peritonun sıvı geçirgenliğine, efektif yüzey alanına, ozmotik ajanın konsantrasyon gradiyentine, hidrostatik basınç gradiyentine bağlı olarak değişmektedir. Diyaliz başlangıcında glukozun konsantrasyon gradiyenti yüksek düzeyde olduğu için UF hızı da maksimum düzeydedir, diyaliz sonuna doğru giderek azalmaktadır (36).

2.1.4.a Periton Fibrozisi ve Ultrafiltrasyon Yetmezliği

Glukozun ozmotik ajan olarak kullanılmasıyla hidrostatik basınca bağlı olarak suyun kapillerlerden periton boşluğuna sızmasına ultrafiltrasyon (UF)denir.Ultrafiltrasyon yetersizliği (UFY), PD tedavisini sona erdiren en önemli faktörlerden biridir ve yıllar içinde sıklığı artmaktadır (37). Günde üç veya daha fazla %3,86 dekstroz sıvı kullanılmasına karşın sıvı dengesi kurulamıyor ise klinik olarak UF kapasitesinin kaybindan söz edilir. Ultrafiltrasyon sorunlarının bir yıldan sonra SAPD hastalarının % 3'ünde, altıncı yıldan sonra ise % 31'inde bulunduğu bilinmektedir (38).

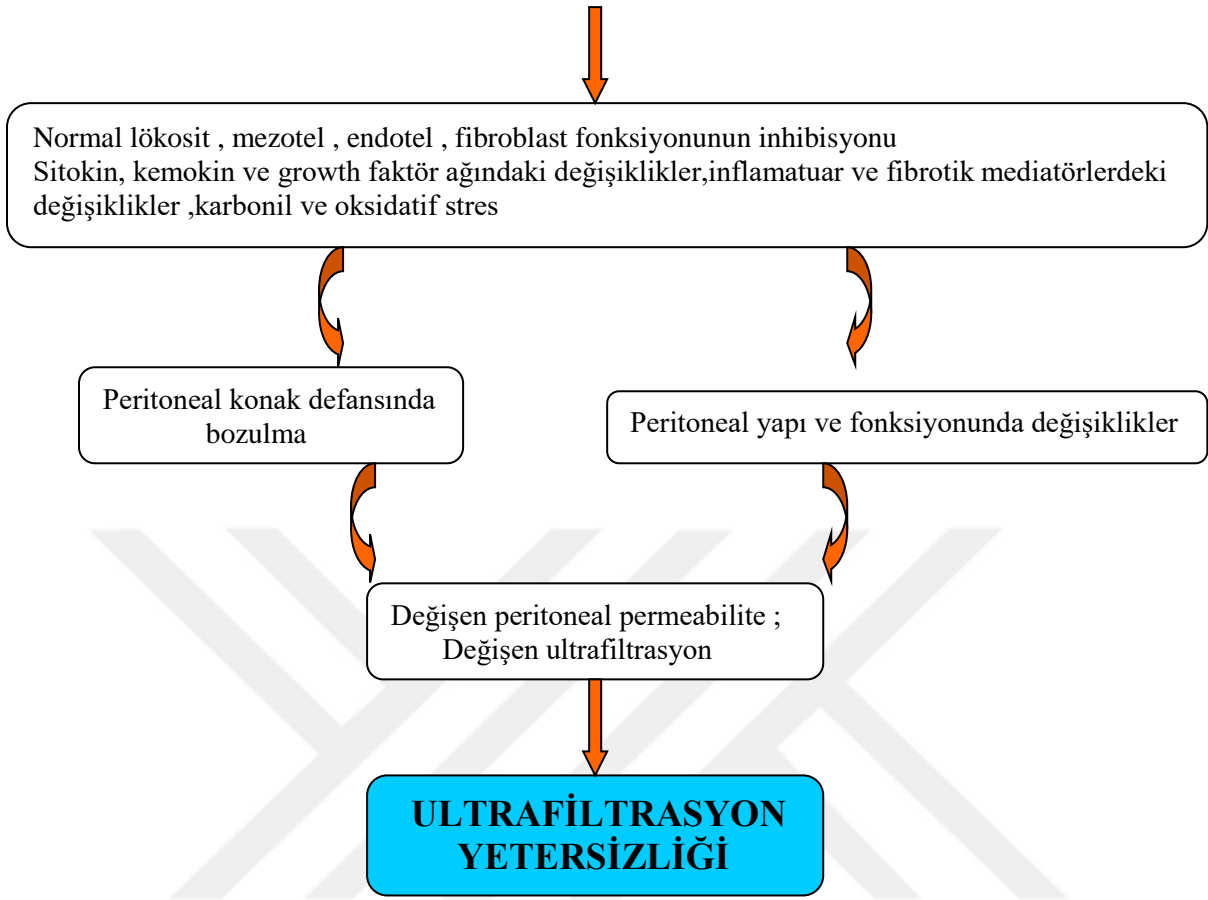
Ultrafiltrasyon yetersizliği için 3 neden olabilir.

1.Tip I UF Yetmezliği:Uzun dönem SAPD hastalarında daha sık görülen nedendir. Periton zarının aşırı geçirgen olması nedeniyle diyalizattaki glukozun hızlı absorpsiyonu asıl nedendir. Glukoz büyük ölçüde kana geçer ve UF için gerekli plazma- diyalizat ozmotik gradiyenti sürdürülemez. Hastaların Peritoneal Equilibration Test (periton eşitleme testi=PET) sonuçları yüksek veya yüksek-ortadır.

2.Tip II UF Yetmezliği:Daha az sıklıkta görülmektedir.Peritoneal yüzey alanının azalması sonucu UFY gelişir.Burada peritonun glukozu karşı geçirgenliği normal veya azalmıştır.Solüt transport bozulmuştur. PET testine göre bu hastalar düşük transport sınıfına girerler.Tedavisi olmayan bu durumda hasta hemodiyalize programına aktarılır.

3..Tip III UF Yetmezliği:Periton zarında devamlı geriye doğru lenfatik akım vardır. Artmış lenfatik absorpsiyon, UFY den sorumludur.Artan intraabdominal basınç, hiperventilasyon, supin postür, kimyasal peritonit neden olabilmekle birlikte lenfatik drenaj net olarak hesaplanamadığından yorum yapmak oldukça zordur (30).

PD sırasında zamanla ortaya çıkan peritondaki morfolojik değişiklikler, hastada UF yetersizliğine neden olmaktadır (Şekil 1)



Şekil-1:Periton ve Ultrafiltrasyon yetmezliği

2.1.4.b.Periton Fibrozisi ve Periton Diyalizi Solüsyonları

Normal insanlarda peritonun scanning veya transmission elektron mikrografları kullanılarak yapılan periton mezotel hücre analizlerinde, mezotel hücre yüzey kaplamasının, yüzey mikrovilluslarının ve submezotelyal kompakt zondaki damar yapılarının korunduğu, hücrelerin poligonal görünümde olduğu, vaskülopatinin olmadığı gösterilmişti. Yine aynı çalışmada SAPD hastalarında pariyetal mezotelinin %18 kaybolduğu, üremiklerden farklı olarak hücrelerde çekirdek yoğunluğunun kaybı ve sitoplazma içi organellerin azalması ile karakterize dejenerasyon, submezotelyal kompakt zon kalınlığında belirgin artış saptanmıştır (30).

2.1.4.c. Periton Diyalizi ve İnflamasyon

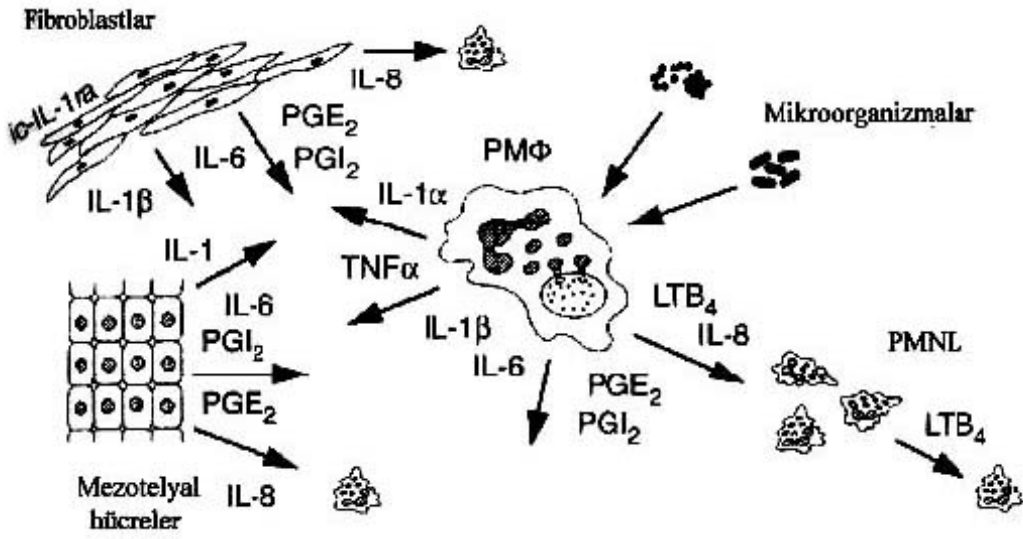
Biyopsi veya otopsi çalışmaları 1 ay ile 8 yıl arasında SAPD uygulanan hastaların periton membranlarında bazı değişiklikler olduğunu göstermiştir. Bunlar interstisyel kalınlaşma, mezotel hücre kaybı, devam eden inflamasyon ve adezyon oluşumu, vasküler yapılarda ise bazal membranlarda kalınlaşma, reduplikasyon, kapiller lümenlerin obstrüksiyonuna varan değişikliklerdir. Sıçan peritonuna diyalizat verilmesi halinde, buraya makrofajların geldiği ve bu makrofajlarında aktive olduğu görülmektedir. Normal periton kavitesi doku makrofajlarının oluşturduğu lökositleri, mezotel hücreleri ve interstisyel fibroblastları içermektedir. İnflamasyonla birlikte nötrofiller, monositler, T ve B lenfositlerde kavitede yerlerini alırlar.

İnflamasyon halinde diğer organ sistemlerinde olduğu gibi, akut peritoneal inflamatuvar atak bir seri reaksiyon başlatır.

1-Başlangıç fazı:Dokudaki fagositlerin aktivasyonu ile oluşur.

2-Mezotelyum fazı:Mikroorganizma veya bunların sekrete ettikleri maddelerle gelişir.

3-Amplifikasyon fazı:Mezotel hücre aktivasyonu, peritoneal makrofajlardan salınan proinflamatuvar sitokinler (IL-1 β ve TNF α) önemli rol oynarlar.Bu olay çeşitli kemotaktik sitokinlerin(IL-6,IL-8) oluşumu ile sonuçlanarak inflamatuvar hücrelerin burada toplanmasına yol açar. Bu infiltrasyon lökosit spesifik adezyon moleküllerinin (ICAM-1 ve VCAM-1/2) up-regulasyonu ile sağlanır (39). Peritoneal makrofajlar savunmanın ilk hattını oluşturur. Bu makrofajlar sitokin salınımında önemli rol alır. Kemotaktik faktörler, lökotrienler, IL-8 salar ve nötrofillerin akımına yol açarlar.Daha önemlisi bu aktive makrofajlar çeşitli growth faktörler salarak proliferatif ve fibrotik aktiviteyi de artırırlar (40,41).(Şekil 2)



Şekil -2:Periton inflamasyonu sırasında sitokin kaskadı.

SAPD hastalarının sıvılarından elde edilen makrofajlarla yapılan çalışmalar, bunların primed hücreler olduğunu göstermiştir. Böylece hem intraperitoneal proinflamatuvar sitokin üretim yetenekleri, hemde diğer hücre populasyonunu aktive etmelerini kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Konakçı defansında mezotel hücreleri çeşitli sitokinler oluşturarak rol oynar. Mezotel adezyon molekülleri ve kemokinler salgılayarak lökosit migrasyonuna yol açar. Yani makrofaj ve mezotel hücreleri hem proinflamatuvar hemde inflamatuvar medyatörleri dengeleyerek konakçı defansı sağlamaktadır (42).

2.1.4.d. Periton Diyalizi Solüsyonlarının Peritona Etkisi

Histolojik değişiklikler

PD solüsyonlarında ozmotik ajan olarak glukoz ve farklı konsantrasyonlarda laktat, sodyum, potasyum ve kalsiyum bulunmaktadır. Laktat bazlı solüsyonların Ph'ları 5-5,5 arasındadır. Solüsyonun hiperozmolar ve asidik pH da olması solüsyonun biyouyumluluğunu bozmaktadır (43).Bu nedenle hipertonic,asidik diyaliz solüsyonlarına sürekli maruz kalma, ayrıca diyalizatların sık değişimi ile meydana gelen bakteriyel veya kimyasal peritonit, batin içindeki kateterin sürekli irritasyonu, periton membranında yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır (44).

Bu yapısal değişiklikler ;

a-) Pariyetal peritonda kahverengiye çalan bir renk değişimi

b-) Mezotel hücrelerinin kaybı

c-) Submezotelyal kompakt zon kalınlığında artış,ekstraselüler matris birikimi ve fibrozis

d-) Küçük damar aterosklerozundan venül değişikliklerine kadar uzanan vasküler değişiklikler ve damar sayısında artıştır.Arter ve venlerde subendotelyal hyalin birikimi ve mezotel bazal membran ,kapillerlerde diabetik değişiklikler de tanımlanmıştır. Aynı zamanda omentum, mezenter, karaciğer yüzeyinde de damar gelişimi ve endotel hücre tabakası kalınlaşması olmaktadır (13,45,46,47,48).

Periton membranında yıllar içinde ortaya çıkan bu değişikliklerin nedenleri şunlardır;

1-Sık tekrarlayan peritonit atakları

2-Sıvı torbaları içindeki plastik partiküller

3-PD solüsyonlarının biyo-uyumlu olmaması,

a) asit pH (3-5)

b) laktatın fizyolojik sınırların üzerinde olması (40mmol/L)

c) yüksek glukoz içeriği(75-214mmol/L) ve bununla bağlantılı olarak yüksek osmolalite(334-486mOsmol/L)

d) ısı ile sterilizasyon sırasında oluşan glukoz yıkım ürünleri(glucose degradation products GDPs):Hidroksi metil furaldehit (51MF), 3asetilakrilik asid (3AAA), Levulimik asid (LA), Formik asid (FA)

4-Kronik olarak yerleştirilen PD kateteri

5-Çok miktarda sıvının peritona verilmesi (49).

Bu sayılan etiyojik faktörlerin periton yapı ve fonksiyonunu nasıl bozduğu tam olarak anlaşılammıştır. Ancak mezotel hücre ve makrofajlardan salınan büyüme faktörleri ve sitokinlerin fibrozis gelişiminde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir. Glukoz, mezotel ve peritoneal vasküler yataktan sistemik dolaşıma geçerek, lökositlerde ve mezotel hücrelerde hayati işlevleri ve kemokin salınımını bozmaktadır. Ayrıca angiogenik ve profibrotik büyüme faktörleri ve sitokinlerin üretimini tetikleyerek fibroze neden olmaktadır (50,51,52). (Şekil 3)

Mezotel hücreleri extraselüler matrix proteinleri ile TGF β 1ve IL-1 sentezini arttırırken, makrofajlarda TGF- β 1, IL1, PDGF, TNF- α gibi fibrojenik sitokinlerin yapımını arttırmaktadır. Bu sitokinler fibroblastları uyararak ESM sentezini arttırmaktadır. Bu sitokinlerden en fazla profibrotik olanı TGF- β 1 dir.TGF- β 1 ESM proteinlerinin yapımını arttırırken yıkımlarını engellemektedir Yapılan in-vitro çalışmalarda mezotel hücrelerinin glukoz konsantrasyonları ile doğru orantılı olarak TGF- β 1 salgıladığı rapor edilmiştir (53).

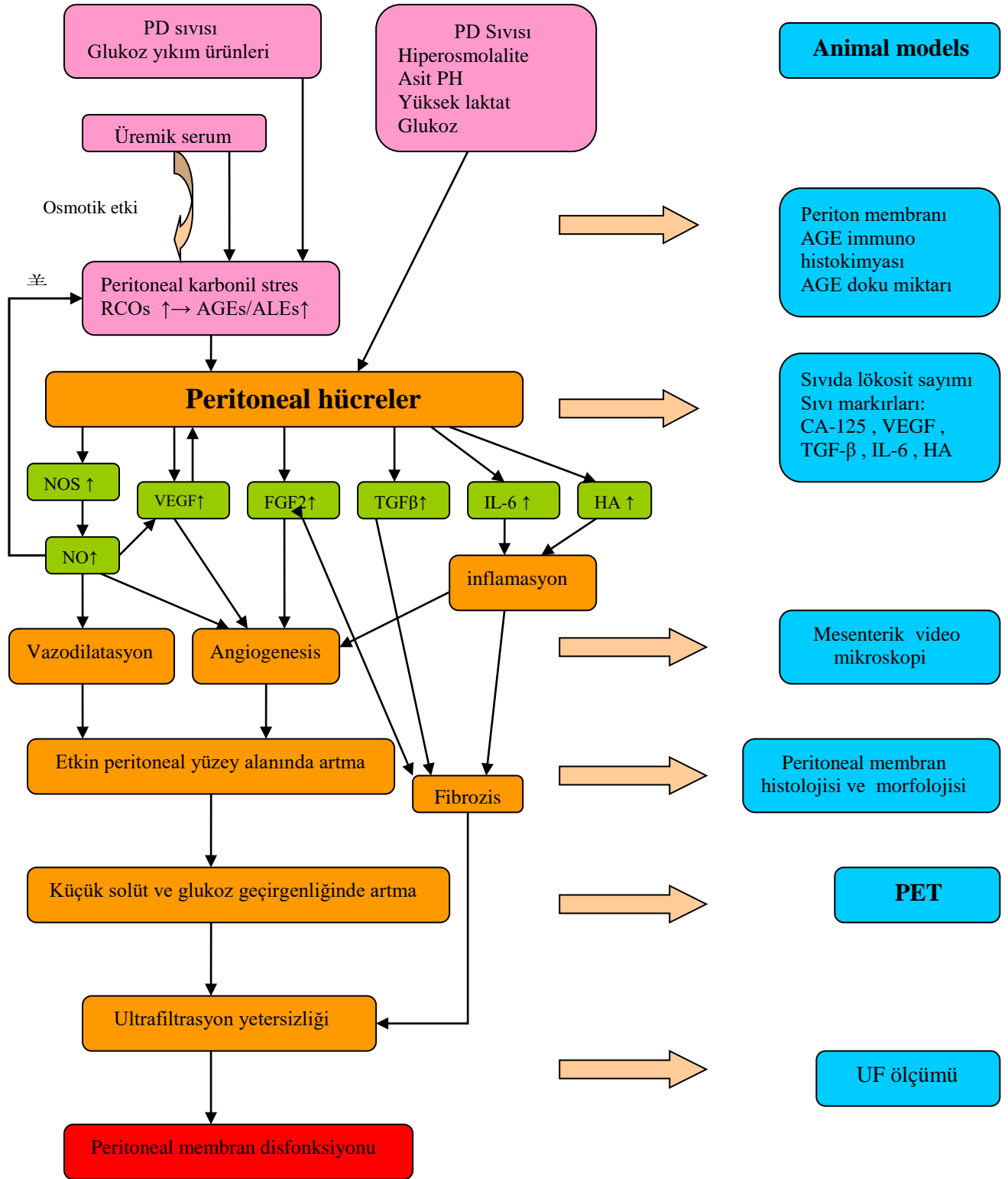
Son yıllarda daha fizyolojik ve inflamasyona yol açmayan biyoyumluluğu yüksek solüsyonların uzun dönemli kullanımının bu komplikasyonları önleyebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle bikarbonatla tamponlanmış, nötral pH'a sahip ve GDP seviyesi azaltılmış olan solüsyonlar üretilmiştir. Bu sistemde glukoz ayrı bir kompartmanda ve düşük pH da ısı ile sterilize edilir. Diğer kompartmanda ise bikarbonatla tamponlanmış elektrolit solüsyonu bulunmaktadır. Kullanımdan hemen önce odacıkların içeriği karıştırılır. Hayvan çalışmalarında, bikarbonatla tamponlanmış PD solüsyonlarının mezotel hücre fonksiyonlarını koruduğu, periton arteriyollerinde vazodilatasyon yapmadığı,UF, iştah ve lökosit göçünün gelişmesinde pozitif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (54-57).Ayrıca biyoyumlu sıvıların kullanımı ile peritoneal inflamasyonunun göstergesi olarak

kabul edilen ve IL-1 β ve TNF α ' a cevap olarak peritoneal mezotel hücrelerinden üretilen IL-6 düzeylerinin de azaldığı izlenmiştir (58).

