

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİNİN**  
**PROGRESYONUNDA ADİPONEKTİN ETKİ**  
**MEKANİZMASI VE BU MEKANİZMA ÜZERİNE**  
**PLASENTA KAYNAKLI MEZENKİMAL KÖK**  
**HÜCRELERİN ETKİSİ**

Ezgi AKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2018-ANTALYA

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİNİN**  
**PROGRESYONUNDA ADİPONEKTİN ETKİ**  
**MEKANİZMASI VE BU MEKANİZMA ÜZERİNE**  
**PLASENTA KAYNAKLI MEZENKİMAL KÖK**  
**HÜCRELERİN ETKİSİ**

Ezgi AKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2017-2398 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2018-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Tıbbi Biyokimya programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 08/06/2018

İmza

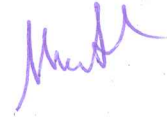
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Dijle KIPMEN KORGUN  
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Gültekin YÜCEL  
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. İbrahim ASLAN  
Sağlık Bilimleri Üniversitesi



Bu tez Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../... tarih ve .../... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN  
Enstitü Müdürü

## ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Ezgi AKAN

İmza

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN

İmza

## TEŐEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgilerini, desteğini ve yardımını esirgemeyen başta değerli danışman hocam Doç. Dr. Dijle KİPMEN KORGUN'a,

En az danışman hocam kadar üzerimde emeiği olan sayın hocam Prof. Dr. Emin Tırkay KORGUN'a,

Eğitim hayatım boyunca beni destekleyen çok kıymetli annem Sibel AKAN, babam Osman AKAN, ablam Nur AKAN ÇEVİK ve eői zgür ÇEVİK'e,

Yüksek lisans eğitim sürecimde, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyelerine,

Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nin tüm çalıőanlarına ve Erol NİZAMOğLU'na,

Akademik hayatımın sadece bu sürecinde değil uzun yıllardır hayatımın her sürecinde yanımda olan sevgili dostlarıma ve iş arkadaşlarıma,

Her daim güler yüzleriyle yardıma hazır olan Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün tüm değerli çalıőanlarına sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Amaç:** Kronik glomerüler ve tübülointerstisyel fibrozis, son dönem böbrek yetmezliğinin en yaygın sebebidir. Böbrek, sınırlı koşullarda organın kendisini yenilemesine izin veren intrinsik rejeneratif kapasiteye sahiptir. Mezenkimal kök hücre (MKH) tedavisi, böbrek hasarının rejenerasyonu için umut verici sonuçlar sunmaktadır. MKH'lerin terapötik etkilerinin gösterilebilmesi açısından ölçülebilir biyobelirteçler büyük önem taşımaktadır. Adiponektin, kronik böbrek yetmezliği (KBY) gelişimi için önerilen biyobelirteçlerden biridir. Çalışmamızda, sıçanlara subtotal nefrektomi yaparak kronik böbrek yetmezliği oluşturuldu ve insan plasentasından elde edilen mezenkimal kök hücreler enjekte edilerek böbrek hastalığında önemli bir biyobelirteç olabileceği önerilen adiponektinin rolü ve bu rol üzerine mezenkimal kök hücrelerin etkisi incelendi.

**Yöntem:** Çalışmamızda ilk olarak term plasentalarındaki amniyon membranından mezenkimal kök hücrelerin izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen hücrelerin flow sitometre ile karakterizasyonu yapıldı ve ardından mezenkimal hücrelerin adiposit, kondrosit ve osteositlere yönlendirilmesi sağlandı. Deney gruplarını oluşturmak için Wistar türü erkek ratların sol böbreklerine ligasyon yapıldıktan iki hafta sonra sağ böbrekleri tamamen alınarak 5/6 nefrektomi yapılmış oldu. Daha sonra bazı gruplara kök hücre enjeksiyonu uygulandı. Tüm gruplarda Adiponektin, Adiponektin Reseptör 1 (AdipoR1) ve Fibronektin'in protein düzeyleri western blot yöntemi ile, mRNA ekspresyonları ise Real-Time PCR yöntemi ile tespit edildi. Ayrıca, Adiponektin, sinyalizasyonu açısından AMPK fosforilasyonu Western Blot yöntemi ile değerlendirildi. Son olarak da adiponektinin idrar ve serum düzeyleri sıçana özgü ELISA kiti kullanılarak ölçüldü.

**Bulgular:** Adiponektin, AdipoR1 ve Fibronektin protein ve mRNA ekspresyonlarında ve AMPK fosforilasyonunda nefrektomi yapılan gruplarda kontrol gruplarına kıyasla bir artma gözlenirken; 5/6 nefrektomi yapıldıktan sonra kök hücre verilmiş olan sıçanlarda, kök hücre verilmemiş KBY'li gruplar ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma belirlendi. Ayrıca, kök hücre verilen gruplarda serum adiponektin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artma gözlenirken, idrar adiponektin düzeylerinde ise anlamlı bir azalma tespit edildi.

**Sonuç:** Sonuç olarak, kan ve idrarda ölçülebilir bir biyobelirteç olan adiponektin kronik böbrek hastalığının ilerlemesinde önemli bir role sahiptir. KBY'de klinik denemeler ve deneysel sistemlerin dizaynı açısından MKH'ler terapötik olarak rol oynayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Mezenkimal kök hücre, kronik böbrek yetmezliği, adiponektin, fibrozis.

## ABSTRACT

**Objective:** Chronic glomerular and tubulointerstitial fibrosis is the most common cause of end-stage renal failure. The kidney has an intrinsic regenerative capacity that allows the organ to regenerate itself under limited conditions. Mesenchymal stem cell therapy offers promising results for regeneration of kidney damage. measurable biomarkers are of great importance for demonstrating the therapeutic effects of mesenchymal stem cells. Adiponectin is one of the recommended biomarkers for the development of chronic renal failure. In our study, we performed subtotal nephrectomy in rats to establish chronic renal failure and injected mesenchymal stem cells from human placenta to investigate the role of proposed adiponectin and the effect of mesenchymal stem cells on this role as an important biomarker in renal disease.

**Methods:** In our study, mesenchymal stem cells were isolated from the amnion membrane of term placentas. The obtained cells were characterized by flow cytometry and then mesenchymal cells were directed to adipocytes, chondrocytes and osteocytes. In order to construct the experimental groups, 5/6 nephrectomy was performed after two weeks after the ligation of the left kidneys of male Wistar rats. Some groups were then injected with stem cells. Protein levels of Adiponectin, Adiponectin Receptor 1 (AdipoR1) and Fibronectin were determined by western blot method and mRNA expressions by Real-Time PCR method in all groups. In addition, adiponectin was evaluated for signaling by AMPK phosphorylation by Western Blot method. Finally, urine and serum levels of adiponectin were measured using a rat specific ELISA kit.

**Findings:** Adiponectin, AdipoR1 and Fibronectin protein and mRNA expressions and AMPK phosphorylation were increased in the nephrectomy groups compared to the control groups. After 5/6 nephrectomy, there was a statistically significant decrease in stem cell-injected rats compared with groups with untreated stem cells. In addition, there was a statistically significant increase in serum adiponectin levels and a significant decrease in urinary adiponectin levels in the stem cell group.

**Conclusion:** As a result, adiponectin, a measurable biomarker in blood and urine, plays an important role in the progression of chronic kidney disease. mesenchymal stem cells may play a therapeutic role in terms of clinical trials and design of experimental systems in chronic renal failure.

**Key words:** Mesenchymal stem cell, chronic renal failure, adiponectin, fibrosis.

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
<b>ÖZET</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Hipotezin Temeli ve Amaç	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Böbrek	3
2.1.1. Böbrek Hasarı	5
2.1.2. Kronik Böbrek Yetmezliği	7
2.2. Kök Hücreler	14
2.2.1. Mezenkimal Kök Hücreler	18
2.3. Plasenta	19
2.4. MKH'lerin KBY'de Uygulanması	20
2.5. Adipositokinler	26
2.5.1. Adiponektin	27
2.6. KBY'de Adiponektin	34



<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	37
<b>3.1. Term Plasentalardaki Amniyon Membranından Mezenkimal Kök Hücrelerin İzolasyonu</b>	37
<b>3.2. Hücrelerin Flow Sitometre ile Karakterizasyonu</b>	38
<b>3.3. Mezenkimal Hücrelerin Adiposit, Kondrosit ve Osteositlere Yönlendirilmesi</b>	39
<b>3.3.1. Osteositlere Yönlendirme</b>	39
<b>3.3.2. Adipositlere Yönlendirme</b>	40
<b>3.3.3. Kondrositlere Yönlendirme</b>	41
<b>3.4. KBY'li Hayvan Modelinin Oluşturulması</b>	41
<b>3.5. Western Blot</b>	43
<b>3.5.1. Lizat Hazırlama</b>	43
<b>3.5.2. Protein Miktar Tayini</b>	44
<b>3.5.3. SDS-PAGE Metodu</b>	44
<b>3.6. Real-Time PCR Protokolü</b>	46
<b>3.6.1. Total RNA İzolasyonu</b>	46
<b>3.6.2. DNaz Muamelesi</b>	47
<b>3.6.3. cDNA Sentezi</b>	47
<b>3.6.4. Real-Time PCR Reaksiyonu</b>	47
<b>3.7. Serum Ve İdrar Adiponektin Düzeyinin Ölçülmesi</b>	48
<b>3.8. İstatistiksel Analizler</b>	48

<b>4. BULGULAR</b>	49
4.1. İzole Edilen Mezenkimal Kök Hücrelerin FACS Analiz Sonuçları	49
4.2. Mezenkimal Kök Hücrelerin Yönlendirme Sonuçları	51
4.3. Western Blot Bulguları	53
4.3.1. Adiponektin Protein Ekspresyonu	53
4.3.2. AdipoR1 Protein Ekspresyonu	54
4.3.3. Fibronektin Protein Ekspresyonu	55
4.3.4. AMPK Fosforilasyonu	56
4.4. Real-Time PCR Bulguları	57
4.4.1. Adiponektin mRNA Ekspresyonu	57
4.4.2. AdipoR1 mRNA Ekspresyonu	58
4.4.3. Fibronektin mRNA Ekspresyonu	59
4.5. ELİSA Bulguları	59
4.5.1. Serum ve İdrar Adiponektin Düzeylerinin Ölçülmesi	59
<b>5. TARTIŞMA</b>	62
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	67
<b>KAYNAKLAR</b>	69
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	96

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 2.1.</b> Böbreğin genel yapısı	4
<b>Şekil 2.2.</b> Kök hücrelerin oluşum ve farklılaşma mekanizması	15
<b>Şekil 2.3.</b> Renal hasarların deneysel modellerinde kullanılan MKH kaynakları	17
<b>Şekil 2.4.</b> Adiponektinin biyokimyasal yapısı	28
<b>Şekil 2.5.</b> AdipoR1, AdipoR2 ve T-Kadherin aracılığıyla adiponektin sinyal iletimi	33
<b>Şekil 2.6.</b> Renal hasarda adiponektin	36
<b>Şekil 4.1.</b> İzole edilen mezenkimal kök hücrelerin FACS analiz sonuçları	49
<b>Şekil 4.2.</b> İzole edilen mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma boyamaları	52
<b>Şekil 4.3.</b> Adiponektin protein ekspresyonları	53
<b>Şekil 4.4.</b> AdipoR1 protein ekspresyonları	54
<b>Şekil 4.5.</b> Fibronektin protein ekspresyonları	55
<b>Şekil 4.6.</b> pAMPK ve AMPK protein ekspresyonları	56
<b>Şekil 4.7.</b> Adiponektin mRNA düzeyleri	57
<b>Şekil 4.8.</b> AdipoR1 mRNA düzeyleri	58
<b>Şekil 4.9.</b> Fibronektin mRNA düzeyleri	59
<b>Şekil 4.10.</b> Sıçan adiponektini standart grafiği	60
<b>Şekil 4.11.</b> Serum Adiponektin (ng/mL) düzeyleri	60
<b>Şekil 4.12.</b> İdrar Adiponektin (ng/mL) düzeyleri	61