İmmunolojik değişiklikler

PD solüsyonları omentumda, peritondaki inflamatuvar olaylara cevap olarak gelişen, immün hücrelerin lokal kümeleşmesi olarak tanımlanan milky spot cevabına neden olmaktadır. Peritonda nötrofil ve lenfosit yüzdesi azalarak periton hücrelerinin bakteri temizleme kapasitesi azalmaktadır (59).





Şekil-3:Uzun dönem PD hastalarında membranda yapısal ve fonksiyonel değişiklikte rol oynayan mediatörler (Kidney Int 2003,(Suppl 88):64;50-56'dan alınmıştır).

2.2. LÖKOTRIEN RESEPTÖR ANTAGONİSTİ VE SENTEZ İNHİBİTÖRLERİ

2.2.1. Tarihçesi

Lökotrienlerin ilk keşfi 1930 lu yıllara kadar uzanmaktadır. Kellaway ve Feldberg kobaylarda kobra zehiriyle temastan sonra akciğerlerden salınan ve gastrointestinal sistemle hava yolu düz kasında uzun süreli, yavaş etkili bir kontraksiyona neden olan bu maddeye slow- reacting substance (SRS)adını vermişlerdir. 1958 de Brocklehurst bu maddenin anafilaktik bir etkileşim sonucu salındığını bulmuş ve SRS ye anafilaksinin A sınıfı ekleyerek slow- reacting substance of anaphylaxis (yavaş reaksiyon gösteren anafilaksi maddesi) olarak yeniden isimlendirmiştir. Sonraki yıllarda Altounyan SRS-A antagonisti olarak GR 4 adını verdiği bir molekül sentezlemiştir.GR4 bugün SRS-A antagonisti olarak geliştirilmeye çalışılan asetofenon türevlerinin prekürsörüdür (60).

1979 ve 2000 yıllarında SRS-A maddesinin yapısı aydınlatılmış ve lökotrien C₄,D₄,E₄tanımlanmıştır.SRS-A molekülünün, AA'in 5 lipooksijenaz yolu ile metabolize olması sonucu ortaya çıkan madde ile aynısı olduğu gösterilmiş ve bu molekül sisteinil lökotrien olarak adlandırılmıştır (61). Lökositlerden salınan bu maddenin karbon iskeleti seri olarak 3 tane çiftli bağdan meydana gelmektedir Bu yapı 5 lipooksijenaz yolu olarak bilinen lipid metabolizmasının oksidatif yolu için anahtar rol oynamaktadır. Güçlü bronkokonstrüksiyon özelliklerine ilaveten 5 lipooksijenaz ürünleri, doku ödemi (62), eozinofil göçüne (63), düz kasların ve hematopoetik hücrelerin çoğalmasına (64,65,66) neden olmaktadır.

İlaç endüstrisi astım başta olmak üzere immunolojik hastalıkların tedavisi için potansiyel ilaçlar olabilecek lökotrien inhibitörlerinin ilaç olarak üretilmesi için büyük yatırımlar yapmıştır. Bu çabaların sonucunda 1998'in başlarında 3 tane sisteinil lökotrien reseptör antagonisti olan montelukast(Singulair MSD,MK-0476),pranlukast,(ONO-1078) zafirlukast (Accolate Zeneca Pharmaceuticals,ICI 204,219)(67) ve lökotrien sentez inhibitörü olan zileuton(Zyflo,Abbott Laboratories,Illinois A-64077) (68)kullanılmaya başlanmıştır.

2.2.2. Farmakokinetik ve metabolizma

Lökotrien inhibitörleri oral kullanıma uygun olup, çalışmamızda kullandığımız montelukast oral yoldan % 60 biyoyararlanıma sahiptir. %99'u plazma proteinlerine bağlanır. İlaç ve metabolitlerinin tamamı safra yoluyla atılır. Aç karnına alındığında 3 saat içinde tepe plazma konsantrasyonuna ulaşır. Hepatik mikrozomal enzim indükleyicileriyle birlikte kullanıldığında hafif ve orta derecede karaciğer ve böbrek yetmezliğinde doz ayarlaması gerekmemektedir (69).

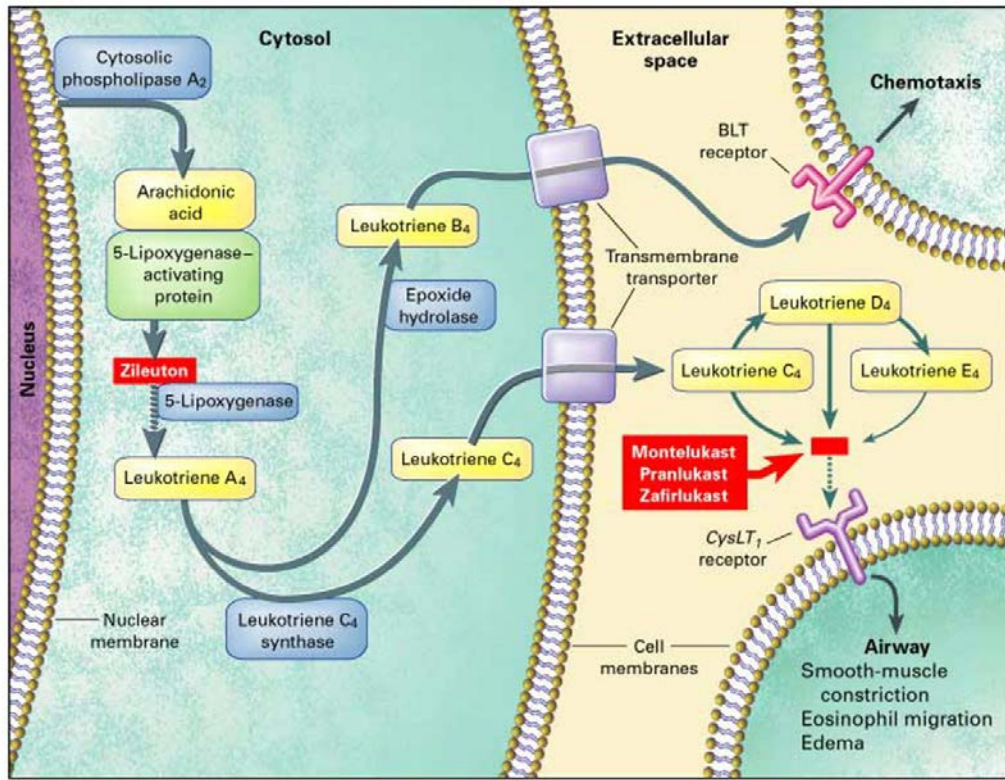
2.2.3. Toksikite

Montelukast ile bildirilen önemli bir yan etki yoktur. Teofilin, kortikosteroid oral kontraseptif, oral antikoagulanlarla birlikte kullanımında farmakokinetik etkileşim saptanmamıştır. Churg-Strauss sendromu, sistemik eozinofili olguları bildirilmiştir ancak nedensel bir ilişki bulunmamıştır (70).

2.2.4. 5 Lipooksijenaz Yolu

Araşidonik asit (AA) 5 lipooksijenaz yolu ile LT e dönüşen öncü bir yağ asididir. İnflamatuar süreçte geniş ölçüde yer alırlar. Akut inflamasyonda LT'nin katkısını belirleyen genetik faktörlerin olduğu ispatlanmıştır (71,72). Fosfolipaz A2 enzimi aracılığı ile AA sentezlenir (73). Böylece serbestleşen AA 5 lipooksijenaz (5-LO) aktive edici protein (FLAP) olan çekirdek membran protein tarafından 5 lipooksijenaz yoluna sunulur. LT in biyosentezi 5 lipooksijenazın AA üzerindeki ard arda gelen katalitik etkisi ile devam eder. Bu protein ile aktifleşen 5LO oksijenin AA ya eklenmesini sağlayarak 5 hidroksiperoksieikosatetraenoik asit 5HETE ve LTA4 oluşumunu sağlar (74). LTA 4 diğer LT in oluşumunda ana ayırım noktasıdır. Zileuton 5 lipooksijenazın katalitik dönüşümünü inhibe eder. LTA 4 kararsızdır ve eozinofil, mast hücresi, alveolar makrofajlarda hemen LTC4 veya LTB4 e döner. LTC4 özel bir transmembran taşıyıcısı ile hücre dışı boşluğa çıkartılır (75). Burada glutamik asit parçası LTC4 den çıkartılır ve LTD4

meydana gelir.LTD4 de hücre dışı dipeptidazlarla ayrıştırılır ve LTE4 oluşur.LTC4,LTD4 ve LTE4 sistein aminoasit içerdiği için bunlara sisteinil lökotrienler denir.Bunlar cys-LT1 reseptörüne bağlanarak bronşiyal düz kas üzerinde güçlü bronkokonstriktör etkisinin yanında, mikrovasküler kaçak,mukus oluşumu,dokularda eozinofil ve bazofil infiltrasyonuna da yol açarlar (74,76). Bu üçlü SRS-A nın temel yapı taşını oluştururlar.Bunlar hücre dışı boşlukta ve karaciğerde hızla inaktif ürünlere yıkılırlar.Nötrofillerde LTA4,LTA4 epoksid hidrolaz ile LTB4 e dönüşür.LTB4,sitokromP-450 ve 12 hidroksieikosanoid dehidrogenazı da içeren çok sayıda yollarla çok sayıda dokularda yıkılırlar (77,78,79,80). (Resim-1)



Resim-1:5-Lipooksijenaz yolu

2.2.5. Lökotrien Reseptörleri

Lökotrienler biyolojik etkilerini özel reseptörlere bağlanıp onu aktive ederek gösterirler. Sisteinil lökotrien reseptörlerinin 2 alt tipi (CysLT1- CysLT2) tanımlanmıştır (81). Noncys LT reseptörü (LTB 4) B LT reseptörü BLT olarak bilinir (82). Sisteinil lökotrienlerin çoğu etkileri CysLT1 reseptörü ile yapılır. Bu etkileri hava yolu düz kaslarının kontraksiyonu, kemotaksisi ve artmış damar geçirgenliğidir (83). Lökotrienlerin CysLT1 reseptörüne bağlanmasını bloke eden kimyasal olarak birbirinden farklı bir çok selektif antagonistler tanımlanmıştır (84). CysLT2 reseptörü pulmoner vasküler düz kasların kasılmasına aracılık eder. Ancak bu etki daha azdır. Endotel ve düz kas hücrelerindeki pulmoner vasküler sistemde bulunurlar. BLT reseptörleri daha çok kemotaksise aracılık eder (82). LT sentez inhibitörü olan zileuton ise AA metabolizmasının daha erken bir basamağı olan 5-LO basamağını bloke ederek cys LT in yanı sıra , HETE in ve LTB4 ün sentezini de bloke etmiş olur. Bu inhibisyon ek bir avantaj sağlayabilse de iki grup ilacın karşılaştırmalı çalışmaları yoktur (85). Sonuç olarak CYC LT ler akut ve kronik yapısal bozukluklara neden olabilecek mediatörlerdir. Bu yapısal bozukluklar inflamatuvar hücre infiltrasyonu, inflamatuvar mediatör salınımı, bazal ve subbazal membranın fibrozis ve kalınlaşması, epitel hasarı, ödem ve düz kas kontraksiyonudur (86). Bu bilgiler anti- LT lerin potansiyel tedavi edici gücünün araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

2.2.6.Lökotrien ve Periton

İnsan bronşial düz kas hücresi TGF- β 1, IL 13 veya IFN- γ a maruz kaldığında CysLT1 reseptör ekspresyonunda belirgin olarak artma gözlenmektedir. Bunun sonucu oluşan artmış proliferasyon selektif Cys LT1 reseptör antagonisti montelukast ile önlenilmekte ve LTD4 oluşamayıp sonuç olarak düz kas hücresinde proliferasyon önlenmektedir. Bu bulgular belli sitokinler ve CysLTs(cysteinil lökotrienler) arasındaki ilişkiyi göstermektedir (87). Ayrıca CysLTs, LTC4, LTD4, LTE4 proinflamatuvar lipid mediatörleridir. Bunlar farelerde, makrofaj ve mast hücreleri gibi hematopoetik hücrelerden üretilirler. CysLTs için farede 2 reseptör vardır. CysLTs ler akut inflamasyonun vasküler cevabında CysLT 1 reseptörünü kullanırlar (88). Kalsiyum ionophore ile periton inflamatuvar hücreleri ve lökositler uyarıldığında LTB4 ve LTC4 ün belirgin miktarda arttığına dair yayınlar bulunmaktadır. Rat periton inflamatuvar hücrelerindeki artmış LTB4 oluşumu bu maddenin akut inflamatuvar reaksiyondaki rolünden dolayı patofizyolojide önemli yer almaktadır (89). Yapılan araştırmalarda LT in makrofajlardan IL-6 nın üretimini artırdığı da gösterilmiştir (90). Bu süreçte artan lokal lökotrien düzeylerinin ciddi vazospastik ve kemotaktik etkiyle, başta makrofajlar olmak üzere diğer inflamatuvar hücrelerle birlikte periton fibrozisinde rolleri olduğu düşünülebilir. Lökotrien antagonistlerinin kullanımı sayesinde artan lökotrien düzeylerinin hücresel etkileri bloke edilerek, fibrogenesis'i uyaran vasospazm, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve dolayısıyla fibrojenik sitokin salınımının azaltılabileceği düşünülmüştür.

2.3.TRANSFORMİNG GROWTH FACTOR B1 1(TGF- β 1)

2.3.1.Yapısı

TGF- β 1;ilk defa 1984 yılında trombositlerden elde edilen çok fonksiyonlu bir sitokindir. Bu sitokinin memelilerde TGF- β 1,TGF- β 2 ve TGF- β 3 olmak üzere 3 tipi tanımlanmıştır. Doku hasarı durumunda salınımında artış saptanan TGF- β 1 ,fibrozisten asıl sorumlu olan tipidir (91,92).

TGF- β 1, 391 aminoasitle, aktif olmayan formda, öncül molekül olarak sentezlenir. Biyolojik etkisini gösterebilmesi için aktiflenmesi gerekir. Yüksek molekül ağırlığına sahip bu inaktif yapıdaki TGF- β 1, hücre yüzeyinde ve ekstraselüler matrix içinde depolanır, aktif forma çevrilir (91). Bu dönüşümde angiotensin II ve diğer bazı sitokinlerin rol oynadığı gösterilmiştir (93).

2.3.2. TGF- β 1 Reseptörleri

TGF- β 1, bir çok hücrenin yüzeyinde bulunan 3 farklı reseptöre bağlanarak etkisini gösterir (94). Bunlar;

Tip 1 reseptör ESM sentezi ve depolanması

Tip 2 reseptör hücre proliferasyonu ve büyümesi

Tip 3 reseptör TGF- β 1 i diğer reseptöre sunar ve sinyal üretme mekanizmasında da rol almaz (95).

2.3.3.Biyolojik Etkileri

Doku hasarında ilk yanıt olarak hasar bölgesine gelen trombositlerden bol miktarda TGF- β 1 salgınır. Aktif olmayan form ESM de birikip aktif forma dönüşür. Aktiflenen TGF- β 1 nötrofiller, T lenfositler, monositler ve fibroblastlar üzerindeki güçlü kemotaktik etkiyle bu hücrelerin hasar bölgesine göç etmesini sağlarken ,bu hücrelerin proliferasyonunu da artırır (91). Monositler,Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF),Tumor Necrosis Factor (TNF)ve Interlökin 1 sentezlerken; fibroblastlarda ESM proteinlerinin sentezini artırır (96). TGF- β 1, trombositlerden plateled-derived growth factor (PDGF), endotel hücrelerinden VEGF ve monositlerden

salınan TNF ve IL1 salınımını düzenleyerek doku onarım sürecini tüm aşamalarda kontrol eder (97,98). TGF- β ESM sentezi ve yıkımında etkili önemli bir sitokindir. ESM ,laminin, fibronektin, kollajen tip 1, tip 3, tip 4 ve proteoglikan moleküllerinden oluşan bir yapı olup, hücreler integrin reseptörleriyle bu yapıya sunulur (99). ESM devamlı olarak yıkılır ve yeniden sentezlenir. ESM yıkımından proteaz enzimleri ve matrix metalloproteinaz enzimleri sorumlu iken, ESM yapımından TGF- β 1 sorumludur. TGF- β 1 fibroblastları uyarıp matrix proteinlerinin sentezini artırır. ESM yıkımında rol alan proteaz enzimlerini inhibe ederek ESM birikimini artırır ve böylelikle fibrozisi başlatır (91,92). Glomerulonefritli hayvan modellerinde TGF- β 1 mRNA ekspresyonunun ,fibronektin ve proteoglikan düzeylerini arttırarak fibrozise neden olduğu (100), diabetik nefropatide görülen glomerulosklerozun patogeneğinde TGF- β 1 in artmasının rol aldığı gösterilmiştir (101,102). Son araştırmalarda, TGF - β 1 in mezenjial hücre hipertrofisi ve ekstrasellüler matriks artışı ile anjiotensin II ye bağlı glomerülosklerozun progresyonunda da rol oynadığını göstermiştir (103).