## TABLolar DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Major adipositokinlerin karakteristikleri ve KBY'deki etkileri	27
<b>Tablo 3.1.</b> Hayvan gruplarının oluşturulması	42
<b>Tablo 3.2.</b> Ayrırma jeli hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarları	45
<b>Tablo 3.3.</b> Toplama jeli hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarları	45
<b>Tablo 3.4.</b> Western Blot yönteminde kullanılan antikorlar ve seyreltmeleri	46
<b>Tablo 3.5.</b> Real-time PCR deneyi için kullanılan oligonükleotid primerler	48

## SİMGELER ve KISALTMALAR

- AdipoQ:** Adiponektin  
**AdipoR1:** Adiponektin Reseptör 1  
**AdipoR2:** Adiponektin Reseptör 2  
**AM:** Amniyotik Membran  
**AMPK:** Amp-Aktive Edici Protein Kinaz  
**Apm1:** Adipoz En Bol Gen Transkript 1  
**DN:** Diyabetik Nefropati  
**DBH:** Diyabetik Böbrek Hastalığı  
**EESI-MS:** Ekstrakt Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometresi  
**EKH:** Embriyonal Kök Hücre  
**EMT:** Epitelyalden Mezenkimale Geçiş  
**GFO:** Glomerüler Filtrasyon Oranı  
**GPI:** Glikozil Fosfatidil İnositol  
**HKH:** Hematopoetik Kök Hücre  
**HMW:** Yüksek Molekül Ağırlık  
**KBH:** Kronik Böbrek Hasarı  
**KBY:** Kronik Böbrek Yetmezliği  
**KP:** Koryonik Plak  
**KVH:** Kardiyovasküler Hastalık  
**LMW:** Düşük Molekül Ağırlık  
**MKH:** Mezenkimal Kök Hücre  
**MMW:** Orta Molekül Ağırlık  
**NKH:** Nöral Kök Hücre  
**PPAR-A:** Peroksizom Proliferatörü İle Aktive Olan Reseptör-A  
**SCr:** Serum Kreatinini  
**SDS-PAGE:** Sodyum Dodesilsülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi  
**SEBY:** Son Evre Böbrek Yetmezliği  
**TGF-β:** Transforme Edici Büyüme Faktörü β  
**UC:** Umbilikal Kord  
**YKH:** Yetişkin Kök Hücre

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Hipotezin Temeli ve Amaç

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), dünya popülasyonunun %8-16'sını etkileyen global bir hastalıktır (Eirin ve ark., 2014). KBY, glomerüler filtrasyon değerinde azalma sonucu böbreğin metabolik fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma hali olarak tanımlanabilir. KBY'nin belirgin özelliği, sağlıklı dokunun erozyonu ve fibrozis nedeniyle zaman içerisinde sürekli olarak böbrek fonksiyonlarının kaybıdır. Kronik, glomerüler ve tübülointerstisyel fibrozis, son evre böbrek yetmezliğinin (SEBY) en yaygın sebebidir. Böbrek, sınırlı koşullarda organın kendisini yenilemesine izin veren intrinsik rejeneratif kapasiteye sahiptir. Ancak bu rejeneratif potansiyel, kronik koşullar altında sınırlıdır ve ilerleyici glomerülosklerozi ve tübülointerstisyel fibrozisi önlemek için etkili değildir. Güncel tedaviler, renal hastalığın progresyonunun altında yatan ana sebepleri hedef almak adına çok başarılı değildir. Yardımcı hücrel rejenerasyon tedavi stratejileri, KBY hastaları için iyi alternatifler sunmaktadır.

Mezenkimal kök hücreler (MKH) ve MKH-benzeri hücrelerin multipotent olmaları ve kültür koşullarında kolayca çoğaltılabilmeleri nedeniyle özellikle doku onarımlarındaki ve gen tedavilerindeki potansiyelleri göz önüne alınarak önemleri artmıştır. Bu nedenle, MKH'ler birçok klinik tarafından bir dizi hastalıkta denenmektedir. Kök hücrelerin, kendi kökeni dışında birçok farklı dokuya ait hücelere farklılaşabilme yeteneği (transdiferansiyasyon/ plastisite) çok büyük ilgi uyandırır da aslında bu değişimin çok az sayıda hücreyi kapsadığı bilinmekte ve iyileşmeye olan katkıda, özellikle çözülebilir faktörlerin salınımı olmak üzere diğer mekanizmaların da etkisinin düşünülmesi gereği vurgulanmaktadır (Pittenger ve ark., 1999; Krause ve ark., 2001; Anderson ve ark., 2001; Verfaillie ve ark., 2002; Krause 2002; Lee ve ark., 2004; Pomerantz ve Blau 2004; Lakshmiopathy ve Verfaillie 2005; Lemoli ve ark., 2005).

Mezenkimal kök hücre tedavisi, böbrek hasarının rejenerasyonu için umut verici sonuçlar sunmaktadır. Son yıllarda, çeşitli deneysel kronik böbrek hasarı (KBH) modellerinde ve klinik çalışmalarda, MKH'lerin renal hasarı düzeltme potansiyeli üzerine çok sayıda çalışma mevcuttur. Ancak MKH'lerin terapötik etkileri ile ilişkili

hücrel mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. MKH'lerin umut verici sonuçlarının tercümesi için, terapötik cevaba erken indikatörler olarak hizmet veren ölçülebilir faktörlerin (biyobelirteç) belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Kan ve idrarda ölçülebilir biyobelirteçlere ait artan bilgiler, KBY'ye terapötik müdahalede MKH'lerin klinik denemeler ve deneysel sistemlerin dizaynı açısından oldukça büyük önem taşımaktadır (Tomás ve ark., 2016).

Adiponektin, KBY gelişimi için önerilen biyobelirteçlerden biridir. Anti-inflamatuvar, anti-aterosklerotik ve insülin-duyarlı etkiler ile ilişkili olduğu önerilen bir adipoz doku proteindir. Karaciğer, kalp, pankreatik  $\beta$  hücreleri, böbrek ve çeşitli dokulardaki diğer hücre tiplerinde etkilerini gösterir. Adiponektin, glomerüler filtrasyon bariyerini geçerek inflamasyonu, fibrozisi ve böbreklerdeki AMP-aktive edici protein kinazın (AMPK) aktivasyonu ile oksidatif stresi inhibe eder. Adiponektin, glomerüler filtrasyon bariyerini muhtemelen, glomerüler hücreler üzerinde etki ederek AMPK'nın AdipoR1-aracılı aktivasyonuna sebep olarak geçer.