CAPD de kullanılan yüksek glukoz içerikli periton diyaliz solüsyonları, TGF- β 1 i ve periton mezotel hücrelerindeki fibronektini protein kinaz C aktivasyonu yoluyla up-regüle eder (104). Aynı zamanda yüksek glukoz, kültüre edilmiş periton mezotel hücreleri ile prokollajen I C-terminal peptide PICP ve prokollajen III N-terminal peptid PIIINP in sekresyonunu arttırabilir. PICP ve PIIINP periton ve diğer doku fibrozlarında marker olarak kullanılabilir (105,106).

Periton mezotel hücreleri peritoneal hasarın tamirine direk veya dolaylı olarak katılmaktadır.Direk olarak kendisi matriks sentezleyebilmektedir. TGF- β 1 salgısıyla, fibroblastların uyarılarak matriks sentezini arttırmasına neden olmaktadır.Ayrıca matriks metalloproteinazların sentezini arttırmaktadır (107).

Sonuç olarak; TGF- β 1 in artması sonucunda kollajen 1, fibronektin ve proteoglikan üretiminde artış meydana gelmekte ve doku fibrozisi gelişmektedir. TGF- β 1 fibrogenizisten sorumlu bir sitokindir. Bu nedenle fibrozis gelişiminde bu mediatörün salınımını azaltan yeni moleküller araştırılmaktadır. TGF- β 1 in uzun dönem PD hastalarında periton fibrozisini indükleyebileceği gösterilmiştir (104,108).

2.4.VASCÜLER ENDOTELİAL GROWTH FACTOR (VEGF)

2.4.1 Biyolojik Etkileri

Periton transport özellikleri ve yapısı üzerinde meydana gelen değişikliklerin mekanizması çok az anlaşılmış olmasına rağmen son çalışmalar VEGF nin periton membran permeabilitesindeki değişimde önemli rolü olabileceğini göstermiştir (109,110). Bir endotel hücre mitojeni ve etkili anjiojenik faktör olan VEGF, glukoz temelli PD sıvısı kullanan hastalarda peritonda lokal olarak üretilir ve uzun dönem periton diyalizinde periton kan damarlarını döşeyen endotelde up-regüle edilir (109,110,111).

VEGF, SAPD hastalarının peritonunda doğrudan indüklenebilir. Diyalizatın ısı ile sterilizasyonu sonucu oluşan glukoz yıkım ürünleri (GDP) mezotel hücrelerine toksiktir ve o hücrelerden VEGF üretiminde arttırlar (112).

Bir glukoz yıkım ürünü olan (GDP) ve klasik periton diyaliz solüsyonunda bulunan methylglyoxal a cevap olarak rat periton mezotel hücrelerinde VEGF ün sentezinin arttığı gösterilmiştir (113,114). Yüksek glukoz, vasküler endotelde,115 ve mezangial hücrelerde 116 VEGF ü up-regüle ederken, insan periton mezotel hücrelerinde VEGF sentez ve sekresyonunu uyarıp uyarmadığı bilinmemektedir (114). Ancak yapılan son çalışmalarda, glukoz solüsyonlarının, kültüre edilmiş insan periton mezotel hücrelerinde VEGF sekresyonunu arttırdığı, sıçan mezotel hücrelerinin TGF- β 1'e maruz kalmasının ise VEGF proteininde ve mRNA üretiminde artışa neden olduğu gösterilmiştir (109,110,117,118).

VEGF endotel hücreleri için mitojendir,vasküler permeabilite faktörüdür ve angiogenesisi indükler (119,120). VEGF aynı zamanda periton vasküler yüzey alanını yansıtan ölçümlerle koreledir (109).

Böbrek yetmezliği ve periton diyalizi,peritonu inflamatuvar mediatörlere maruz bırakmakta 121 ve bu olay da TGF- β gibi profibrotik sitokinlerin ekspresyonunu tetiklemektedir.Burada periton mezotel hücrelerinin rolü vardır çünkü yüksek konsantrasyonda glukoz içeren periton diyaliz sıvıları mezotel hücrelerini etkilemektedir (53).

Yapılan çalışmalarda periton diyalizi süresinin uzaması ile diyalizatta TGF- β konsantrasyonunun arttığı (122,123) ve bunun da periton membran solut transportuyla bağlantılı olduğu gösterilmiştir(124).

Sıçanlarda peritona adenovirus aracılı aktif TGF- β 1 gen transferi verilerek yapılan çalışmalarda TGF- β 1 in geçici fazla ekspresyonunun periton fibrozuyla uyumlu histolojik değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. Diyalizat VEGF konsantrasyonlarında, TGF- β 1 aracılı bir artış ve artmış damarlanma, submezotelyal zone kalınlaşması ve interstisyel kollajen depolanmasında artma olmuştur (15). Periton membran fonksiyonundaki değişiklikler VEGF e bağlı olarak gelişmekte ,yeniden damarlanma azaldıkça ortadan kaybolmaktadır. Bu nedenle uzun dönem CAPD altında olan hastalarda periton membran yetmezliğinin önlenmesi veya tedavisi için yeni ajanlara ihtiyaç vardır.

2.5. INTERLÖKİN-6 (IL-6)

IL-6 proinflamatuvar bir sitokindir. Lenfosit, monosit, fagositler tarafından IL-1 ve TNF- α 'nın etkisi ile salgılanır. Mezotel hücreleri interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-8 (IL-8), interlökin-6 (IL-6) ve prostaglandin sentezlerken , periton makrofajları TNF- α üreterek mezotel hücrelerini tetiklemektedir(17). Periton makrofajları, mezotel hücreleri ve lenfositlerden salınan sitokinler peritonite karşı savunmada önem taşımaktadırlar. Aktif haldeki makrofajlar peritonitin erken döneminde TNF- α salmakta, diğer sitokinler IL-1 β , IL-8, IL-6 daha sonra yükselmektedirler (125). Mezotel tarafından sentezlenen IL-8 ve IL-6; IL-1 β ve TNF- α tarafından uyarılmaktadırlar. IL-8 lökositlerin katılımında rol oynarken IL-6 da diğer sitokinlerin transkripsiyonunu inhibe ederek inflamatuvar yanıtı değiştirmektedirler. IL-1 β ve TNF- α tarafından aktif hale getirilen lenfositler IL-2 ve interferon γ (IF-gamma) salmaktadırlar. IF-8 makrofajların bakterisit (bakteri öldürücü) etkisini arttırmaktadır. IL-1 β makrofaj ve mezotel hücrelerinde prostoglandin E2 (PGE2) salınımını uyarmaktadır. PGE2 nin IL-1 β üretimi üstünde negatif-geri besleme etkisi vardır. Ek olarak IL-6, IL-8 ve PGE2 nin IL-1 α ve IL-1 β sentezini düzenleyici etkileri mevcuttur.

3.MATERYAL METOD

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarında, Mayıs 2004-Eylül 2004 tarihleri arasında yapılmış deneysel, ileriye dönük, randomize bir çalışmadır. Çalışma protokolü 'Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Etik Kurulu' tarafından onaylanmıştır.

3.1- Deney Hayvanlarının Seçimi

Çalışma, Marmara üniversitesi deney hayvanı laboratuvarında in-bred üretilen, 200-330 gr ağırlığında, yaşları 2-4 ay arasında değişen, 48 adet Wistar tipi erkek sıçan kullanılarak yapılmıştır. Sıçanlar, uygun ısı, nem ve aydınlatma koşullarına sahip laboratuvar ortamında, tekli özel kafeslerde tutulmuşlardır. Tüm sıçanların, çalışma süresince su tüketimleri ve standart laboratuvar yemiyle beslenmeleri serbest bırakılmış, günlük olarak tartılıp, sağlık durumları yakından gözlenmiştir.

3.2- Kronik Periton Diyalizi Modeli

Yetişkin, erkek Wistar sıçanlarında kronik böbrek yetmezliği, kısmi nefrektomi (5/6) ile cerrahi olarak gerçekleştirildi. Genel anestezi intraperitoneal yolla uygulanan 100mg/kg ketamin ve 3-5mg/kg klorpomazin ile sağlandı. Derin anestezinin sağlandığını gösteren kuyruk kıstırmaya yanıtın kaybolduğu görüldükten sonra operasyona başlandı. Sağ böbrek flank insizyonu ile çıkarılıp, anterior ve posterior polleri ve kalan kortikal dokunun üçte biri dış lateral böbrek yüzeyinden çıkarılarak % 85'in üzerinde böbrek dokusunun rezeksiyonu yapıldı (Resim-2). Sıçanlar operasyon sonrası kulakları kesilmek suretiyle işaretlendirildi. 1 hafta sonra tekrar genel anestezi uygulanan sıçanlara, orta hat abdominal insizyon yapılarak sol böbrek kan damarları ve üreter bağlanarak çıkarıldı. 4'lü gruplar halinde kafeslere konuldu. Dört hafta sonra, Miller, Findon ve Rowe'un tanımladığı şekilde silikon kateter (Haidylena venous fistula set – 16G, 35 mm, Lot No. 31316) karın boşluğuna yerleştirildi (126). Kateterin boyu

uygulanacak sıçanın boyuna göre ayarlandı ve kateterin distal ucuna bistüri yardımı ile 4-5 cm lik bölgeye 6-8 adet kama şeklinde delikler açıldı. Omentektomi yapılmaksızın, kateter subkutan bir trokarın yardımıyla cilt altı tünel yaratılarak hayvanın boyun kısmının arka tarafından ağızlaştırıldı (Resim-3). Batın 5cc heparinli serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra kateterin ağzı Luer-Lock adaptör ile kapatıldı. PD başlayana kadar her gün 10cc ısıtılmış heparinli serum fizyolojik ile batın yıkandı. Kronik periton diyalizi, kateter yerleştirilmesinden en az 1 hafta sonra uygulanmaya başlandı. Her sabah 20 mL ısıtılmış %3.86 dextroz içeren diyaliz sıvısı karın içine verilerek 3 saat süresince bekletildi. Her değişimin içine 2500Ü/L heparin, 125mg/L ceftazidim, 25mg/L ciprofloxacın konuldu. İlk üç saatlik değişimden sonra sıvı drene edildi. Kateter çıkış yeri enfeksiyonlarını engellemek amacıyla değişimden önce hayvanların kateter çıkış yerlerine Mupirosin sürüldü.

3.3-Çalışma Grupları

Diyaliz öncesi dönemde hayvanlar 3 guruba ayrıldı.

Grup 1: Kronik böbrek yetmezliği modeli geliştirilerek periton diyaliz kateterizasyonu uygulanan 8 sıçana deney sonuna kadar periton diyalizi uygulanmadan takip edildi. Oral gavajla serum fizyolojik verildi ve batın serum fizyolojik ile yıkandı.

Grup 2: Kronik böbrek yetmezliği geliştirilmiş 10 sıçana periton diyalizi % 3.86'lık solüsyon ile yapıldı ve oral gavajla serum fizyolojik verildi.

Grup 3: Bu gruptaki 11 sıçana % 3.86'lık solüsyon ve lökotrien antagonisti montelukast verildi.

3.4-İlaçlar ve Solüsyonlar

Çalışmada kullanılan montelukast(singulair 10mg tablet), serum fizyolojik ile dilüe edilerek 1mg/ml konsantrasyonunda solüsyon hazırlandı. 4mg/kg dozunda hesaplanarak oral gavajla eter anestezisi altındaki sıçanlara uygulandı.

Periton diyalizi solüsyonu olarak Dianeal %3.86 lık hipertonic sıvı kullanıldı. İçine 2500Ü/L heparin,125mg/L ceftazidim,25mg/L ciprofloxacın konuldu.

Kateter takıldıktan sonra, periton içini yıkamak için kullanılan serum fizyolojik ise içine 1Ü/ml olacak şekilde heparin konularak hazırlandı.

3.5- Çalışma Verilerinin Toplanması

Kronik böbrek yetmezliği modeli geliştirilerek periton diyaliz kateterizasyonu uygulanan sıçanlardan, kateter takıldıktan 1 hafta sonra yani üreminin 5. haftasında diyaliz öncesi eter anestezisi altında kuyrukları kesilerek kanları alındı. Diyaliz uygulamasının minimum 4 hafta boyunca sürdürülmesi planlandı. Birinci ayın sonunda, sıçanlar kreatinin klirensinin hesaplanması amacıyla metabolik kafese konulup, 24 saatlik idrarları biriktirildi. Metabolik kafeslerde 1gün aç bırakıldı ancak su içmelerine engel olunmadı. 24 saatlik idrarları toplandı ve hacimleri ölçüldü Kreatinin değeri ölçülmek üzere referans laboratuvarına götürüldü. Vücut ağırlığı tüm çalışma boyunca takip edildi.

24 saatlik metabolik kafes sonrası sıçanlara bir saatlik PET testi yapıldı, Diyalizat/Plazma üre, D_1/D_0 glukoz (D_0 :PET testinde kullanılan PD sıvısının peritona verilmeden önceki glukoz miktarı, D_1 geri alınan diyalizatın glukoz miktarı) Diyalizat/Plazma kreatinin (üremik olduğu için) glukoz, ultrafiltrasyon volümleri değerlendirildi. Sıçanlara 20ml, 37C sıcaklıkta %2.27 lik PD solüsyonu kateterden verildi. 55.dakikada eter anestezisi altında luer lok adaptöre serum seti bağlanarak diyalizat drene edildi. Kateteri olmayan sıçanlara orta hat insizyonu ile PD kateteri yerleştirildi. Kateter etrafından dışarıya diyalizat kaçmasına izin verilmedi. PD kateteri yardımıyla diyalizat boşaltıldı.

Yirmi dört saatlik idrar biriktirilmesinin ardından, eter ile derin anestezi oluşturulan sıçanlara, subxiphoid insizyon yapıp 18 no'lu iğne ile sağ ventrikül boşluğuna girilerek kan örnekleri alındı. Kan kuru tüpe, glukoz, üre, kreatinin, sodyum, potasyum çalışılmak üzere alındı. Kanlar bekletilmeden 3000 devirde 4dk santrifüj edilerek serum ayrıldı ve -20 C de daha sonra çalışılmak üzere saklandı.

Kan alındıktan sonra orta hat abdominal insizyon ile batın açılarak sıvı kalıp kalmadığına bakıldı kalan sıvılar enjektör yardımıyla boşaltıldı ve miktarı ölçüldü.

Pariyetal periton parçaları histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için uygun solüsyonlara konularak ve patoloji departmanına gönderildi.

3.6. Biyokimyasal Değerlerin Ölçümü

İdrar ve serum kreatinin, BUN, glukoz, değerlerinin ölçümleri, MÜTFH Merkez Biokimya Laboratuvarında 917 otoanaliser ile spektrofotometrik yöntemle yapıldı. (Boehringer Mannheim System, 917 Hitachi otoanaliser-Roche).

Kreatinin klirensi (ml/dk) ; idrar kreatinin düzeyi (mg/dl) x 24 saatlik idrar volümü (ml) / plazma kreatinin düzeyi (mg/dl) x 1440 formülü kullanılarak hesaplandı.

3.7-Verilerin Değerlendirilmesi

3.7.1.Fonksiyonel Çalışmalar

24 saatlik metabolik kafes sonrası sıçanlara bir saatlik PET testi yapıldı, Diyalizattan üre, kreatinin, glukoz, protein tayini yapıldı.Kandan ise üre ve kreatinin bakıldı.Verilen sıvı ile geri alınan sıvı farkı net UF olarak ölçüldü.D/P üre, D_1/D_0 , D/P kreatinin (üremik olduğu için) oranları değerlendirildi.

3.7-2.Histopatolojik Çalışmalar

Sakrifiye edilen deney hayvanlarından alınan pariyetal periton materyalleri %10'luk formol solüsyonu içerisinde saklanarak, patoloji laboratuvarına götürüldü. Histopatolojik ve immünohistokimya incelemesi , Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalında görev yapan bir renal patolog tarafından deney gruplarına kör olarak farklı zamanlarda iki kez bakılarak değerlendirildi.

Preparatlar hemotoksilen-eozin ve mason trikrom boyalarıyla boyandı. Histolojik olarak mezotel hücre sayısı ve reaktivitesi, inflamasyon, hyalinize vaskülopati, fibroblastik aktivite ve fibrozis ve yeni damar oluşumları bakımından incelendi.Submezotelyal kalınlık ölçüldü.

3.7.2 a. Hematoksilen-Eosin boyama

Periton mezotel hücrelerinin değerlendirilmesi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, yeni damar oluşumunu göstermek amacıyla kesitler Hematoksilen-Eosin boyası ile boyandı.

Parafin bloklardan elde edilen kesitler, 60°C'de 1 saat süreyle deparafinize edildikten sonra hidrate edildi. Hemotoksilen boyası ile 5 dakika boyandıktan sonra bol su ile yıkanarak %70 alkol içinde 30 saniye bekletildi. Daha sonra Eosin boyası ile 1 dakika süresince boyandı. Ardından tekrar dehidrate edilen kesitler, xylene alınarak kapatıldı.

3.7.2.b. Periodik Asit-Schiff (PAS) boyama

Peritondaki hyalinize vaskülopatiyi değerlendirmek amacıyla kesitler; Periodik Asit-Schiff (PAS) boyası ile boyandı.

Parafin bloklardan elde edilen kesitler 60°C'de 1 saat süreyle deparafinize edildikten sonra hidrate edildi. Daha sonra %0.5 periodik asitte 5 dakika bekletilen kesitler distile su ile yıkanıp, Schiff bazında 15 dakika daha bekletildi. Akan su altında 10 dakika yıkanan kesitler Mayer Hematoksilen boyası ile 5 dakika boyandıktan sonra bol su ile yıkanıp dehidrate edildi. Bu işlemlerden geçen kesitler xylene içine alınıp kapatıldı.

3.7.2.c. Trikrom-Masson boyama

Trikrom-Masson boyası ile fibroblastik aktivite, fibrozis değerlendirildi ve submezotelyal kalınlık mikrometre ile ölçüldü.

Parafin bloklardan elde edilen kesitler 60°C'de 1 saat deparafinize edildikten sonra hidrate edildi. Bouin's solüsyonunda 56°C'de 1 saat bekletildikten sonra bol su ile yıkanan kesitler Weigert Hematoksilen boyasında 10 dakika daha bekletildi. Bol su ile yıkanan kesitler Trikrom solüsyonunda 30 dakika bekletilip, %0.5 asetik

asit ile diferansiye edildi. Bir kez daha bol su ile yıkanıp ardından dehidrate edilen kesitler xylene içine alınıp kapatıldı.

3.7-3 İmmunhistokimyasal Çalışmalar

Sıçan peritonlarından hazırlanan kesitlerde VEGF, TGF-b ve IL-6 ekspresyonu, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji A.B.D. laboratuvarında immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak değerlendirildi.

Bu ekspresyonu göstermek için streptavidin biotin complex/horseradish peroxidase (Str.ABC/HRP) yöntemi kullanıldı.

Bu yöntemde, parafine gömülü dokulardan, 3-aminopropyltriethoxysilane (APES) ile kaplı lamlara 4µm kalınlığında kesitler alındı ve 37°C'de 1 gece deparafinize edildi. Ertesi gün üç farklı xylen'de 5'er dakika ve iki ayrı alkol solüsyonunda 10'ar dakika bekletilerek hidrate edildi. Endojen peroksidaz aktivitesini baskılamak için %3 H₂O₂ (metanol) de 20 dakika bekletildi.

3.7.3.a. TGF-β immunekspresyonu

Hazırlanan kesitler, distile su ile yıkandı ve maskelenen antijenleri açığa çıkarmak için pH'ı 6 olan sitratlı tampon çözeltisi ile mikrodalga fırında, 160W güçte 15 dakika antijen retrieval işlemi uygulandı. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı. Soğutulan lamlar Phosphate Buffer Saline (PBS) solüsyonu ile yıkandı. Nonspesifik boyanmayı engellemek için lamlara Blocking Serum (Novostain Universal Detection Kit;NCL-RTU-D;Novocastra) damlatıldı ve 10 dakika süreyle bekletildi. Daha sonra TGF-β immunekspresyonunu göstermek için kesitler “ Novocastra; NCL- TGF-β;1:40” adlı ticari kit damlatılarak oda ısısında 60 dakika inkübe edildi. Ardından iki ayrı PBS solüsyonu ile yıkanan kesitler sırasıyla biotinlenmiş sekonder antikorda (Novostain Universal Detection Kit;NCL-RTU-D;Novocastra) 10 dakika inkübe edildi.PBS ile tekrar yıkanan kesitlere Streptavidin Peroxidase uygulandı ve 10 dakika bekletildi.Son aşamada kromojen olarak Diaminobenzidine (DAB) kullanıldı. Mayer Hemotoksilen boyası

ile nükleer boyama yapıldıktan sonra dehidratasyon işlemi uygulanan kesitler kapatılıp değerlendirilmeye alındı.

3.7.3.b. VEGF immunekspresyonu

Distile su ile yıkanan kesitlere, EDTA (pH 8.0) tampon çözeltisi ile mikrodalga fırında 15 dakika süreyle antijen retrieval işlemi uygulandı. Oda ısısında 20 dakika kadar soğumaya bırakılan kesitler, PBS solüsyonu ile yıkanıp ardından 10 dakika “ Novocastra; NCL-RTU-D” adlı ticari kit ile enzim blokajı uygulandı. Daha sonra VEGF immunekspresyonunu göstermek için kesitler “ C-1;sc-7269;Santa Cruz Biotechnology)” adlı ticari kit ile oda ısısında 1 saat inkübe edildi. Tekrar PBS solüsyonu ile yıkanan kesitler, sırasıyla biotinlenmiş sekonder antikör ve Streptavidin-Peroxidase (Novostain Universal Detection Kit;NCL-RTU-D;Novocastra) adlı ticari kit ile oda ısısında 10’ ar dakika inkübe edildi. Bir kez daha PBS solüsyonu ile yıkanan kesitlere kromojen olarak DAB kullanıldı. Mayer Hematoksilen boyası ile nükleer boyama yapıldıktan sonra dehidratasyon işlemi uygulanan kesitler kapatılıp değerlendirmeye alındı.

3.7.3.c. IL-6 immunekspresyonu

Hazırlanan kesitler, distile su ile yıkandı ve maskelenen antijenleri açığa çıkarmak için pH’ı 6 olan sitratlı tampon çözeltisi ile mikrodalga fırında, 160W güçte 15 dakika antijen retrieval işlemi uygulandı. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı. Soğutulan lamlar Phosphate Buffer Saline (PBS) solüsyonu ile yıkandı. Nonspesifik boyanmayı engellemek için lamlara Blocking Serum (Novostain Universal Detection Kit;NCL-RTU-D;Novocastra) damlatıldı ve 10 dakika süreyle bekletildi. Daha sonra IL-6 immunekspresyonunu göstermek için kesitler “M-19;sc-1265; Santa Cruz Biotechnology” adlı ticari kit damlatılarak oda ısısında 60 dakika inkübe edildi. Ardından iki ayrı PBS solüsyonu ile yıkanan kesitler sırasıyla biotinlenmiş sekonder antikorda (Novostain Universal Detection Kit;NCL-RTU-D;Novocastra) 10 dakika inkübe edildi.PBS ile tekrar yıkanan

kesitlere Streptavidin Peroxidase uygulandı ve 10 dakika bekletildi.Son aşamada kromojen olarak Diaminobenzidine (DAB) kullanıldı. Mayer Hemotoksilen boyası ile nükleer boyama yapıldıktan sonra dehidratasyon işlemi uygulanan kesitler kapatılıp değerlendirilmeye alındı.

3.7.4.Histopatolojik Değerlendirme

Konvansiyonel Histopatolojik Değerlendirme

Hemotoksilen-eosin boyası ile boyanan kesitler 400 büyük büyütme alanında 3 farklı mikroskop alanı bakılarak değerlendirildi. İnflamasyon, fibroblastik aktivite ve yeni damar oluşumu; mononükleer hücre, fibroblast ve kapillerlerin sayılıp ortalaması alınarak gerçekleştirildi.Mezotel hücre sayıları semikantitatif olarak değerlendirildi ve normal (**düz hücreler**), reaktif(düz hücrelerin **kübik** transformasyonu) olarak sınıflandırıldı.

PAS ile boyanan kesitler, 400 büyük büyütme alanında 3 farklı mikroskop alanı incelenerek hyalinize vaskülopati açısından değerlendirildi. Her kesitteki hyalinize vaskülopati aşağıdaki kriterlere göre semikantitatif olarak derecelendirildi.

Grade	Tanım
1	Subendotelyal hyalin materyal kalınlığı < 7 µm
2	Subendotelyal hyalin materyal kalınlığı > 7 µm ve lümende daralma ve bozulma yok
3	Lümende daralma ve distorsiyon var
4	Lümende obliterasyon

Trikrom-Masson boyası ile boyanan kesitler , 400 büyük büyütme alanında 10 mikroskop alanı incelenerek fibrozis açısından değerlendirildi. Fibrozis **yok**, **erken** (ödem ve birkaç genç kollajen lifi), **orta** (genç ve olgun kollajen), ve **ileri** (olgun kollajen lifi olarak belirtildi. Submezotelyal kompakt zone kalınlığı, oküler mikrometre ile 5 ölçümün ortalaması alınarak ölçüldü.

İmmunhistokimyasal Değerlendirme

TGF- β 1 immunekspresyonu ;400 büyük büyütme alanında intertisyel alanda semikantitatif olarak değerlendirildi.(0=ekspresyon yok,+1=hafif ekspresyon, +2=orta ekspresyon, +3=yüksek ekspresyon)

VEGF immunekspresyonu ;400 büyük büyütme alanında intertisyel alanda semikantitatif olarak değerlendirildi.(0=ekspresyon yok,+1=hafif ekspresyon, + 2=orta ekspresyon,+ 3=yüksek ekspresyon)

IL-6 immunekspresyonu ;200 büyük büyütme alanında intertisyel alanda semikantitatif olarak değerlendirildi.(0=ekspresyon yok,+1=hafif ekspresyon, +2=orta ekspresyon, +3=yüksek ekspresyon)

İSTATİSTİK

Bu çalışmada analizler GraphPad Prisma paket programı ile yapılmıştır. Gruplardaki örnek büyüklüğü az olduğu için parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Bu nedenle karşılaştırması yapılan ortalama ölçütü medyan(ortanca)dır. Bu durumda değişim ölçütü ise Range(R=değişim aralığı) olmaktadır. (R=Maksimum değer-minimum değer)Tablolarda mean±SD yerine, median,Range değerleri verilmiştir.

.İstatistiksel olarak 3 farklı test kullanılmıştır.

1-Kruskal-Wallis parametrik olmayan test

Nicel verilerin değerlendirilmesi için kullanılmıştır.3 bağımsız grup parametreler açısından ortalama değerlerine göre karşılaştırılmıştır. Sonuçlarda $p<0,05$ olması durumunda anlamlı farklılık olarak değerlendirilmiştir.Farkı yaratan grubu bulmak için Dunn çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır.

2-Friedman tekrarlanmış ölçümler için parametrik olmayan test

Aynı deneklere ait BUN ve kreatinin parametrelerini karşılaştırmak için kullanılmıştır. Sonuçlarda $p<0,05$ olması anlamlı farklılık olarak değerlendirilmiştir.Bu durumda farkı yaratan grubu bulmak için Dunn çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır.

3-Dunn çoklu karşılaştırma testi

Sonuçlarda $p<0,05$ olması durumunda anlamlı farklılık olarak değerlendirilmiştir.

İmmunhistokimyasal çalışmalara ait nitel sonuçların değerlendirilmesinde ise Ki kare testi kullanılmıştır.

4.BULGULAR

5/6 Nefrektomi ile üremi oluşturulan ve kronik periton diyalizi modeli yapılan sıçanların, çalışma sürelerince kilo değişimleri kan, idrar, diyalizat ve pariyetal periton örnekleri incelenmiştir. Çalışma sonunda periton fizyolojisi hakkında bulgular elde edilmiştir. Nefrektomi uygulanan 48 sıçandan 19'u uygulanan ağır operasyon sonrası veya periton diyalizi uygulaması başlayana dek geçen 6 haftalık sürede hayatlarını kaybetmişlerdir. Kontrol grubundaki 8 sıçandan 7'si, Dextroz grubundaki 10 sıçandan 8'i, LT grubundaki 11 sıçandan 7'si kateter takıldıktan sonraki 5 haftalık çalışma süresini tamamlayabilmiştir.

Çalışma süresince karşılaşılan zorluklar ise şunlar olarak saptanmıştır.

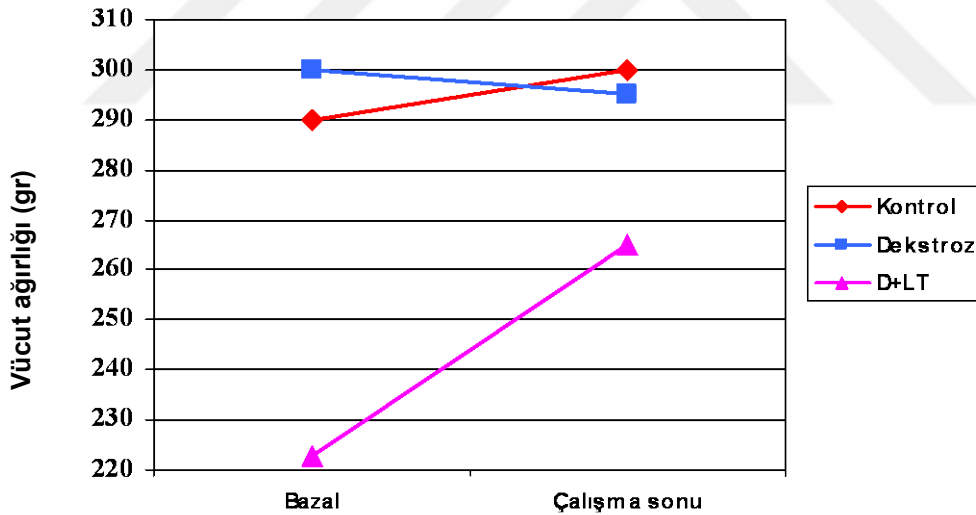
- 1-Uygulanan ağır operasyon sonrası mortalitenin yüksek olması
- 2-Kafsız kateter kullanımına bağlı boyun bölgesindeki tünelde enfeksiyon ve nekroz gelişimi.
- 3-Üremi nedeni ile agresifleşen sıçanların boyunlarındaki kateterleri ön ayakları ile çıkarıp kemirmeleri
- 4-Omentektomi uygulanmamasına bağlı kateterin omentum tarafından sarılarak kateter obstrüksiyonuna neden olmasıdır.

Çalışmaya alınan 48 sıçanın ortalama kilosu $257,95 \pm 4,82$ gr.(200-330 gr.) olarak saptanmıştır.Hayatta kalanların subtotal nefrektomi ve total nefrektomi (bazal) yapıldığı sıradaki kiloları arasında kontrol grubu,dekstroz grubu ve LT grubu arasında anlamlı fark saptanmıştır. Subtotal kontrol grubunda $290 \pm 13,42$ gr, dextroz grubunda $300 \pm 54,4$ gr, LT grubunda $223 \pm 21,2$ gr ($p < 0,01$) olarak bulunmuştur.LT tedavisi olan grubun ortalama vücut ağırlığı, kontrol grubuna ve dextroz grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Total nefrektomi öncesi kontrol grubunda $260 \pm 12,4$ gr, dextroz grubunda $282 \pm 48,3$ gr, LT grubunda $200 \pm 15,8$ gr ($p < 0,05$) olarak bulunmuştur.Ancak bu fark çalışma süresince aynı şekilde devam etmiştir.

Çalışma sonunda grupların ortalama vücut ağırlığı arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Kontrol grubunda $300 \pm 28,5$ gr, dekstroz grubunda $295 \pm 46,6$ gr, LT grubunda $265 \pm 31,4$ gr ($p > 0,05$) olarak bulunmuştur. Grupların ortalama vücut ağırlıkları tablo 1’de ve şekil-4’de gösterilmiştir.

Tablo-1: Grupların çalışma başlangıcı ve sonundaki vücut ağırlığı

	Kontrol Grubu Ort \pm SS(n.7)	Dekstroz G (D) Ort \pm SS(n.8)	LT Grubu Ort \pm SS(n.7)	p
Bazal kilo (gr)	$290 \pm 13,42$	$300 \pm 54,47$	$223 \pm 21,24$	$p < 0,01$
Çalışma sonu (gr)	$300 \pm 28,57$	$295 \pm 46,66$	$265 \pm 31,42$	$p > 0,05$



Şekil-4 :Grupların çalışma başlangıcı ve sonundaki vücut ağırlığı

4.1.Biokimyasal Bulgular:

Üremi oluşturulan sıçanların başlangıç, diyaliz öncesi ve periton diyalizi uygulaması sonrası (çalışma sonu) BUN ve kreatinin değerleri karşılaştırıldı. Kontrol grubunda bazal BUN $20, R=29-18$ mg/dl, diyaliz öncesi $40, R=73-29$ mg/dl,

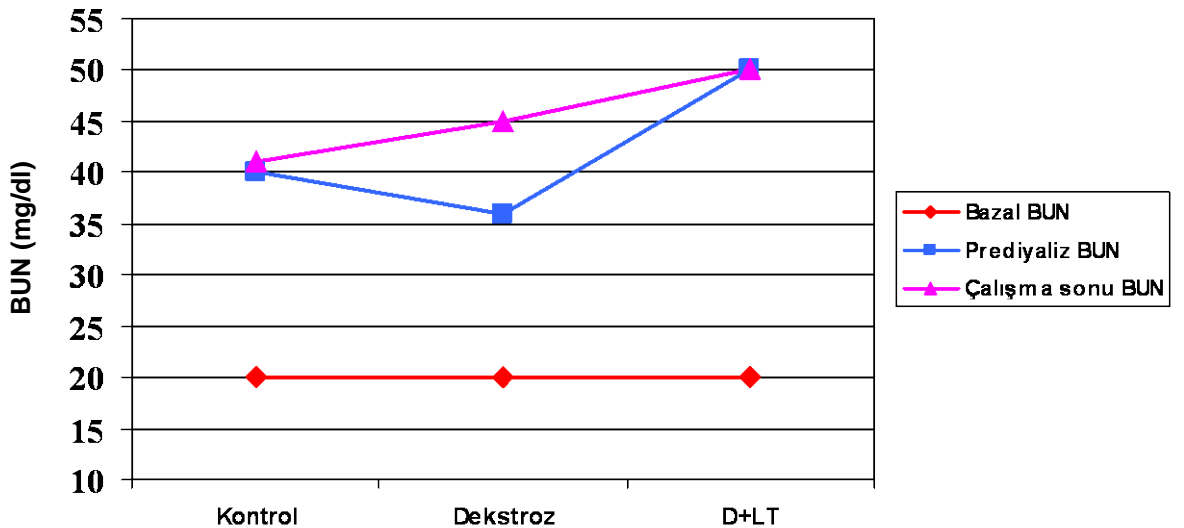
çalışma sonu 41,R=56-27mg/dl ($p<0,05$) iken LT grubunda da sırasıyla 20,R=29-19mg/dl, 50,R=68-31mg/dl, 50,R=61-39mg/dl olarak saptandı ($p<0,005$).

Grupların çalışma süresince BUN değerleri Tablo 2 'de gösterilmiştir. Her 3 grupta da diyaliz öncesi ve diyaliz sonrası BUN ve kreatinin değerleri arasında kontrol grubuna göre anlamlı fark bulundu. Tüm grublarda orta derecede üremenin olduğu görüldü.

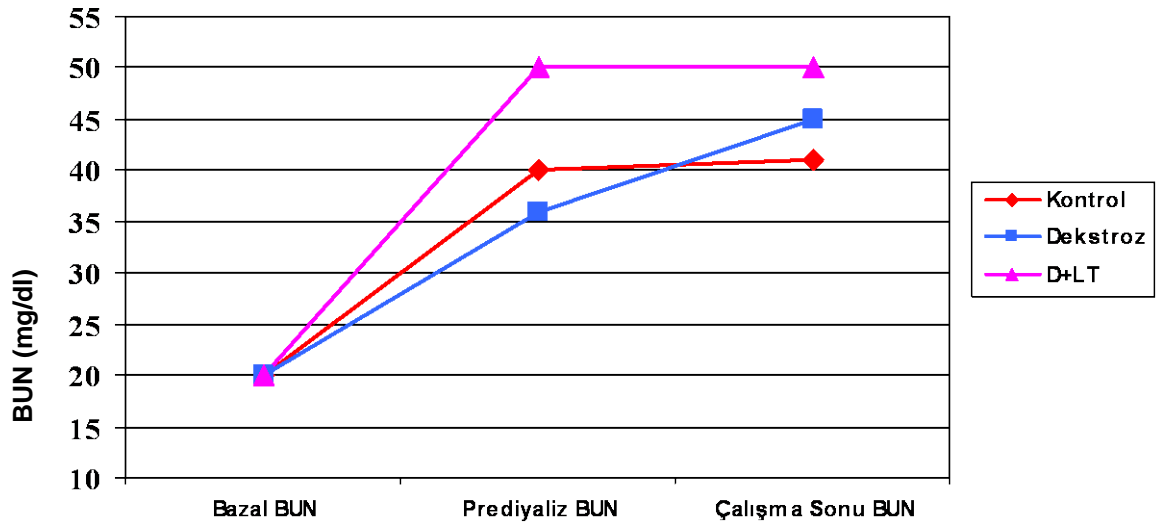
Tablo-2: Grupların çalışma süresince BUN değerleri

	Kontrol Grubu Medyan,Range(n:7)	Dekstroz G (D) Medyan,Range(n:8)	LT Grubu Medyan,Range(n:7)	p
Bazal BUN (mg/dl)	20(29-18)	20(20-18)	20(29-19)	$p>0,05$
Prediyaliz BUN(mg/dl)	40(73-29)	36(51-30)	50(68-31)	$p>0,05$
Çalışma sonu (mg/dl)	41(56-27)	45(71-32)	50(61-39)	$p>0,05$
p	$p<0,05$	$p<0,0005$	$p<0,005$	

Çalışma başlangıcında bakılan BUN ve Kreatinin değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında ise anlamlı fark saptanmamıştır. Kontrol grubunda bazal BUN 20,R=29-18mg/dl dekstroz grubunda 20,R=20-18mg/dl, ilaç grubunda 20,R=29-19 mg/dl saptanmıştır ($p>0,05$). Çalışma sonunda kontrol grubunda 41,R=56-27 mg/dl,dekstroz grubunda 45,R=71-32 mg/dl, LT grubunda da 50,R=61-39mg/dl olarak bulunmuştur ($p>0,05$). (Şekil 5-6).