Çalışmamızda nefrektomi yapılarak sıçanlarda kronik böbrek yetmezliği oluşturulmuş ve bu sıçanlara insan plasentasından elde edilmiş olan mezenkimal kök hücreler enjekte edilmiştir. Böbrek hastalığında önemli bir biyobelirteç olabileceği önerilen adiponektin üzerine mezenkimal kök hücrelerin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla; ilk olarak MKH enjekte edilmiş ve edilmemiş sıçanlarda adiponektinin idrar ve serum düzeylerini belirledik. Adiponektin etki mekanizmasını incelemek için, MKH enjekte edilmiş ve edilmemiş sıçanların böbreklerinde adiponektin ve AdipoR1'in mRNA ve protein düzeylerini tespit ettik. Ayrıca, adiponektin etki mekanizmasında merkezi bir rol oynayan sinyal molekülü AMPK'nın protein düzeylerini belirledik. Son olarak da KBY oluşturulup MKH verilmiş sıçanların böbreğinde oluşan fibrozisin onarılmasında MKH'nin etkisini değerlendirebilmek amacıyla fibronektinin mRNA ve protein düzeylerini araştırdık.

## 2. GENEL BİLGİLER

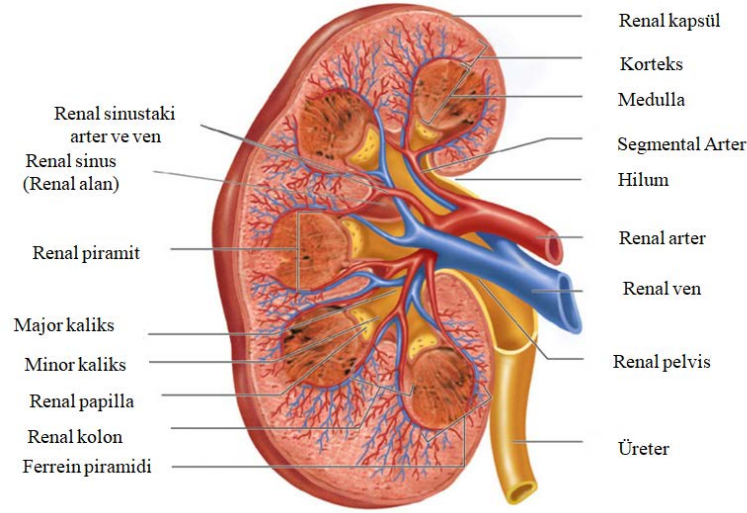
### 2.1. Böbrek

Böbrekler, karın duvarının arkasında, periton boşluğunun dışında ve lomber bölgedeki belin hemen üzerinde yer alan işlevsel organlardır. Sağ böbrek, karaciğerin pozisyonu nedeniyle sol böbreğe göre biraz daha aşağıda yer alır. Böbrekler oldukça vaskülerdir ve birçok kan damarı içerir. Yapısal olarak, korteks, renal medulla ve renal pelvis olmak üzere üç ana bölgeye ayrılırlar.

Böbrekler, önlerinde yer alan karın yapısı, omurgaya bağlanan kaslar tarafından ve yağ tabakasıyla korunurlar. "Nefron" böbreğin fonksiyonel birimidir ve her yetişkin böbreğinde neredeyse bir milyon nefron vardır ve yapı kan damarları ile çevrelenir. Nefronun temel bileşenleri glomerulus, proksimal tübül, Henle kulbu, distal tübül ve toplama kanallarıdır (Humphreys ve ark., 2008).

Glomerüler epitelyal hücreler olarak adlandırılan podositler, komşu hücre pedikülleri ile iç içe geçer ve pediküller arasında filtrasyon işleminin seçiciliğini düzenlemeye yardımcı olan, evrim geçirmiş bir hücre içi bağlantı noktası vardır. Tübüler yapılar renal epitelyumunun yapısal ve fonksiyonel olarak bir dizi aktiviteyi gerçekleştirmesine izin verir. Proksimal tübül, filtrattan iyonlar, glukoz ve amino asitler ile birlikte sıvı alımından sorumludur. Ayrıca ağır metaller ve gentamisin gibi nefrotoksik antibiyotikler de dahil olmak üzere bir dizi toksik materyali reabsorbe eder ve akut tübüler nekroz gibi patolojik durumlarda yer alır. Henle Kulbu idrarın konsantre edilmesi için gerekli olan konsantrasyon gradientinin yaratılmasına yardımcı olur. Distal tübül ve toplama kanalının birleşmesi ile adlandırılan distal nefron ise idrarın kompozisyonuna son ayarlamaları sağlar. Böbreğin genel yapısı ve birimleri Şekil 2.1'de gösterilmiştir.





Şekil 2.1. Böbreğin genel yapısı

Böbreğin yapısı ve her bir birimin fonksiyonu aşağıdaki maddeler şeklinde sıralanabilir:

- Renal Kapsül: Böbreği çevreleyen dış zar; ince ama sağlam ve lifli yapıdadır.
- Renal Korteks: Kortikal dokunun uzantılarını içeren böbreğin dış bölgesi, yaklaşık bir milyon nefron içerir.
- Medulla: 8-12 renal piramit içeren böbreğin iç bölgesidir; piramitler kalikse boşalır.
- Medüller Piramitler: Toplama kanalları tarafından oluşturulan böbreğin iç kısmı.
- Nefron: Böbreklerdeki filtrasyon birimleridir.
- Renal Arter: Aorttan çıkan dallar, nefron içinde süzülme üzere böbreğe atık dolu kan getirir.
- Renal Ven: Filtrelenmiş kanı böbreklerden inferior vena cava'ya çıkarır.
- Renal Kaliks: Renal pelvisin uzantısı; idrarı piramitlerden renal pelvise yönlendirirler.
- Renal Pelvis: Nefrondan idrar toplayan ve üreterin üst ucuna doğru daralan yapı.
- Üreter: Böbrek pelvisinden süzüntü ve idrarı toplar ve mesaneye götürür.