Ş Şekil-5: Grupların çalışma süresince BUN değerleri ($p>0,05$)



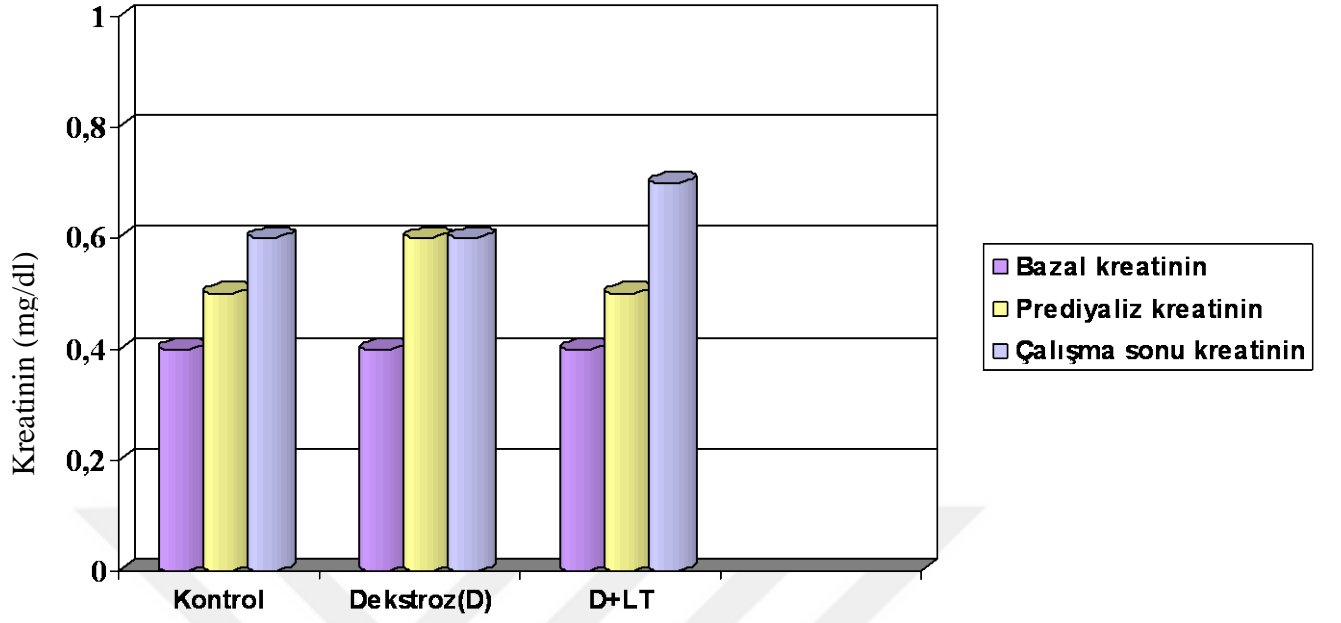
Şekil-6:Grupların çalışma süresince BUN değerleri (p<0,05)

Tablo-3: Grupların çalışma süresince kreatinin değerleri

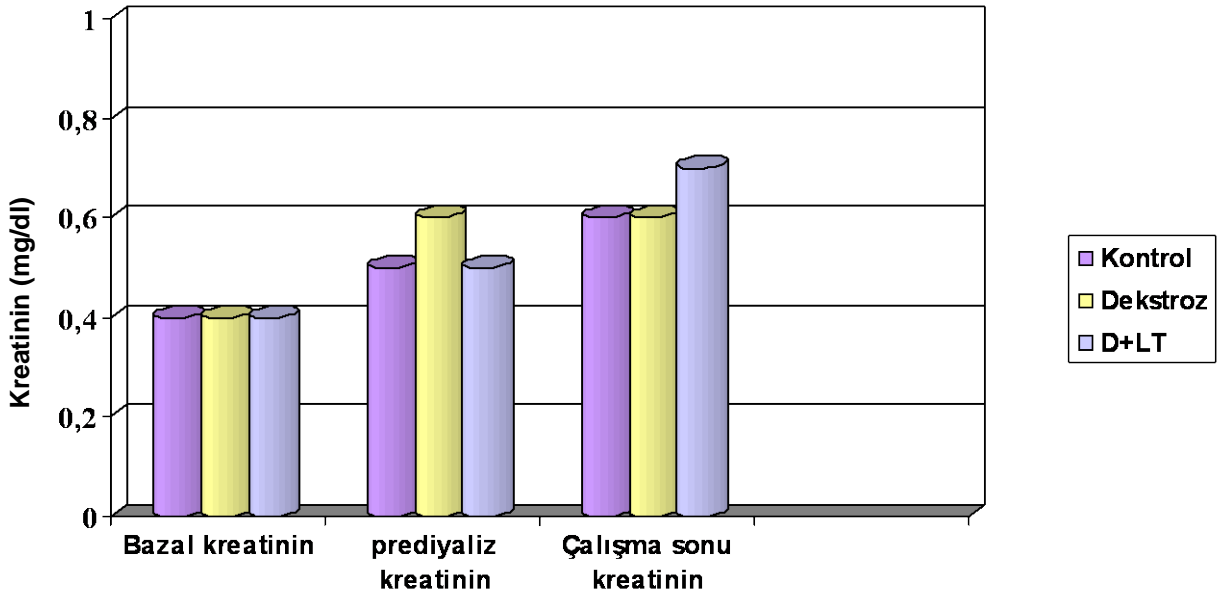
	Kontrol Grubu Medyan,Range(n.7)	Dekstroz G (D) Medyan,Range(n.8)	LT Grubu Medyan,Range(n.7)	p
Bazal kr (mg/dl)	0,4(0,4-0,3)	0,4(0,4-0,3)	0,4(0,4-0,3)	p>0,05
Prediyaliz kr(mg/dl)	5(0,8-0,5)	0,6(0,8-0,4)	0,5(0,7-0,4)	p>0,05
Çalışma Sonu kr(mg/dl)	0,6(0,7-0,4)	0,6(0,7-0,4)	0,7(0,9-0,5)	p>0,05
p	p< 0,005	p < 0,005	p<0,005	

Tablo 3’de ve Şekil 7’de gösterildiği gibi kontrol grubunda bazal kreatinin 0,4,R=0,4-0,3mg/dl ,diyaliz öncesi 0,5,R=0,8-0,5 mg/dl, çalışma sonu 0,6,R=0,7-0,4 mg/dl (p<0,05) iken LT grubunda da sırasıyla 0,4,R=0,4-0,3mg/dl, 0,5,R=0,7-0,4 mg/dl, 0,7,R=0,9-0,5 mg/dl olarak saptandı (p<0,005). Her 3 grupta da diyaliz öncesi ve diyaliz sonrası kreatinin değerleri arasında kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur. Çalışma başlangıcında bakılan kreatinin değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında ise anlamlı fark saptanmamıştır.

(Şekil 8)



Şekil-7:Grup içi kreatinin değerleri (p<0,05)



Şekil-8:Gruplar arası kreatinin değerleri (p>0,05)

Diyalizat proteini kaybı kontrol grubunda 1,R=7-1gr/lt, dekstroz grubunda 1,5,R=5-1gr/lt,LT grubunda 2,R=8-1gr/lt olarak saptanmıştır (p>0,05). Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı sonuca ulaşmamıştır.

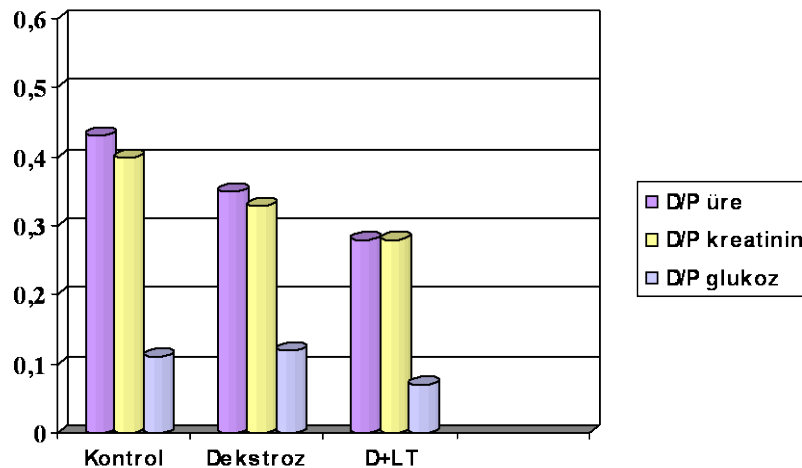
PET testi için batına verilen 20 cc sıvı ile alınan sıvı farkı net UF olarak değerlendirilmiştir.Kontrol grubunda 7,R=14-2ml, dekstroz grubunda 4,R=9-2ml ve LT grubunda 5,R=11-2ml olarak ölçülmüştür (p>0,05).UF miktarı karşılaştırıldığında 3 grup arasında fark bulunmamıştır.Grupların diyalizat proteini ve PET sonuçları Tablo4’de ve Şekil 9’da gösterilmiştir.

Tablo -4:Grupların peritoneal membran fonksiyonel bulguları

	Kontrol Grubu Medyan,Range(n.7)	Dekstroz G (D) Medyan,Range(n.8)	LT Grubu Medyan,Range(n.7)	p
Diyalizat proteini (g/L)	1(7-1)	1,5(5-1)	2(8-1)	p>0,05
Ultrafiltrasyon (ml)	7(14-2)	4(9-2)	5(11-2)	p>0,05
D/P üre	0,43(0,74-0,22)	0,35(0,87-0,13)	0,28(1-0,17)	p>0,05
D ₁ /Do glukoz	0,11(0,17-0,08)	0,12(0,21-0,08)	0,07(0,13-0,06)	p>0,05
D/P kreatinin	0,4(0,75-0,33)	0,33(1-0,14)	0,28(1-0,16)	p>0,05

Her 3 grup arasında D/P kreatinin, D/P üre ve D/P glukoz oranlarındaki değişim arasında ve diyalizat protein kayıpları arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

(p> 0,05).



Şekil 9:Grupların peritoneal membran fonksiyonel bulguları (p>0,05)

4.2.Histopatolojik Bulgular :

Mezotel Hücresi, Hemotoksilen- Eosin boyası ile boyanarak 400 büyük büyütme alanında 3 farklı mikroskop alanı bakılarak düz veya kübik hücreler olarak değerlendirildi.Kontrol grubunda; 6 sıçanda mezotel hücresinin düz, 1 tanesinin kübik hücre, dextroz grubunda 6 sıçanda düz hücre görülürken, 2 sıçanda mezotel hücre görülmemiştir. İnflamasyonun hepsinde kronik olduğu saptanmıştır. LT alan grupta ise inflamasyonun kronik olmakla birlikte 6 tanesinde düz hücreden kübik hücreye transforme olduğu, 1 tanesinin düz olduğu görülmüştür. Lökotrien antogonisti alan grupta mezotel hücrelerinde düz formdan kübik forma transformasyon, rejenerasyon ve proliferasyon saptanmıştır. İnflamasyon mononükleer hücre;fibroblastik aktivite fibroblast;yeni damar oluşumu kapiller, 3 farklı mikroskop alanında sayılıp ortalaması alınarak belirtilmiştir.Histopatolojik değerlendirme Tablo 5 'de gösterilmiştir.

Tablo-5 :Gruplar arası periton membranının histopatolojik bulguları

	Kontrol Grubu Medyan,Range(n.7)	Dekstroz G (D) Medyan,Range(n.8)	LT Grubu Medyan,Range(n.7)	p
İnflamasyon	8(24,-5,6)	15,9(26-10)	17,3(25-10)	p>0,05
Fibroblast	6,3(15-3,6)	9,3(14,6-6,6)	12,3(16,6-6,3)	p>0,05
Neovascülarizasyon	8,6(12-5)	9,3(12,3-7,3)	14,6(23-5,6)	p>0,05
Kalınlık(μ m)	10(30-10)	30(100-10)	40(100-20)	p<0,05
Hyalinize Vaskülopati	1(1-1)	2(2-1)	2(2-2)	p<0,001
Fibrozis	1,5(2-1)	2(3-1)	2(3-1)	p>0,05

Gruplar arası inflamasyon, fibroblast ve yeni damar oluşumu karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır(p>0,05). Submezotelyal kalınlık kontrol grubunda 10,R=30-10 μ m, dekstroz grubunda 30,R=100-10 μ m, LT grubunda 40,R=100-20 μ m olarak saptanmıştır.LT grubunda submezotelyal kalınlık kontrol grubuna göre daha belirgin olarak kalın iken(p<0,05), dekstroz grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır (p>0,05).

Hyalinize vaskülopati, PAS ile boyanan kesitlerde semikantitatif olarak değerlendirildi. Kontrol grubunun hepsinde grade 1, dekstroz grubunda; 5 sıçanda grade 2 ,3 sıçanda grade 1 , LT grubunun hepsinde grade 2 hyalinize vaskülopati görülmüştür. LT grubunda hyalinize vaskülopati kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla saptanırken ($p < 0,001$), dekstroz grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır.(LT grubunda 2,R=2-2,dekstroz grubunda 2,R=2-1($p > 0,05$)).Sonuç olarak hipertonic solüsyon kullanımı, hyalinize vaskülopatiyi artırmıştır.

Fibrosis değerlendirilmesi semikantitatif olarak yapılmış, kesitler 400 büyük büyütme alanında 10 mikroskop alanı incelenerek değerlendirilmiştir.Tablo 6'da gösterildiği gibi kontrol grubunda 7 preparatın 3'ünde erken, 3'ünde orta ,1'inde fibrosis görülmezken, LT grubunda ise 1 sıçanda erken, 4 sıçanda orta, 2 sıçanda ileri derecede fibrosis görülmüştür. Gruplar arası fibrosis yönünden anlamlı fark olmadığı saptanmıştır ($p > 0,05$). Sonuç olarak LT tedavisi dekstroza bağlı gelişen periton fibrozisi gelişimini azaltmamıştır.Üremi ve kateterde en az dekstroz kadar fibrozise neden olmuştur.

Tablo-6:Grupların fibrozis skorları

	Kontrol Grubu (n:7)	Dekstroz Grubu (D) (n:8)	LT Grubu (n:7)	
Fibrosis yok	1%(14,2)	(-)	(-)	
erken	3 (%42,9)	3 (%37,5)	1 (%14,2)	
orta	3(%42,9)	4(%50)	4 (%57,2)	
ileri	(-)	1(%12,5)	2(%28,6)	
Toplam	7 (%100)	8 (%100)	7 (%100)	$p > 0,05$

Fibrozisin derecesi ile kalınlık karşılaştırıldığında her üç grup arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğu görülmüştür. Değerlendirme sonuçları Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo-7: Fibrozis ve kalınlık arasındaki korelasyon

	Kontrol Grubu (n:7)	Dekstroz Grubu (D) (n:8)	LT Grubu (n:7)
r	0,949	0,830	0,913
p	p<0,005	p<0,05	p<0,005

Dekstroz grubunda yeni damar oluşumları, kalınlık ve fibrozis ile pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon göstermiştir. ($r=0,767, p<0,05$; $r=0,531, p<0,05$) Yani yeni damar oluşumları arttıkça fibrozis ve kalınlıkta artmaktadır. LT grubunda yeni damar oluşumları ile fibroblast arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. ($r=0,775, p<0,05$) Yeni damar oluşumları, kalınlık ve fibrozis arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmamıştır. ($p>0,05$)

4.3. İmmunhistokimyasal Bulgular

Yapılan çalışmalarda periton fibrozisinde TGF- β 1 ve VEGF ün önemli rol oynadığı diyalizatta yapılan ölçümler ile gösterilmiştir. Dokuda bu sitokinlerin ekspresyonu değerlendirilmemiştir. Bu nedenle hipertonic diyaliz solüsyonlarının morfolojik ve fonksiyonel etkilerine LT antagonistlerinin etkisi incelenirken dokuda da profibrotik sitokinlerin ekspresyonunu değerlendirmek için immunhistokimya boyaları yapılmıştır.