Böbrek gelişimi ve fonksiyonel devamlılığı üriner sistem başta olmak üzere pek çok yapı için kritik öneme sahiptir.

### **2.1.1. Böbrek Hasarı**

Böbrek hasarları parankima, büyük kan damarları veya toplama sistemleri içinde olabilir ve çoğunlukla böbrek dokusunun doğrudan muayenesinden ziyade belirteçleri aracılığıyla ortaya çıkarılabilir. Böbrek hasarı belirteçleri, sıklıkla böbrek içindeki olası hasar bölgesine ve diğer klinik bulgulara ve böbrek hastalığının nedenine dair bir ipucu verir.

Çeşitli böbrek hastalıkları, podositler, tübüler epitel hücreleri, mesanjiyal hücreler veya endotelyal hücreler dahil olmak üzere farklı hücre tiplerinin yaralanmasına neden olur. Bu durum, çeşitli derecelerde böbrek fonksiyonunu bozmasına rağmen, aynı zamanda, yaralı böbrek dokularının rejenerasyonundan sorumlu mekanizmaları harekete geçirir (Humphreys ve ark., 2008). Mevcut çalışmalara göre, endojen renal hücrelerin yeniden programlanması, kemik iliği türevli hücrenin ve makrofajın böbrek içine göçü, renal progenitör hücre farklılaşması ve neoanjiyogenez dahil olmak üzere dört ana rejenerasyon süreci vardır. Artan kanıtlar, rejenerasyon sürecinin hücre dediferansiyasyonu yoluyla böbrek gelişimine benzer olduğunu göstermiştir. Nefrogenez sırasında hayati olan genler, yetişkin böbreklerde yaralanmayı takiben hücresel rejenerasyonu ve doku tamirini düzenleyebilir (Martin ve Parkhurst 2004; Monte ve ark., 2007). Makrofajlar, akut fazdaki ölü dokuları temizleyebilir ve onarım sırasında tübüler epitel hücrelerin rejenerasyonunu destekleyebilir (Lin ve ark., 2010; Lee ve ark., 2011; Lin ve Duffield 2012).

Lokal bölgeden veya dolaşımdan alınan farklı renal progenitör hücreler, hedef hücrelere farklılaşma potansiyeline sahiptir ve hayatta kalan böbrek hücresi çoğalmasını ve böbrek onarımının yaralanmadan sonra gelişmesini destekler (Benigni ve ark., 2010).

Neoanjiyogenez, vasküler büyüme faktörleri ve endotelyal progenitör hücreler yoluyla uyarılır ve oksidatif stresi ve nefron kaybını azaltabilir.

Böbrek hasarı genel olarak proteinüri, albüminüri, idrar sediment anormallikleri ve tübüler bozukluklara bağlı elektrolit ve diğer anormallikler ile ilişkilidir.

## **Proteinüri**

"Proteinüri" idrarda protein miktarının artması durumunu ifade eden genel bir terimdir. Proteinüri, artmış glomerüler permeabilite sebebiyle büyük molekül ağırlıklı proteinlerin plazmada anormal azalışı, düşük molekül ağırlıklı proteinlerin tamamlanmamış tübüler reabsorpsiyonu (tübüler proteinüri) veya düşük molekül ağırlıklı proteinlerin plazma konsantrasyonlarında anormal artışı durumlarında ortaya çıkabilir. Ayrıca böbreklerden ve alt idrar yolundan elde edilen anormal protein kayıplarını da yansıtabilir. Tübüler proteinüri böbrek hasarında patognomoniktir. Ek olarak, deneysel ve klinik çalışmalardan elde edilen bulgular, KBY'nin hastalık progresyonu patogenezinde proteinüri için önemli bir rolü olduğunu ortaya koymuştur (Silva 2005).

## **Albüminüri**

Albümin, sağlıklı bireylere kıyasla böbrek hastalığı olan hastalarda daha büyük miktarda idrarda bulunan bir tip plazma proteindir. Albüminüri, idrardaki anormal albümin kaybına karşılık gelir. İdrar proteinlerinin ölçülmesi için son veriler, total protein yerine albüminüri miktarını vurgular. Dünya çapında yapılan çalışmalardan elde edilen yeni epidemiyolojik veriler, idrar albümin miktarı ile hem böbrek hem de kardiyovasküler hastalık (KVH) riski arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu nedenle klinik terminolojide "proteinüri" yerine "albüminüri" terimine daha sık rastlanılmaktadır. Diyabetik glomerüloskleroz da dahil olmak üzere glomerüler hastalıkların en erken belirtecidir ve genellikle glomerüler filtrasyon oranındaki azalmadan önce görülür. Albüminüri ve proteinüri için normatif değerler genellikle "idrarda kayıp oranı" olarak ifade edilir.

## **İdrar Sediment Anormallikleri**

Hücreler, döküntüler, kristaller ve mikroorganizmalar, böbrek ve idrar yollarının çeşitli rahatsızlıklarında idrarda tortusunda görülebilir; fakat renal tübüler hücreler, kırmızı kan hücresi atıkları, beyaz kan hücresi döküntüleri, iri granüler döküntüler, ve çok sayıda dismorfik kırmızı kan hücresi, böbrek hasarında patognomoniktir.

## **Tübüler Bozukluklara Bağlı Elektrolit ve Diğer Anormallikler**

Elektrolitlerin ve diğer çözünenlerin anormallikleri renal tübüler reabsorpsiyon ve sekresyon bozukluklarından kaynaklanabilir. Bu sendromlar nadirdir ancak böbrek hastalığında patognomoniktir. Sıklıkla hastalıklar altta yatan patolojik anormallikler

olmadan genetikdir. Diğer hastalıklar, ilaçlar veya toksinler nedeniyle edinilir ve genellikle belirgin tübüler patolojik lezyonlarla olur.

### **2.1.2. Kronik Böbrek Yetmezliği**

Kronik böbrek yetmezliği tüm dünyada epidemik haline gelmiş ve total popülasyonun yaklaşık %8'ini etkilemekte olan, kronik, renal veya sistemik nedenlerle böbrek fonksiyonlarındaki geri dönüşümsüz kayıp ile karakterize olan hastalık durumu olarak tanımlanır (Arık ve ark., 2009). Kronik böbrek hastalığının tanımlanması ve evrenmesi glomerüler filtrasyon oranı (GFO) ve proteinüri ile değerlendirilir (Tesauro ve ark., 2012). Uluslararası kayıtlar, kronik diyaliz tedavisine bağımlı hasta sayısında (kronik böbrek hastalığının 5. evresi) dramatik bir artış olduğunu göstermektedir (Coresh ve ark., 2007).

Kronik böbrek hasarının başlangıcına ve ilerlemesine birçok öge katkıda bulunur. Yaş, akrabalık, azalan nefron kitlesi, düşük doğum ağırlığı, dezavantajlı sosyal durum gibi duyarlılık unsurları, böbrek hasarının artması riskini doğuran durumlardır. Diyabet, hipertansiyon, otoimmün hastalıklar, sistemik enfeksiyonlar, tekrarlayan idrar yolları enfeksiyonları, böbrek taşı oluşumu, idrar yolu tıkanıklığı veya ilaçlar gibi başlatma elemanları, özellikle yüksek riskli hastalarda böbrek hasarını belirleyebilen faktörlerdir. Protein kaybı, hipertansiyon, diyabetik hastaların yetersiz glisemik kontrolü, sigara dumanı gibi faktörler ise böbrek hasarının kötüleşmesine ve böbrek fonksiyonunun azalmasını hızlandırmaya sebep olur.

Başlangıçtaki travmalara bakılmaksızın, kronik hastalık, fibriler kollajenöz matriksinin patolojik depolanması (fibrozis), patolojik olarak glomerüloskleroz (glomerüler fibrozis ve ilişkili kılcal halka tahribatı), interstisyel fibrozis, tübüler atrofi, peritübüler kapiller yoğunluğunda azalma ve inflamasyon olarak görülen stereotiplenmiş böbrek hasarı yanıtları ile karakterize edilir (Grgic ve ark., 2012; Schrimpf ve Duffield 2011).

Histolojik açıdan renal hasarın ilerlemesi ise esas olarak glomerüloskleroz, interstisyel lökosit infiltrasyonu ve tübülointerstisyel fibrozis ile karakterizedir (Schlondor

ff 2008; M. A

kollajenlerin (esas olarak kollajen tipleri I ve III) aşırı birikmesine ek olarak lamininler, fibronektin, sisteince zengin tip IV kollajen, elastin, vitronektin,

trombospondin, perlekan, heparan sülfat, kondroitin sülfat, versikan ve dekorin gibi diğer hücre dışı matriks proteinlerini içerebilir. Bu proteinlerin/proteoglikanların çoğu, esas olarak normal bazal membranlarda ve interstisyel matrikslerde belirtilen aynı bileşenlerle benzerdir. Glomerulus ve arterioller duvarda, sıklıkla ekstra damarlı plazma proteinlerinden kaynaklanabilecek hiyalin birikimi vardır. Bu matriks proteinlerinin, özellikle de fibriler kollajenin birkaçının biyokimyasal modifikasyonu, lizil oksidazlar ve transglutaminazlar tarafından kovalent çapraz bağlanma ile meydana gelir ve fibrozis ilerledikçe, bunların proteolize karşı dirençli hale gelmesini sağlar (Eddy 2005). Kronik böbrek hastalıkları ilerleyici ve geri dönüşümsüz fonksiyonel böbrek parankimi kaybına yol açar. KBH'deki böbrek patolojisi, miyofibroblastlar tarafından üretilen aşırı matriks birikimi olan tübülointerstisyel fibrozis ile karakterizedir. Bu yara izi oluşturan hücrelerin oluşumunu bloke etmek, ilerleyici fibrotik böbrek hastalığı olan hastalar için mantıksal bir terapötik hedefi temsil ettiği için, renal miyofibroblastların kaynağı yoğun bir araştırmanın konusudur.

### **Miyofibroblastlar**

Miyofibroblastlar kasılma özelliğine sahip olan fibroblastlardır ve böbrekteki miyofibroblastların kökenleri son 20 yıldır yoğun olarak çalışılmakta ve biraz tartışmalıdır (Zeisberg ve Duffield 2010).

Son zamanlarda, fare fibrozis modellerinde genetik haritalama tekniklerinin uygulanması, fibrotik böbrek hastalığında hücre hiyerarşileri hakkında yeni bilgiler sağlamış ve epitelden mezenkimale geçişin *in vivo* olarak miyofibroblast alımının bir kaynağı olduğu konusunda şüphe uyandırmaktadır, fakat daha ziyade, miyofibroblast progenitör havuzu olarak, yerleşik perisit / perivasküler fibroblastı işaret eder (Grgic, 2012).

Miyofibroblastların çalışılmasında problemin bir kısmı, mevcut işaretçilerdeki tek tip belirteçler ve ara organ ve türler arası farklılıkların olmayışıdır. Çok yakın zamana kadar, yaygın epitelyal hücrelerin, epitelden mezenkimale geçiş (EMT) olarak bilinen bir transdiferansiyasyon işlemiyle miyofibroblastların birincil kaynağı olarak hizmet ettiği düşünülmüştür (Kalluri ve Neilson 2003; Zeisberg ve Kalluri 2008).

Epitelden mezenkimale geçişin böbrek fibroblast/miyofibroblastlarının ortaya çıkışını açıkladığı kavram, esas olarak, transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) gibi profibrotik faktörlerle tedavide epitelyal özellikleri yitiren, kültürlenmiş epitelyal hücrelerin *in vitro* çalışmalarından evrimleşmiştir (Zeisberg ve ark., 2003; Ivanova ve ark., 2008). Bu *in vitro* EMT imzası, böbrek tübüler epitelyal hücrelerinin, böbrek fibrozisi sırasında miyofibroblastların ana kaynaklarından biri olduğu dolaylı kanıtlar olarak önerilmiştir; bununla birlikte, birkaç bağımsız kanıt, *in vitro* fenotipik geçişin gerçekleştiği veya *in vivo* miyofibroblast görünümüne katkıda bulunduğu hipotezine karşı çıkmıştır (Kuusniemi ve ark., 2005; Humphreys ve ark., 2010; Koesters ve ark., 2010; Asada ve ark., 2011).