1-TGF- β 1 immunekspresyonu:

Kesitler uygun boyama yöntemiyle boyandıktan sonra, 400 büyük büyütme alanında intertisyel alanda pozitif boyanan immunekspresyon gösteren hücreler semikantitatif olarak değerlendirildi. Dekstroz grubunda TGF- β 1 immunekspresyonunda (8 preparatın %50 inde (++) , %50 inde (+++)) ekspresyon kontrol grubuna göre artış saptanmıştır ($p<0,005$). Dekstroz ile LT alan grupta da

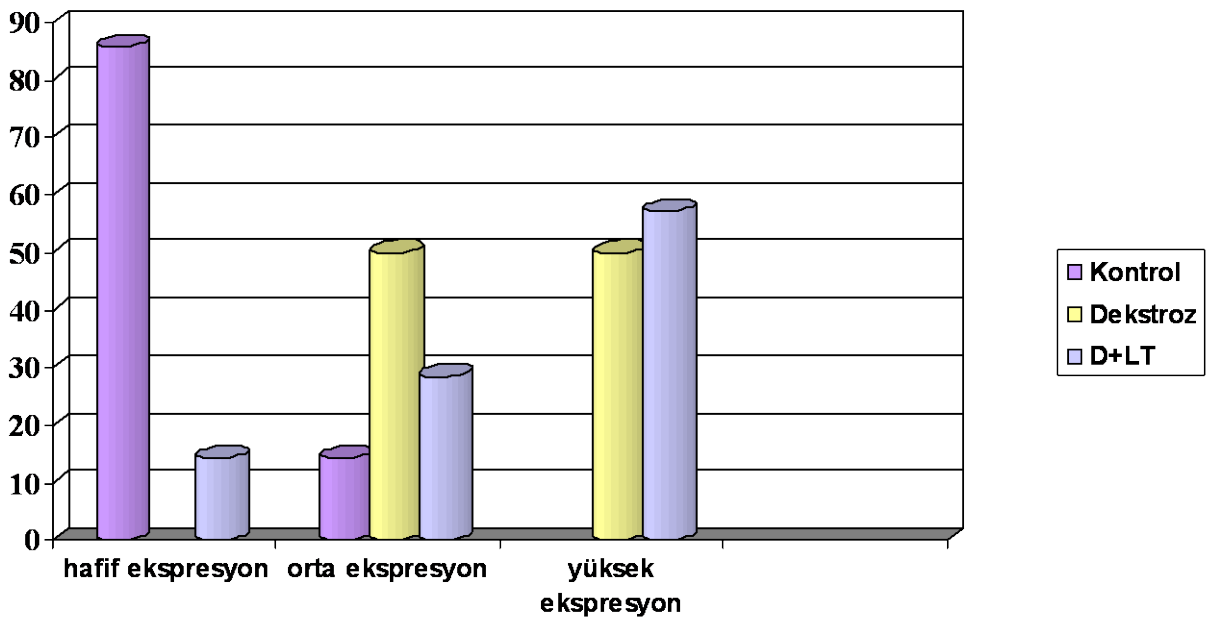
kontrol grubuna göre TGF- β 1 immunekspresyonunda belirgin artış olduğu görülmüştür.($p<0,005$).LT grubunda 7 preparatın %14,3 ünde (+), %28,5 inde (++) , %57,2 inde (+++) ekspresyon saptanmıştır. Dekstroz ile LT alan gruplar karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).İmmunekspresyon sonuçları Tablo 8’de ve Şekil 10’da gösterilmiştir.

Tablo-8:Gruplar arası TGF- β 1 immunekspresyon derecesinin dağılımı

	Kontrol Grubu (n:7)	Dekstroz G (D) (n:8)	LT Grubu (n:7)	Toplam
TGF- β 1				
(+)	6 (%85,7)	(-)	1 (% 14,3)	%31,2
(++)	1 (% 14,3)	4 (%50)	2 (%28,5)	%31,8
(+++)	(-)	4 (%50)	4 (%57,2)	%36,3
Toplam	7 (% 100)	8 (%100)	7 (% 100)	$\chi^2:14.9$ $p<0,005$

(+) :hafif ekspresyon
 (++) :orta derecede ekspresyon
 (+++) :yüksek derecede ekspresyon

Şekil-10 : TGF- β 1 immunekspresyon derecesinin gruplar arası farkı



2-VEGF immunekspresyonu:

VEGF immunekspresyonu, preparatlar uygun boyama yöntemiyle boyandıktan sonra değerlendirmeye alınmıştır. Pozitif immunekspresyon gösteren hücreler semikantitatif olarak değerlendirilmiştir. Tablo 9’da gösterildiği gibi, dekstroz grubunda VEGF immunekspresyonu 8 preparatın 3 tanesinde (++), 5 tanesinde (+++) , LT grubunda 7 preparatın 3 tanesinde (++), 4 tanesinde (+++) saptanmıştır. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmamıştır ($p>0,05$). Kontrol grubunda VEGF immunekspresyonu, dekstroz ve LT alan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük saptanmıştır ($p<0,05$).

Tablo-9:Gruplar arası VEGF, IL-6 immunekspresyon derecesinin dağılımı

	Kontrol Grubu (n:7)	Dekstroz G (D) (n:8)	LT Grubu (n:7)	
VEGF				$\chi^2:15.1$
(+)	5 (%71,5)	(-)	(-)	$p<0,005$
(++)	2 (%28,5)	3 (%37,5)	3 (%42,9)	
(+++)	(-)	5 (%62,5)	4 (%57,1)	
IL-6	4 (%57,1)	5 (%62,5)	2 (%28,6)	$\chi^2:5.2$
(+)				$p>0,05$
(++)	3 (%42,9)	3 (%37,5)	3 (%42,8)	
(+++)	(-)	(-)	2 (%28,6)	

3-IL-6 immunekspresyonu:

IL-6 immunekspresyonu, pozitif immunekspresyon gösteren hücreler görülerek semikantitatif olarak değerlendirilmiştir. Tabloda gösterildiği gibi, her üç grup arasında IL-6 ekspresyonu yönünden fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

6.TARTIŞMA

Uzun dönemde periton membranındaki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler veya tekrarlayan enfeksiyonlara bağlı olarak gelişen fonksiyon kaybı renal replasman tedavisinin değiştirilmesine neden olmaktadır. Bu değişiklikler fibrozis ve vasküler proliferasyondur. Her ne kadar bu değişikliklerden sorumlu mekanizmalar tam açıklanamamışsa da periton fonksiyonundaki değişikliklerin membrandaki yapısal değişikliklerle bağlantılı olduğu anlaşılmıştır. Vasküler proliferasyon daha sonra periton yüzey alanının artmasına ve böylece küçük solütlerin permeabilitesinin artmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak devam eden ultrafiltrasyon yeteneği bozulmaktadır(12,127)

Hayvan modelleri periton diyalizinin periton membranı transport fizyolojisinde, diyaliz solüsyonlarının biyouyumluluklarının araştırılmasında, periton defans mekanizmalarının araştırılmasında kullanılmaktadır. Literatürde üremik hayvanlarda kronik periton diyalizinin etkisini inceleyen çok az çalışma vardır (125,128).

Yapılan araştırmalarda peritonit sayısı ile periton membran fonksiyonunun uzun süreli kaybı ve periton serozasındaki kronik değişiklikler arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalar fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler arasındaki ilişkiyi göstermemiştir. Son yıllarda damar yoğunluğundaki değişiklikler veya morfolojik özelliklerin, membran fonksiyonunu doğrudan etkilediği saptanmıştır(129). Bu çalışmada, üremik hale getirilen sıçanlarda hipertonic glukoz içeren PD solüsyonlarına bağlı gelişen periton fibrozisi ile TGF- β 1, VEGF ve IL-6 arasındaki ilişki, periton membranındaki fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler ve LT antagonistlerinin etkisi histolojik ve immunhistokimyasal olarak incelenmiştir.

Çalışmamız daha önce yapılan üremik sıçanlardaki iki çalışmadan bazı farklılıklar içermektedir. Miller ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hayvanlara 3 hafta günde tek değişim yapılarak PD uygulanmıştır. Kateter olarak silikon ve çift kahlı bir kateter kullanılmıştır. Diyaliz yapılan ve yapılmayan, üremik ve üremik

olmayan sıçanların çalışma süresince ağırlıklarında bir değişiklik saptanmamıştır (126). Lameire ve arkadaşlarının çalışmasında da üremik sıçanların ağırlıkları PD uygulaması ile stabil kalmış, diyaliz uygulanmayan üremik sıçanların ağırlıkları ise azalmıştır(128).

Bizim çalışmamızda ise silikon hemodiyaliz venöz fistül kateteri uygun hale getirilerek kullanılmıştır. Mortalitenin %45 olması nedeni vücut ağırlığı, dekstroz ile birlikte LT alan grupta anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Ancak çalışma sonunda bu grubun belirgin olarak kilo aldığı görülmüştür. Üremik sıçanların ağırlıkları PD uygulaması ile stabil kalırken, diyaliz uygulanmayan üremik sıçanların ağırlıklarının ise azaldığı saptanmıştır. Fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değere ulaşmamış ve çalışma sonunda gruplar arası farkın ortadan kalktığı görülmüştür.

Her iki çalışmada üreminin seviyesi orta derecede saptanmıştır. Kan kreatinin düzeylerinin diyaliz uygulaması ile stabil kaldığı, uygulanmayan üremik sıçanlarda ise arttığı gözlenmiştir. Üreminin periton geçirgenliğini nasıl etkilediği hakkında ayrıntılı bir tanım yapılmamıştır. Bizim çalışmamızda her üç grupta diyaliz öncesi ve sonrası BUN ve kreatinin değerleri, başlangıç değerlerine göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Ancak diyaliz yapılan ile yapılmayan gruplar arasında bir fark olduğu, diyaliz yapılmayan grupta BUN ve kreatinin değerinin artmadığı görülmüştür.

Omentektomi yapılmasının antibakteriyel defans mekanizmasını bozduğu bilinmektedir. Üç kronik diyaliz modelinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (intraperitoneal enjeksiyon modeli ile periton kateteri takılıp omentektomi yapılan ve yapılmayan üç grup),periton transport özellikleri ve membran yapısında çok belirgin farklılıklar görülmemiştir. Omentektominin kateter tıkanmasını önlemediği gösterilmiştir(130). Periton kateteri ile yapılan kronik diyalizin genel olarak kronik diyaliz hastalarını en yakından taklit ettiğine inanılmaktadır.Bizim de çalışmamızda, periton kateteri takılarak omentektomi yapılmamıştır.Bu çalışmada diyaliz sıvısı her gün drene edilememiştir.Bu günkü pek çok hayvan çalışmasında da "infüzyon ve drenaj"yerine kronik diyaliz modellerinde" infüzyon "kullanılmaktadır(129,131).

Son çalışmalarda geleneksel PD sıvısına maruz kalan hayvanların % 42 inde profilaktik antibiyotik kullanılmadığında peritonit geliştiği gösterilmiştir. Fonksiyonel olarak periton membranlarında küçük solütlerin transportu artmakta ve UF hızı azalmaktadır. Diyalizata maruz kalan hayvanlara ab verilmesi infeksiyon gelişimini engeller. Ancak küçük solütlerin transportunda artma ve UF hızında azalma bildirilmemiştir(132). Bazı çalışmalarda ise sefalosporin ve aminoglikozitlerin kültür ortamında insan peritoneal mezotelyal hücrelerinin gelişimini durdurduğu gösterilmiştir(133). Periton diyalizi hayvan modellerinde peritoniti engellemek için bir çok çalışmada intraperitoneal antibiyotik kullanılmıştır(130,134-136). Bu çalışmada tüm gruplara ceftazidim ve ciprofloksacin kullanılmıştır.

Hipertonik PD solüsyonunun, uzun dönemde periton membranında çeşitli diabetik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Bu değişiklikler periton kapillerlerinin bazal membran reduplikasyonu, ekstraselüler matriksin kollajen IV'ün aşırı birikimi ile ve ileri glukozillenmiş son ürünlerinin depolanmasıyla genişlemesidir(137,138). Uzun dönemde yüksek solüt transport oranları ,diyaliz tedavisinin süresi ile bağlantılı olarak geniş bir vasküler periton yüzey alanının geliştiğini düşündürmektedir(139). Tip I UF yetmezliğinde olduğu gibi solüt transport artmakta , UF sağlanamaktadır. D/P üre, D/P kreatininde artma, D_1/D_0 glukoz oranlarında azalma olmaktadır.

Çalışmamızda dekstroz grubunda UF de azalma olmakla birlikte gruplar arasında bir fark saptanmamış, solüt transport oranlarında değişiklik olmamıştır. Lökotrien alan grupta UF da artma sağlanamazken, üremik diyaliz yapılmayan grupla aynı kalmıştır. Diyalizat protein kayıpları arasında da anlamlı bir fark olmamasına rağmen kayıp dekstroz grubunda daha belirgin saptanmıştır. Hipertonik PD solüsyonuyla birlikte LT alan grupta periton membranı kontrol grubuna göre daha kalın olmasına rağmen D/P üre, D_1/D_0 glukoz, D/P kreatinin oranlarındaki değişme anlamlı bulunmamıştır. Bunun histopatolojik olarak tüm gruplarda yeni damar oluşumlarının aynı görülmesi ile açıklanabileceği düşünülmüştür.

Subtotal nefrektomi ile oluşturulmuş üremik sıçan modelinde, glukoz içeren solüsyonlara maruz kalmadan önce de periton permeabilitesinde ve yapısında değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Bunlar angiogenesis, fibrozis ve AGE

birikiminde belirgin artıştır. Sonuç olarak seröz bir membran olan periton üremiden etkilenmektedir(140).

Damar değişimleri ilk kez Honda tarafından bulunmuş ve venüllerde subendotelyal hyalinizasyon olarak tanımlanmıştır.Bu damarlarda AGE birikimi olduğu ve vaskülopati ile UF arasında bir bağlantı olduğunu göstermişlerdir(137). Sonraki yıllarda ise Williams ve arkadaşları, PD 'e başlanmadan önce üremik hastaların pariyetal periton membranlarından alınan örneklerinde submezotelyal kalınlaşma, lümende daralma ve obliterasyon ile karakterize subendotelyal hyalinizasyon gibi değişikliklerin %28, PD hastalarında ise %56 olduğunu göstermiştir. Artık fibrozisin, hyalinize vaskülopatinin varlığı ile doğru orantılı olduğu, vaskülopatinin hastaları fibrozis gelişimine hazırladığı kabul edilmektedir.Obliteratif vaskülopati ise iskemiye neden olarak fibrozisle sonuçlanmaktadır(33,141).

Biz de çalışmamızda hyalinize vaskülopatiyi, dekstroz grubunda ve dekstroz ile birlikte LT alan grupta, kontrol grubuna göre kıyaslandığında daha belirgin olduğunu gördük ($p<0,001$).LT alan grupta bir değişiklik olmadığını saptadık.Bu bulgular üreminin tek başına PD'e başlamadan önce periton membranında değişikliklere neden olduğunu da göstermektedir. Dekstroz ile birlikte LT alan grupta farkın olmamasının bir nedeni sürenin kısa olması olarak düşünülebilir. İkinci nedeni, LT antagonistinin tek başına TGF- β 1 üzerindeki etkisinin yeterli olamayacağı, diğer sitokinlerin de buna katkısı olabileceğidir. Literatürde kronik siklosporin nefrotoksisitesinde, LT antagonistlerinin renal vasküler yatakta vazokonstiksiyon yaparak ve TGF- β 1 ekspresyonunu azaltarak toksisiteyi geriye döndürdüğü gösterilmiştir. Siklosporin toksisitesinin gelişme mekanizması ile SAPD solüsyon kullanımına bağlı toksisite muhtemelen farklı mekanizmalarla gelişebileceği için, bizim çalışmamızda siklosporin toksisitesinde görülen değişiklikler saptanamamıştır. LT antagonistlerinin VEGF üzerine olan etkisi konusunda bir bilgi bulunmamaktadır (142,143). Bu nedenle VEGF immünekspresyonunu azaltabilen bir ajanla birlikte kullanımı bu farkı yaratabilirdi.

Hyalinize vaskülopatinin fibrozise zemin hazırladığından yola çıkarak gruplar arası fibrozis açısından fark olabilmesi için daha uzun bir zamana ihtiyaç olduğunu

söyleyebiliriz.Aynı zamanda ileri evre (grade 3-4) obliteratif vaskülopatinin olmaması da fibrozis arasındaki farkın olmamasını açıklayabilmektedir. Çünkü ileri evre vaskülopati iskemiye yol açarak fibrozisle sonuçlanmaktadır (33,141). İleri evre vaskülopatiyeye ulaşılmadığı için de fibrozis yönünden farkın ortaya çıkmadığı düşünülebilir. Ayrıca dekstroz grubunda ve dekstroz solüsyonuyla birlikte LT alan grupta, periton membranın kontrol grubuna göre daha kalın olduğu da görülmüştür. Ancak iki grup arasındaki fark istatistiksel anlama ulaşmamıştır.

LT antagonisti, mezotel hücrelerinin düz formdan kübik forma transforme olmasına neden olmuştur.Yani hücrelerin rejenerasyonunun başladığı fakat histopatolojik düzelme üzerine olan etkisinin olmadığı saptanmıştır. Deneklerin çalışma süresi daha uzun olabilseydi,histopatolojik farkın ortaya çıktığı, fibrozisteki ilerlemenin durduğu görülebilirdi.

Periton fibrozisinin patogenezi muhtemelen bir çok faktöre bağlıdır.Sık tekrarlayan peritonitler fibrozise ve neoangiogenesisine neden olmakta, diyaliz sıvısına maruz kalmak fibrozise katkıda bulunmaktadır(144,145). Son yapılan çalışmalarda, diyalizatta TGF- β 1ve VEGF düzeylerinin arttığı bununda periton permeabilitesindeki küçük solütlerin artışı ile paralellik gösterdiği saptanmıştır(15,109,146) Periton membran permeabilitesindeki bu artışın SAPD hastalarında mortalite ve morbiditeyi arttırdığı bilinmektedir(127).

Sıçan periton membranına IL-1 β ve TNF α nın adenovirale bağlı gen transferi ile yapılan çalışmaların da VEGF ve TGF- β 1 in periton membranında arttığı, bunun da fibrozis,neoangiogenesisine neden olduğu gösterilmiştir.Beraberinde küçük solütlerin permeabilitesinde artışı ile UF kapasitesinin kaybolması da birlikte görülmektedir. Ancak bu periton membran fonksiyonu değişiklikleri nonüremik hayvanlarda ve intraperitoneal injeksiyon yapılan sıçanlarda gösterilmiştir(13). Klinikte ise bu değişiklikler, PD'nin ileri dönemlerinde ortaya çıkmakta olduğundan sıçan kronik PD modelinde 1 aylık süre yeterli olmayabilir.

Üremik peritondaki yapısal değişikliklerde rol alan VEGF ve fibroblast growth factor (FGF2) gibi angiogenik faktörler de tanımlanmış ve vasküler proliferasyon ile VEGF salınımı arasındaki bağlantı gösterilmiştir.Nitrik oksit ise

her iki mediatörün de salınımını arttırmaktadır. Bu mediatörler PD hastalarında uzun dönemde peritonda gözlenen yeni damar oluşumlarında rol almaktadır(109,111).

Bizim çalışmamızda ilk defa dokuda TGF- β 1, VEGF ve IL-6 immunekspresyonlarına bakılmıştır. İnsan ve hayvan çalışmalarında periton membranındaki yapısal değişikliklerin yüksek glukoz konsantrasyonuna maruz kalması sonucu geliştiği gösterilmiştir.Yüksek glukoz; ileri glukozillenmiş son ürün'ün (AGE) birikimine ,büyüme faktörlerinin salınımına ve nitrik oksit yapımının artmasına neden olmaktadır (109,111,138).

Üremik hastalarda yüksek seviyelerde dolaşan AGE ve VEGF bulunmaktadır.Kronik üreminin AGE ile ilişkisi reaktif karbonil bileşenlerinin birikimlerinin sonucu olmaktadır (147). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda karbonil bileşiklerinin birikimi periton içinde AGE nin birikimine neden olmakta ve bu üremi oluşuktan sonraki ilk 3 hafta içinde olmaktadır. AGE nin peritonda depolanması VEGF ün etkisi ile üremik sıçan modelinde yapısal değişikliklere neden olmaktadır.Sıçanlarda yapılan üremik modellerde peritonda fokal bölgelerde fibrozis ve vasküler proliferasyon gibi farklı yapısal değişiklikler gözlenmiştir (140) Bu yapısal değişikliklerin fonksiyonel sonuçları birbirinden farklıdır (148). Submezotelyal ve perivasküler fibrozis ,diyalizat ile endotelyum arasındaki uzaklığı artırmakta ve böylece peritoneal permeabilite azalmaktadır.Bunun tersine vasküler proliferasyon ,etkili periton yüzeyel alanını(EPsA) artırmakta bunun sonucunda küçük solütlerin permeabilitesi artmaktadır (140).

Çalışmamızda, periton dokusunda ilk kez bu büyüme faktörlerinin immunekspresyonun gösterilmesi bakımından önem taşımaktadır. Dekstroz grubu ve Dekstroz+LT alan grupta kontrol grubuna göre TGF- β 1 ve VEGF immunekspresyonunda belirgin artış olduğu görülmüştür.($p<0,005$).D+LT alan grup karşılaştırıldığında ise anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Bu bulgular benzer şekilde hyalinize vaskülopatinin varlığı ile paralellik göstermektedir. LT antagonistinin histopatolojik düzelme üzerine olan etkisi yeni başlarken, (kübik mezotel hücre varlığı) immunekspresyon üzerine olan etkisinin henüz ortaya çıkmadığı görülmüştür. İmmunekspresyona olan etkiyi görmek için daha uzun bir zamana gerek olduğu düşünülmüştür.

Hipertonik PD sıvılarına bağılı gelişen fibrozisi geriletmek için nonüremik sıçanlarda yapılan diğer çalışmalarda, dört haftalık bir sürede enalaprilin ve octreotidin, TGF-β1 ve VEGF inhibisyonuyla fibrozisi gerilettiği, periton histolojisini ve fonksiyonunu düzelittiği gösterilmiştir (149,150). Ancak bu çalışmalarda intraperitoneal enjeksiyon modeli kullanılarak periton fibrozisi geliştirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise sıçanlar üremik olup, kateterleri vardı. Bu nedenle bizim modelimizin daha gerçeğe uygun bir SAPD membranı özelliği olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, geleneksel periton diyalizi sıvıları fibrozise neden olduğu bilinmektedir. Fibrozis gelişiminde TGF-β1 ve VEGF anahtar rol oynayan sitokinlerdir. Erken saptanan hyalinize vaskülopati, fibrozis ve kalınlığı etkileyen bir faktördür. Yeni damar oluşumlarının ilerleyerek fibrozis gelişimine neden olduğu düşünölmüştür. Çünkü fibroblast ile yeni damar oluşumlarının pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Uzun süreli PD yapan hastalarda Tip I UF yetmezliğinin görölme nedeni olarak; artmış yeni damar oluşumları ve buna bağılı gelişen peritoneal yüzey alanındaki artışın olduğu bilinmektedir. LT antagonistlerinin mezotel düz hücreler üzerine rejenerasyon etkisi olmuş ancak immünekspresyona olan etki görölememiştir. Muhtemelen tedavinin etkinliğini göstermek için daha uzun bir zamana gerek olduğunu düşünmekteyiz.

Bulgularımız hipertonic periton diyalizi solüsyonlarının mezotel hücrelerini ve makrofajları uyarak onlardan TGF-β1 ve VEGF sentezini arttırdığını gösteren diğer çalışma sonuçlarını desteklemektedir. Çalışmamızda gözlemlediğimiz bir ilginç nokta da ,peritonun kontrol grubuna göre daha kalın olmasına rağmen fonksiyonlarının korunmuş olmasıdır. Bu nedenle fibrozisin periton fonksiyonlarını bozması için daha geniş alanları daha uzun sürede etkilemesi gerektiği düşünölmüştür..

Günümüzde periton fibrozisine neden olmayan ,biyouyumluluğu yüksek PD solüsyonları kullanılırken, doku fibrozisini önlemeye, sitokinleri inhibe eden yeni tedavi hedeflerine yönelik araştırmalara da gerek vardır.

7.ÖZET

Uzun süreli periton diyalizi periton membranını yapısal ve fonksiyonel olarak etkilemektedir. Periton membranında submezotelyal fibrozis, vaskülopati, neoangiogenesis (yeni damar oluşumu) bağlı olarak UF kapasitesi zamanla kaybolmaktadır. Kronik periton diyalizinde kullanılan hiperosmolar, hiperglisemik ve asidik sıvılar bu değişikliklerde patojenik bir faktör olarak rol oynamaktadır. Periton diyalizine devam edilmesi durumunda, mekanik uyarının da uzun süreli etkisine bağlı olarak TGF β 1 ve inflamatuvar sitokinlerin salınımı artmakta bunun sonucu olarak doku fibrozu ve sonunda ultrafiltrasyon yetersizliği gelişebilmektedir. Periton inflamatuvar hücreleri ve lökositler uyarıldığında LTB4 ve LTC4 ün belirgin miktarda arttığına dair yayınlar bulunmaktadır. Bu süreçte artan lokal lökotrien düzeylerinin ciddi vazospastik ve kemotaktik etkiyle, başta makrofajlar olmak üzere diğer inflamatuvar hücrelerin de periton fibrozisinde rolleri olduğu düşünülmüştür.

Bu deneysel çalışmada, 5/6 nefrektomili sıçanlarda kronik periton diyalizi modelinde; sıçanların bir kısmına hipertonic periton diyalizi ile birlikte lökotrien antagonisti olan Montelukast verilerek, bu ajanın periton morfolojisini ve fonksiyonlarını nasıl etkilediği incelenmiştir. Sadece hipertonic solüsyon alan sıçanlarda almayanlara göre periton membranının morfolojisinin bozulduğu, buna rağmen peritoneal transport fonksiyonlarının korunduğu görülmüştür. Submezotelyal kalınlıkta artma ile birlikte hyalinize vaskülopatik değişiklikler izlenmiştir. TGF- β 1 ve VEGF immünekspresyonlarının bu bulgular ile paralellik gösterdiği görülmüştür.

LT antagonistlerinin mezotel düz hücreler üzerine rejenerasyon etkisi olmuş ancak histopatolojik düzelme ve immünekspresyona olan etki görülememiştir. Tedavinin etkinliğini göstermek için daha uzun süren ve daha fazla sayıda çalışmalara gerek duyulmaktadır.

8.SUMMARY

Longstanding chronic ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) induces structural and functional changes in the peritoneal membrane. There is a reduction in ultrafiltration capacity of the peritoneal membrane due to submesothelial fibrosis, vasculopathic changes and neo-angiogenesis. Hyperosmolar, hyperglycemic and acidic solutions used in CAPD play a pathogenic role in the development of these changes. In case of continuing peritoneal dialysis, the release of TGF β and other inflammatory cytokines are increased due to longstanding mechanical stimulus resulting in tissue fibrosis and ultrafiltration insufficiency. Data has been reported stating marked increase in LTB₄ and LTC₄ when peritoneal inflammatory cells and leucocytes are stimulated. The increased local leukotrien levels also have been implicated to have a role in the development of peritoneal fibrosis through severe vasospastic and chemotactic effects on macrophages and other inflammatory cells.

In 29 remained alive from a total of 48 male Wistar rats (total nephrectomy on one side and 5/6 nephrectomy on the opposite side), included in this experimental study chronic peritoneal dialysis model was applied. Peritoneal catheters were implanted in rats. Totally studied rats were divided into 3 groups: 1st group no treatment were given (n=8). (control), 2nd group 20ml hypertonic peritoneal dialysis solutions alone (n=10), 3rd group 20ml hypertonic peritoneal dialysis solutions plus leukotrien antagonist were employed. The morphological and functional change in the peritoneal membrane were studied in hypertonic peritoneal dialysis solutions plus leukotrien antagonist group.

The results of our study demonstrated that peritoneal membrane structure was distorted although transport functions remained intact in the group where only hypertonic solutions were used. The structural changes observed were increase in submesothelial thickness and vascular hyalinization. TGF- β 1 and VEGF immunexpression was also correlated to these changes. Leukotrien antagonists had a regenerative influence on mesothelial cells but no influence was observed on histopathological improvement or cytokine immunexpression. More studies are needed to investigate the effect of leukotriens and leukotrien antagonists in CAPD.

9.KAYNAKLAR

1. Gokal R, Mallick NP: Peritoneal dialysis .Lancet 1999; 353: 823-828.
2. Popovich RP, Moncrief JW, Nolph KD, Ghods AJ, Twardowski ZJ, Pyle WK: Continuous ambulatory peritoneal dialysis. J Am Soc Nephrol 1999;10:901-910.
3. Fenton SS, Schaubel DE, Desmeules M et al. Hemodialysis versus peritoneal dialysis :a comparison of adjusted mortality rates. Am J Kidney Dis 1997;30:334-342
4. Coles GA, Williams JD: What is the place of peritoneal dialysis in the integrated treatment of renal failure? Kidney Int 1998; 54:2234-2240.
5. Tanna MN, Vonesh EF, Korbet SM. Patient survival among incident peritoneal dialysis and hemodialysis patients in an urban setting. Am J Kidney 2000;36(6):1175-1182.
6. Murphy SW, Foley RN, Barrett BJ, Kent GM, Morgan J, Barre P, Campbell P, et al. Comparative mortality of hemodialysis and peritoneal dialysis in Canada. Kidney Int. 2000; 57 (4) :1720-1726.
7. Harris SA, Lamping DL, Brown EA, Constantinovici N; North Thames Dialysis Study (NTDS) Group. Clinical outcomes and quality of life in elderly patients on peritoneal dialysis versus hemodialysis. Perit Dial Int. 2002; 22 (4): 463-470.
8. Duman S, Breborowicz A. The renin-angiotensin system and peritoneal dialysis. Perit Dial Int 2004; 24.:5-9.
9. Gronbaek H, Vogel I, Osterby R, Lancranjan I, Flyvbjerg A, Orskov H: Effect of octreotide, captopril or insulin on renal changes and UAE in long-term experimental diabetes. Kidney Int 1998; 53:173-180.
10. Lee HB, Cha KL, Song K: Pathogenetic role of advanced glycosylation end products in diabetic nephropathy. Kidney Int 1997;(Suppl 52): 60-65.
11. Breborowicz A, Rodela H, Karon J, Martis L, Oreopoulos DG. In vitro stimulation of the effect of peritoneal dialysis solution on mesothelial cells. Am Jof Kidney Dis 1997;29(3):404-409.

12. Krediet RT: The peritoneal membrane in chronic peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1999;55:341-346.
13. Margetts PJ, Kolb M, Yu L, Hoff CM, Holmes CJ, Anthony DC, et al: Inflammatory cytokines, angiogenesis and fibrosis in the rat peritoneum. *Am J Pathol* 2002;160:2285-2294.
14. Margetts PJ, Gyorffy S, Kolb M, et al: Antiangiogenic and antifibrotic gene therapy in chronic infusion model of peritoneal dialysis in rat. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:721-728.
15. Margetts PJ, Kolb M, Galt T, et al: Gene transfer of transforming growth factor- β 1 to the peritoneum: effects on membrane function. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2029-2039.
16. Betjes MGH, Tuk CW, Struijk DG, Krediet RT, Arisz L et al: Immuno-effector characteristics of peritoneal cells during CAPD treatment; A longitudinal study. *Kidney Int* 1993;43:641-648.
17. McGregor SJ, Topley N, Jorres A, Speekenbrink AB, Gordon A, et al: Longitudinal evaluation of peritoneal macrophage function and activation during CAPD: maturity, cytokine synthesis and arachidonic acid metabolism. *Kidney Int* 1996;49:525-33.
18. Topley N, Brown Z, Jörres A, Westwick J, Davies M, Coles GA, Williams JD: Human peritoneal mesothelial cells synthesize interleukin-8; synergistic induction by interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α . *Am J Pathol* 1993;142:1876-1886.
19. Topley N, Petersen MM, MacKenzie R, Neubauer A, Stylianou E, Kaever V, Davies M, Coles GA, Williams JD: Human peritoneal mesothelial cells prostaglandin synthesis: Induction of cyclooxygenase mRNA by peritoneal macrophage-derived cytokines. *Kidney Int* 1994; 46:900-909.
20. Zemel D, Imholz ALT, De Wart DR, Dinkla C, Struijk DG, Krediet RT: The appearance of tumor necrosis factor- α and soluble TNF-receptors I and II in peritoneal effluent during stable and infection CAPD. *Kidney Int* 1994;46:1422-1430.

21. Park MS,Heimbürger O,Bergström J.Evaluation of an experimental rat model for peritoneal dialysis:Fluid and solute transport characteristics.Nephrol Dial Transplant 1994;9:404-12.
22. Wieczorowska –Tobis K,Korybalska K,Polubinska A,et al.In vivo model to study the biocompatibility of peritoneal dialysis solutions.Int J Artif Organs 1997;20:673-7.
23. Park SE,Twardowski ZJ,Moore HL,et al.Chronic administration of iron dextran into the peritoneal cavity of rats.Pert Dial Int 1997;17:179-185
24. Leukotriene-receptor inhibition for the treatment of systemic mastocytosis. N Engl J Med 2004;350:12 : 7 :735-736.
25. Gokal R:History of peritoneal dialysis. Gokal R,Khanna R,Krediet R.T,Nolph KD(ed):Textbook of peritoneal dialysis.Kluwer Academic Publishers,Dordrecht ,2000,pp.1-15.
26. Türk Nefroloji Derneği 2002 Türkiye kayıtları <http://www.tsn.org.tr/registry2002.pdf>).
27. Mehrotra R:Current status of peritoneal dialysis:Gokal R,Nolph KD(ed):Textbook of peritoneal dialysis.Kluwer Academic Publishers,Dordrecht ,pp.20-30,2000.
28. US Renal Data System:USRDS 1999 Annual Data Report.The National Institutes of Health, National Institutes of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases,Bethesda,MD,1999.
29. Carozzi S,Nasini MG,Ravera M,Sanna A,Tirotta A,Lamperi S:Peritoneal dialysis effluent,cytokine levels and peritoneal mesothelial cell viability in CAPD:A possible relationship.Adv Perit Dial 1997;13:7-12.
30. Burkat JM,Nolph KD:Peritoneal dialysis in the kidney (vol 2) Ed by Brenner BM,Philadelphia,Harcourt Brace and Company,pp 2507-2560,1996.
31. Nagy JA,Jackman RW:Anatomy and physiology of the peritoneal membrane.Semin Dial 1998;11:49-56.
32. Ronco C,Brendolan A,La Greca G:The peritoneal dialysis system.Nephrol Dial Transplant 1998;13(Suppl 6):94-99.

33. Williams JD, Craig KJ, Topley N, et al: The natural course of peritoneal membrane biology during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2003;64(Suppl 88):43-49.
34. 28Daugirdas
35. Wang T, Waniewski J, Heimbürger O, Werynski A, Lindholm B: A quantitative analysis of sodium transport and removal during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1997;52:1609-1616.
36. Khanna R: Applied peritoneal physiology. *Semin Dial* 1999;12:32-37.
37. Heimbürger O, Waniewski J, Werynski A et al: Peritoneal transport in CAPD patients with permanent loss of ultrafiltration capacity. *Kidney Int* 1990;38:495-506.
38. Davies SJ, Bryan J, Philips L, Russel GI: Longitudinal changes in peritoneal kinetics: the effect of peritoneal dialysis and peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:448-56.
39. Coles GA, Topley N: Long-term peritoneal membrane changes. *Adv Ren Replace Ther* 2000;7(4):289-301.
40. Douvdevani A, Rapoport J, Konforty A, Argov S, Ovnat A, Chaimovitz C: Human peritoneal mesothelial cells synthesize IL-1 α and β . *Kidney Int* 1994;46:993-1001.
41. Topley N, Williams JD: Role of peritoneal membrane in the control of inflammation in the peritoneal cavity. *Kidney Int* 1998; (Suppl 48):46:71-78.
42. Lai KN, Lai KB, Lam Christopher WK, Chan TM, Li FK, Leung JC: Changes of cytokine profiles during peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 2000;35:4:644-652.
43. Vardhan A, Zweers MM, Gokal R, and Krediet RT: A solutions portfolio approach in peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2003;64(Suppl 88):114-123.
44. Honda K, Nitta K, Horita S et al: Accumulation of advanced glycation end products in the peritoneal vasculature of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with low ultrafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1541-1549.

45. Williams JD, Craig KJ, Topley N, et al: Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:470-479.
46. Hekking LH, Zareie M, Driesprong BA, et al: Better preservation of peritoneal morphologic features and defense in rats after long-term exposure to a bicarbonate/lactate-buffered solution. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2775-2786.
47. Krediet RT, Zweers MM, Van Der Wal AC, Struijk DG: Neoangiogenesis in the peritoneal membrane. *Perit Dial Int* 2000;20(Suppl2):19-25.
48. Mateijssen MAM, Van Der Wal AC, Hendriks PMEM, et al: Vascular and interstitial changes in the peritoneum of CAPD patients with peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int* 1999;19:517-525.
49. ter Wee PM, Belen RH, van den Born J: The application of animal models to study the biocompatibility of bicarbonate-buffered peritoneal dialysis solutions. *Kidney Int* 2003;64 (Suppl 88):75-83.
50. Catalan MP, Reyero A, Egido J, Ortiz A: Acceleration of neutrophil apoptosis by glucose-containing peritoneal dialysis solutions: role of caspases. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:244-249.
51. Ha H, Yu MR, Choi HN, et al: Effects of conventional and new peritoneal dialysis solutions on human peritoneal mesothelial cell viability and proliferation. *Perit Dial Int* 2000; 20(Suppl 5):10-18.
52. Ha H, Cha MK, Choi HN, Lee HB: Effects of peritoneal dialysis solutions on the secretion of growth factors and extracellular matrix proteins by human peritoneal mesothelial cells. *Perit Dial Int* 2002;22:171-177.
53. Kang DH, Hong YS, Lim HJ, Choi JH, Han DS, Yoon K: High glucose solution and spent dialysate stimulate the synthesis of transforming growth factor- β 1 of human peritoneal mesothelial cells: Effect of cytokine costimulation. *Perit Dial Int* 1999;19:221-230.
54. Mortier S, De Vriese AS, Van De Voorde J, et al: Hemodynamic effects peritoneal dialysis solutions on the rat peritoneal membrane: Role of acidity, buffer choice, glucose concentration and glucose degradation products. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:480-489.