Miyofibroblastlar fibrozis sırasında renal interstisyumda de novo görünen benzersiz bir hücre popülasyonudur (Grande ve Lopez-Novoa 2009). Bu hücrelerin varlığı skar oluşumu için gerekli görünmektedir ve insan çalışmalarından elde edilen sınırlı verilere rağmen, böbrek sonuçları ile ilişkili görünmektedir. Çeşitli *in vitro* çalışmalar ve böbrek dokularında mRNA *in situ* hibridizasyon çalışmaları miyofibroblastları skar oluşturucu matriks proteinlerinin birincil kaynağı olarak tanımlamaktadır ve bu da onların varlığının fibrozis için gerekli olduğunu düşündürmektedir. Merkezi önemleri göz önünde bulundurulduğunda, bu hücrelerin hücre kökenleri, hayvan modellerinde kapsamlı bir şekilde araştırılan kritik bir sorudur, ancak çelişen veriler bunu devam eden bir tartışma konusu olarak bırakmaktadır.

### **Makrofajlar**

Kronik böbrek yetmezliği, makrofajların interstisyel infiltratı ile karakterize olup, yoğunluğu böbrek sağkalımı ile ters orantılıdır (Yu ve ark., 2010). Yerel çevresel ipuçlarına bağlı olarak, makrofajlar fibrogenesi etkileyen çeşitli ürünleri sentezleyebilir ve salgılayabilir. Bunlar arasında büyüme faktörleri ve sitokinler (TGF- $\beta$ , fibroblast büyüme faktörü, tümör nekroz faktörü  $\alpha$ , interferon  $\gamma$ , hepatosit büyüme faktörü), enzimler ve inhibitörleri (anjyotensin dönüştürücü enzim, plazminojen aktivatörleri, plazminojen aktivatör inhibitörü-1, kollajenazlar, metalloproteinazların doku inhibitörü), matriks proteinleri (kollajen, fibronektin, trombospondin) ve diğerleri (kompleman proteinleri, koagülasyon faktörleri,

biyoaktif lipidler, reaktif oksijen türleri, nitrik oksit, endotelin vb.) yer alır (Eddy ve Neilson 2006).

Çeşitli deneysel çalışmalar, interstisyel makrofajların sayısının azaltılmasının böbrek fibrozisi azalttığını göstermiştir. Doku hasarı ile ilişkili makrofajların çok işlevli potansiyeli uzun zamandan beri bilinmesine rağmen, farelerde yapılan çalışmalardan elde edilen son on yıldaki önemli bilimsel gelişmeler, fonksiyonel yapının moleküler temelini açıklığa kavuşturmaya başlamıştır (Ricardo ve ark., 2008).

Makrofajların hasar onarımındaki rolü, tersine çevrilebilir bir karaciğer hasarı modelinde açıkça ortaya konmuştur. Hasar indüksiyon fazı sırasında makrofaj azalması, fibrozisin derecesini azaltmıştır, fakat bunların tükenmesi, hasarın çözünme evresine kadar ertelendiğinde, fibrozis şiddeti daha kötüdür (Duffield ve ark., 2005).

### **Tübüler Epitelyal Hücreler**

Kronik böbrek hasarının indüksiyon fazı sırasında, tübüler epitelyal hücreler; reaktif oksijen türleri ve inflamatuvar mediyatörler gibi ürünleri sentezleme kabiliyetleri vasıtasıyla ve bazolateral sekresyon yoluyla interstisyuma doğru yol alan kemokinlerden kaçarak paraselüler mekanizmalar aracılığıyla zararlı yollara aktif olarak katılırlar. Sistemik plazma havuzundan veya yukarı akışlı glomerüler hücrelerden türetilmiş anormal olarak filtrelenmiş çeşitli idrar proteinleri, bu olaylarda tübüler epitelyumu geçebilir (Zandi-Nejad ve ark., 2004).

Biyokimyasal olarak modifiye edilmiş veya konjuge edilmiş üriner albümin tarafından tetiklenen alternatif bir aktivasyon yolu, protein endositozuna aracılık eden proksimal tübüler megalin reseptörlerini içerir ve koreseptörleri ile ortaklaşa spesifik sinyal yanıtlarını aktive eder (Christensen ve ark., 2012). Bir diğer yol ise, enflamatuvar kemokinlerin profibrotik molekülleri (TGF- $\beta$ , endotelin) ve  $\alpha$ -SMA+ hücreleri ile uyarılmış sentezi ile ilişkilendirilmiştir.

Hücre kültürü sistemlerinde kapsamlı olarak araştırılan, proteinürinin *in vivo* olarak bu tübüler hücre yanıtlarını tetikleme derecesi hala net değildir. Ancak bu paradigmanın proteinüri derecesinin kronik böbrek hastalığını tipik olarak belirleyen kronik inflamatuvar ve fibrozis yollarıyla yakından ilişkili olduğu gerçeğini açıkladığı düşünülmektedir.

Fibrozis şiddeti arttıkça, normal olarak güçlü bir rejeneratif kapasiteye sahip olan tübüler epitel bu yeteneğini kaybeder ve apoptoza ya da hızlandırılmış yaşlanmaya bağlı olarak iyileşir. Rejeneratif özellikten ölmekte olan hücreler oluşumuna geçişin nedeni iyi anlaşılmamıştır, fakat bu geçiş hücre döngüsüne özgü faktörleri, otofaj başarısızlığını, endoplazmik retikulum stresini, oksidatif stresi ve bilinmeyen "rejeneratif sinyallerin" kaybını içerir (Yang ve ark., 2010; Li ve ark., 2010; Humphreys ve ark., 2011). Tübüler hücre ölümü, fonksiyonel olmayan atübüler glomerülleri ardında bıraktığı için ciddi negatif sonuçlara yol açan renal parankimal hasarın ayırt edici bir özelliğidir. Tübüler hücre alanının histolojik ölçümleri böbrek fonksiyonu ile yakından ilişkilidir (Mackensen ve ark., 1992).