55. Musi B, Carlsson O, Rippe A, et al: Effects of acidity, glucose degradation products and dialysis fluid buffer choice on peritoneal solute and fluid transport in rats. *Perit Dial Int* 1998;18:303-310.
56. Zheng Z-H, Sederholm F, Anderstam B, et al: Acute effects of peritoneal dialysis solutions on appetite in non-uremic rats. *Kidney Int* 2001;60:2392-2398.
57. Mortier S, De Vriese AS, Mcloughlin RM, et al: Effects of conventional and new peritoneal dialysis fluids on leukocyte recruitment in the rat peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1296-1306.
58. Cooker LA, Luneburg P, Holmes CJ, Jones S, Topley N, on behalf of the Bicarbonate/Lactate Study Group. *Perit Dial Int* 2001;21(Suppl 3):102-107.
59. Hekking LH, Zareie M, Driesprong BA, et al: Better preservation of peritoneal morphologic features and defense in rats after long-term exposure to a bicarbonate/lactate-buffered solution. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2775-2786.
60. Holgate S. The history of drug development and asthma management. *Eur Respir Rev* 1998;63:1028-1032.
61. Murphy RC, Hammarstrom S, Samuelsson B. Leukotriene C: a slow-reacting substance from murine mastocytoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;76:4275-4279.
62. Wasserman MA, Welton AF, Renzetti LM. Synergism exhibited by LTD₄ and PAF receptor antagonists in decreasing antigen-induced airway microvascular leakage. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 1995;23:273
63. Munoz NM, Leff AR. Blockade of eosinophil migration by 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibition in explanted guinea pig trachealis. *Am J Physiol* 1995;268:L446-L454.
64. Porreca E, D Febbo C, Di Sciullo A, et al. Cysteinyl leukotriene D₄ induced vascular smooth muscle cell proliferation: a possible role in myointimal hyperplasia. *Thromb Haemost* 1996;76:99-104 .

65. Cohen P, Noveral JP, Bhala A, Nunn SE, Herrick DJ, Grunstein MM. Leukotriene D4 facilitates airway smooth muscle cell proliferation via modulation of the IGF axis *Am J Physiol* 1995;269:151-157.
66. Markel P, Shu P, Ebeling C, et al. Theoretical and empirical issues for marker-assisted breeding of congenic mouse strains. *Nat Genet* 1997;17:280-284.
67. Lazarus SC, Wong HH, Watts MJ, Boushey HA, Lavins BJ, Minkwitz MC. The leukotriene receptor antagonist zafirlukast inhibits sulfur dioxide induced bronchoconstriction in patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1725-1730.
68. Wenzel SE. New approaches to anti-inflammatory therapy for asthma. *Am J Med* 1998;104:287-300.
69. Rodger IW. Leukotrienes, asthma and the preclinical science of montelukast. *Eur Respir Rev* 1998;59:358-60.
70. Barnes NC. Clinical tolerability of zafirlukast, a new oral antileukotriene drug. *Eur Respir Rev* 1998;54:194-198.
71. Goulet JL, Byrum RS, Key ML, Nguyen M, Wagoner VA, Koller BH. Genetic factors determine the contribution of leukotrienes to acute inflammatory responses. *J Immunol* 2000;164(9):4899-907.
72. Henderson WR Jr. The role of leukotrienes in inflammation. *Ann Intern Med* 1994;121:684-97.
73. Murakami M, Nakatani Y, Atsulni G, Inoue K, Kudo I. Regulatory functions of phospholipase A2. *Crit Rev Immunol* 1997;17:225-283.
74. Drazen JM, Israel E, Obyrne PM. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway 1999;340:197-204.
75. Loe DW, Almquist KC, Deeley RG, Cole SPC. Multidrug resistance protein (MRP)-mediated transport of leukotriene C4 and chemotherapeutic agents in membrane vesicles: demonstration of glutathione-dependent vincristine transport. *J Biol Chem* 1996;271:9675-9682.
76. Henderson WR Jr. The role of leukotrienes in inflammation. *Ann Intern Med* 1994;121:684-697.

77. Kawashima H, Kusunose E, Thompson CM, Strobel HW. Protein expression, characterization, and regulation of CYP4F4 and CYP4F5 cloned from rat brain. *Arch Biochem Biophys* 1997;347:148-154.
78. Yokomizo T, Ogawa Y, Uozumi N, Kume K, Izumi T, Shimizu T. cDNA cloning, expression, and mutagenesis study of leukotriene B4 12-hydroxydehydrogenase. *J Biol Chem* 1996;271:2844-2850.
79. Papi A, Caramori G, Fabbri LM. Current asthma therapies and issues in asthma management. *Eur Respir Rev* 1998;59:341-347.
80. Sampson AP. The pharmacology of leukotriene receptor antagonists. *Eur Respir Rev* 1998;63:1037-1041.
81. Coleman RA, Eglen RM, Jones RL, et al. Prostanoid and leukotriene receptors: a progress report from the IUPHAR working parties on classification and nomenclature. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 1995;23:283-285.
82. Yokomizo T, Izumi T, Chang K, Takuwa Y, Shimizu T. A G-protein – coupled receptor for leukotriene B4 that mediates chemotaxis. *Nature* 1997;387:620-624.
83. Dahlen SE. New antimediator drug treatments: what use might they be? *Eur Respir Rev* 1998;54:184-189.
84. Jeffrey M, Drazen M, D. Elliot Israel M, Paul M, O Byrne M. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. 1999;340:197-206.
85. Kemp JP, Dockhorn RJ, Shapiro GG, et al. Montelukast once daily inhibits exercise-induced bronchoconstriction in 6 to 14-year old children with asthma. *J Pediatr* 1998;133:424-428.
86. Dahlen SE. New antimediator drug treatments: what use might they be? *Eur Respir Rev* 1998;54:184-189.
87. Espinosa K, Bosse Y, Stankova J, Rola-Pleszczynski M. CysLT1 receptor upregulation by TGF- β 1 and IL-13 is associated with bronchial smooth muscle cell proliferation in response to LTD4. *J Allergy Clin Immunol*. May 2003;111(5):1032-1040.
88. Maekawa A, Austen KF, Kanaoka Y. Targeted gene disruption reveals the role of cysteinyl leukotriene 1 receptor in the enhanced vascular permeability

of mice undergoing acute inflammatory responses. *J Biol Chem* 2002;277(23):20820-20824.

89. Nansur MA, Al-Shabanah OA. Enhanced generation of leukotriene B₄ from calcium ionophore-stimulated rat peritoneal inflammatory cells: a possible clinical relevance. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2003; 2(1):47-52.
90. Zhong M, Cheng G, Wang W, Zhou L, Zhu X, Zhang J: Effects of leukotrienes on production of interleukin 6 from mouse peritoneal macrophages. *Yao Xue Xue Bao*. 1998;33(5):326-329. (abstract)
91. Border WA, Noble Nancy A. Transforming growth factor- β in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994;331:1286-1292.
92. Epstein FH, Blobel GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of Transforming growth factor- β in human disease. *N Engl J Med*;342:1350-1358.
93. Kagami S, Border WA, Miller DE, Noble NA. Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor- β expression in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* 1994;93:2431-2437. [Medline]
94. Ebner R, Chen R-H, Lawler S, Zioncheck T, Derynck R. Determination of type I receptor specificity by the type II receptors for TGF- β or activin. *Science* 1993;262:900-902. [Medline]
95. Lopez-Casillas F, Payne HM, Andres JL, Massague J. Biglycan can act as a dual modulator of TGF- β access to signaling receptors: mapping of ligand binding and GAG attachment sites. *J Cell Biol* 1994;124:557-568. [Abstract]
96. Roberts AB, Joyce ME, Bolander ME, Sporn MB. Transforming growth factor- β TGF β : a multifunctional effector of both soft and hard tissue regeneration. In: Westermarck B, Betsholtz C, Hokfelt B. *Growth factors in health and disease: basic and clinical aspects*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1990:89-101.
97. Bategay EJ, Raines EW, Seifert RA, Bowen-Pope DF, Ross R. TGF β induces bimodal proliferation of connective tissue cells via complex control of an autocrine PDGF loop. *Cell* 1990;63:515-524 (Medline).
98. Pepper MS, Belin D, Montesano R, Orci L, Vassalli J-D. Transforming growth factor- β 1 modulates basic fibroblast growth factor-induced proteolytic and

- angiogenic properties of endothelial cells in vitro. *J Cell Biol* 1990;111:743-755(Abstract) .
99. Ha H, Yu M, R, Lee HB: High glucose-induced PKC activation mediates TGF- β 1 and fibronectin synthesis by peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int* 2001; 59:463-470.
 100. Okuda S ,Languino LR,Ruoslahti E,Border WA.Elevated expression of transforming growth factor- β and proteoglycan production in experimental glomerulonephritis :possible role in expansion of the mesangial extracellular matrix. *J Clin Invest* 1990;86:453-462.[Medline]
 101. Yamamoto T,Nakamura T,Noble NA,Ruoslahti E,Border WA.Expression of transforming growth factor- β is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:1814-1818.[Abstract]
 102. Ziyadeh FN,Han DC.Involvement of transforming growth factor- β and its receptors in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 1997;60:7-11.
 103. Kim S, Iwao H. Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol Rev* 2001;52:11-34.
 104. Ha H, Yu MR, Lee HB. High glucose-induced PKC activation mediates TGF β and fibronectin synthesis by human peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int* 2001;59:463-470.
 105. Ha H ,Lee HB.Effect of high glucose on peritoneal mesothelial cell biology. *Perit Dial Int* 2000;(Suppl 2):15-18
 106. Digenis GE,Dombros NV.Procollagen type I (PICP) in CAPD patients. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:1193.
 107. Nagy JA, Jackman RW:Anatomy and physiology of the peritoneal membrane. *Semin Dial* 11:49-56,1998
 108. Kumano K, Shimoda M, Hyodo T, Sakai T. The role of TGF β in growth inhibition of peritoneal mesothelial cells in high-glucose dialysate. *Perit Dial Int* 1995;15(Suppl 7):93-95.
 109. Zweer MM, de Waart DR, Smit W, Struijk DG, Krediet RT. Growth factors VEGF and TGF β 1 in peritoneal dialysis . *J Lab Clin Med* 1999;134:124-132.

110. Zweer MM, Struijk DG, Smit W, Krediet RT. Vascular endothelial growth factor in peritoneal dialysis :a longitudinal follow-up. *J Lab Clin Med* 2001;137:125-132.
111. Combet S, Miyata T, Moulin P, Pouthier D, Goffin E, Devuyst O. Vascular proliferation and enhanced expression of endothelial nitric oxide synthase in human peritoneum exposed to long-term peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:717-728.
112. Witowski J, Korybalska K, Wisniewska J, Breborowicz A, Gahl GM, Frei U, Passlick-Deetjen J, Jörres A: Effect of glucose degradation products on human peritoneal mesothelial cell function. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:729-739.
113. Inagi R, Miyata T, Yamamoto T, Suzuki D, Urakami K, Saito A, et al. Glucose degradation product methylglyoxal enhances the production of vascular endothelial growth factor in peritoneal cells: role in the functional and morphological alterations of peritoneal membranes in peritoneal dialysis. *FEBS Lett* 1999;463:260-264.
114. Hunjoo Ha, Mi Kyung Cha, Hoo Nam Choi and Hi Bahl Lee. Effects of peritoneal dialysis solutions on the secretion of growth factors and extracellular matrix proteins by human peritoneal mesothelial cells. *Perit Dial Int* 2002;22:171-177.
115. Aiello LP, Wong J-S. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic vascular complications. *Kidney Int Suppl* 2000;77:113-119.
116. Cha DR, Kim NH, Yoon JW, Jo SK, Cho WY, Kim HK, et al. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 2000;77:104-112.
117. Saadeh PB, Mehrara BJ, Steinbrech DS, Dudziak ME, Greenwald JA et al: Transforming growth factor- β 1 modulates the expression of vascular endothelial growth factor by osteoblasts. *Am J Physiol* 1999;277:628-637.
118. Hoff CM, Inman KL, Piscopo D, Shockley TR: TGF- β mediated production of VEGF by rat primary mesothelial cells. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:310.

119. Ferrara N: Role ofVascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis.Kidney Int 1999;56:794-814.
120. Hippenstiel S, Krüll M,Ikemann A,Risau W, Clauss M,Suttorp N:VEGF induces hyperpermeability by a direct action on endothelial cells.Am J Physiol 1998;274:678-684.
121. Breborowicz A, Oreopoulos G:Evidence for the presence of chronic inflammation during peritoneal dialysis: Therapeutic implications.Perit Dial Int 1997;17(Suppl 2):37-41.
122. Mlambo NC, Hylander B, Brauner A:Increased levels of Transforming growth factor- β 1 and basic fibroblast growth factor in patients on CAPD:A study during non-infected steady state and peritonitis.Inflammation 1999;23:131-139.
123. Wang T, Ghen YG, Ye RG,Mai WY, Zhen ZH, Li HQ:Enhanced expression of TGF- β 1 by peritoneal macrophages in CAPD patients.Adv Perit Dial 1995;11:11-14.
124. Lai KN, Lai KB, Szeto CC,Lam CWK, Leung JCK:Growth factors in continuous ambulatory peritoneal dialysis effluent.Am J Nephrol 1999;19:416-422.
125. Koopmans JG, Boeschoten EW, Pannekeet MM:Impaired initial cell reaction in CAPD related peritonitis.Perit Dial Int..16(Suppl 1) 362-367,1996
126. Miller TE,Findon G,Rowe L:Characterization of an animal model of continuous peritoneal dialysis in chronic renal impairment.Clin Nephrol 1992;7:42-47.
127. Churchill DN, Thorpe KE, Nolph KD, Keshaviah PR, Oreopoulos DN, Page D:Increased peritoneal membrane transport is associated with decreased patient and technigue survival for continuous peritoneal dialysis patients:The Canada-USA (CANUSA) Peritoneal Dialysis Study Group.J Am Soc Nephrol 1998;9:1285-1292.
128. Lameire N, Van Biesen W, Van Landschoot M, Wang T, Heimbürger O, Bergström J, et al. Experimental models in Peritoneal dialysis: A European experience.Kidney Int 1998;54:2194-2206.

129. Krediet RT, Lindholm B, Rippe B: Pathophysiology of peritoneal membrane failure. *Perit Dial Int* 2000;20[Suppl 4]: S22-S42.
130. Peng WX, Guo QY, Liu SM, Liu CZ, Lindholm B, Wang T. Comparison of three chronic dialysis models. *Adv Perit Dial* 2000;16:51-54.
131. Wieczorowska-Tobis K, Breborowicz A, Pawlaczyk K, Kuzlan-Pawlaczyk M, Polubinska A, Oreopoulos DG. Animal models in Peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1999;19(Suppl 2):189-192
132. Mortier S, De Vriese AS, Leyssens A, Vanacker NJ, Faict D, Cornelissen M, De Ridder L, Lameire NH. Antibiotic administration in an animal model of chronic peritoneal dialysate exposure. *Perit Dial Int* 2003;23:331-38.
133. Yen CJ, Tsai TJ, Chen HS, Fang CC, Yang CC, Lee PH, et al. Effects of intraperitoneal antibiotics on human peritoneal mesothelial cell growth. *Nephron* 1996;74:694-700.
134. Wieczorowska K, Khanna R, Moore H, Nolph K, Twardowski Z. Rat model of peritoneal fibrosis: preliminary observations. *Adv Perit Dial* 1995;11:48-51.
135. Pecoits-Filho RF, Twardowski ZJ, Khanna R, Kim YL, Goes S, Moore H. The effect of antibiotic prophylaxis on the healing of exit sites of peritoneal dialysis catheters in rats. *Perit Dial Int* 1998;18:60-3.)
136. Pawlaczyk K, Garcia-Lopez E, Kuzlan-Pawlaczyk M, Heimbürger O, Bergström J, Breborowicz A et al. The effect of icodextrin-based solutions on peritoneal transport in rats undergoing chronic Peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2001;21(Suppl 3):S359-61
137. Honda K, Nitta K, Horita S, Yumura W, Nihei H. Morphological changes in the peritoneal vasculature of patients on CAPD with ultrafiltration failure. *Nephron* 1996;72:171-176.
138. Nakayama M, Kawaguchi Y, Yamada K, Hasegawa T, Takazoe K, Katok N, et al. Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end products in the peritoneum and its possible pathophysiological role in CAPD. *Kidney Int* 1997;51:182-6
139. 142187. Davies SJ, Bryan J, Phillips L, Russell GI. Longitudinal changes in peritoneal kinetics: effects of peritoneal dialysis and peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:498-506.

140. Combet S, Ferrier ML, Van Landschoot M, Stoenou M, et al. Chronic Uremia Induces Permeability Changes, Increased Nitric Oxide Synthase Expression, and Structural Modifications in the Peritoneum *J Am Soc Nephrol* 2001;12: 2146-2157.
141. Williams JD, Craig KJ, Topley N, et al: Morphological changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:470-479.
142. Butterly DW, Spurney F, Ruiz P, Griffiths R, Albrightson C, Coffmann T. A role for leukotrienes in cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 2000;57:2586-2593
143. Shihab F, Andoh T, Tanner M, Noble A, Border W, Francheschin N, Bennet W. Role of transforming growth factor- β 1 in experimental chronic cyclosporine nephropathy. *Kidney Int* 1996;49:1141-1151
144. Dobbie JW, Anderson JD, Hind C. Long-term effects of peritoneal dialysis on peritoneal morphology. *Perit Dial Int* 1994;14(Suppl):S16-20.)
145. Ferrier ML, Combet S, van Landschoot M, Stoenou MS, Cnops Y, Lameire N, et al. Inhibition of nitric oxide synthase reverses changes in Peritoneal permeability in a rat model of acute peritonitis. *Kidney Int* 2001;60:2343-50.
146. Medcalf JF, Walls J, Pawluczyk IZA, Harris KPG. Effects of glucose dialysate on extracellular matrix production by human peritoneal mesothelial cells (HPMC): the role of TGF- β 1. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1885-1892
147. Miyata T, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K, Baynes JW: Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: Origin and significance of "carbonyl stress" in long-term uremic complications. *Kidney Int* 1999;55:389-399.
148. The Textbook of peritoneal Dialysis 2nd ed., edited by Gokal R, Khanna R, Krediet RT, Nolph KD, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2000, pp135-172
149. Soner Duman, Ali İhsan Günal, Sait Sen, Gülay Asçi, Mehmet Özkahya, Ender Terzioğlu, Fehmi Akçiçek, Gürhun Atabay. Does enalapril

prevent peritoneal fibrosis induced by hypertonic(%3.86)peritoneal dialysis solution?.Perit Dial Int.2001;21(2):219-224.

150. Ali İhsan Günal,Hüseyin Celiker, Nusret Akpolat,Bilal Üstündağ,Soner Duman,Fehmi Akçiçek.By reducing production of vascular endothelial growth factor octreotide improves the peritoneal vascular alterations induced by hypertonic peritoneal dialysis solution. Perit Dial Int 2002;22:301-306.