Etkili KBY tedavisinin temel bileşeni, sağlam ve fonksiyonel nefronları korumak için fonksiyonel epitelyumun muhafaza edilmesi ve/veya yenilenmesidir. Bu rejeneratif yanıtların, böbrek gelişiminin normal nefrojenik yollarını tekrarlaması olasıdır.

### **İnterstisyel Kapillerler**

Böbreğin metabolik aktivitelerini desteklemek için yüksek oksijen ihtiyacı göz önüne alındığında, ilerleyici fibrozis ve KBY arasında bir analogi yapılmıştır (Mimura ve Nangaku 2010). Kronik böbrek hasarı ile ilgili ilk olaylardan biri, interstisyel mikrovasküler yapının geçirgenliğinde bir artıştır (Yamaguchi ve ark., 2012). Fibrinojen ve albümin konjugatları gibi normal olarak birçok plazma proteini interstisyuma sızar ve inflamatuvar ve potansiyel olarak profibrotik bir yanıtı tetikler. Kritik plazma proteinleri KBY'de tanımlanmamıştır, ancak bunların bir tanesi fibrinojen olarak görünmektedir, çünkü genetik fibrinojen eksikliği deneysel KBY'de  $\alpha$ -SMA+ interstisyel hücre sayısını azaltır (Sorensen ve ark., 2011). Birçok kronik patolojik bozukluk aşırı anjiyogenez ile karakterize olmasına rağmen KBY, anjiyogenezin başarısızlığı ve interstisyel kılcal damarların yüzey alanındaki azalma ile ilişkilendirilmiştir. Bu, araştırmacıların, KBY için tedavi olarak pro-anjiyogenik faktörlerin olasılığını düşünmelerine ya da alternatif olarak, ilerleyici böbrek yaralanması sırasında düzensiz ve zararlı olduğu kabul edilen anti-anjiyogenik faktörlerin bloke edilmesine yol açmıştır (Long ve ark., 2012).

Hipoksi-oksidan stres bağlantısının, böbrek fibrozunun zarar verici sonuçları ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. Önemli tübüler hücre oksidan stresine dair



kanıtlar, kronik olarak hasar görmüş böbreklerin evrensel bir özelliğidir, bu da muhtemelen aşırı miktarda reaktif oksijen türlerinin ve yetersiz antioksidan savunmaların bir sonucudur.

### **Fibrotik Cevabın Genetik ve Epigenetik Regülasyonu**

Aynı primer böbrek hastalığı olan hasta grupları arasında sonuç ve uzun dönem prognozdaki yüksek değişkenlik derecesi iyi bilinmektedir. Bu değişkenliği anlamaya yönelik arayış, kişiselleştirilmiş ilacın KBY hastaları için hayati öneme sahip hale gelmesi durumunda temel bir adımdır. Genetiğin, belki de böbrek sonuçlarında etnisiteye bağlı varyasyonların en iyi şekilde gösterdiği önemli bir rol oynadığı soru işareti barındırmayan bir durumdur. Afrika kökenli Amerikalılarda apolipoprotein L1 genotipinin prognozu etkilemesi fibrozis şiddetinin genetik belirleyicilerinin yeni bir örneğidir (Wasser ve ark., 2012).

Yakın geçmişte, KBY'nin risk ve ciddiyeti ile anlamlı ilişkiler kurmak adına genom çapında ilişkilendirme çalışmalarının kullanılmasıyla yeni anlayışlar ortaya çıkmıştır, ancak bu ilişkiler nedensellik oluşturmamıştır ve gen polimorfizmleri protein fonksiyonunda değişikliklere neden olmaz.

Bununla birlikte, insan KBY'deki genom çapı ilişki çalışmaları, KBY'ye yol açan fibrojenik yanıtlarda potansiyel rolleri için daha fazla araştırmayı hak eden yeni adayları tanımlamak adına tarafsız bir yaklaşımı temsil etmektedir. İnsan genetik çalışmaları için hızlı bir şekilde azalan maliyet ve analiz süresi ile, KBY riskinin ve prognozunun genetik temeli ile ilgili önemli yeni bakış açılarının yakında ortaya çıkacağı öngörülmektedir. Diğer kalıtsal faktörler, protein kodlayıcı gen sekanslarını değiştirmeden fibrojenik tepkileri de etkileyebilir. Özel mekanizmalar arasında DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve mikroRNA aktiviteleri bulunabilir. Bu işlemlerin her biri renal fibrotik yanıtları değiştirme potansiyeline sahiptir ve ortaya çıkması muhtemel olan spesifik örnekler yakın zamanda yayınlanmıştır. Örneğin, deneysel modellerde, böbrek fibrozisi, interstisyel miyofibroblastların sayısı, bir demetilasyon maddesi, bir histon deasetilaz inhibitörü ve anti-mikroRNA-21 tedavisi ile önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir ve mikroRNA-21 regülasyonu da birkaç hayvan ve insan KBY doku örneğinde rapor edilmiştir. (Wang ve ark., 2012; Ben-Dov ve ark., 2012; Glowacki ve ark., 2013; Luo ve ark., 2013)

Fibrotik yanıtların epigenetik düzenlemesi, böbrek fibrozisi gibi genetik olarak düzenlenmiş yollarda çevresel etkilerin araştırılması için yeni bir yol sağlar. Böbrekte ilk ortaya çıkan hasarlar azalmış veya tedavi edilmiş olsa bile, KBY patolojisi genellikle tam olarak iyileşmez, fakat kendi kendini idame ettirir, böbrek hasarı uyarılır ve KBY'nin ilerlemesine neden olur. KBY yaygın olmasına rağmen, anjiyotensin reseptörü ve ligandının inhibitörleri dışında spesifik terapileri yoktur ve bunlar KBY'nin ilerlemesini organ yetmezliğine yöneltmiştir.

### **Böbrek Transplantasyonu Tarihi**

KBH'nin yüksek prevalansı ve dağılımı iyi bilinmektedir. KBH'nin tüm birincil nedenlerinin, skarlaşmanın (fibrozis) yıkıcı sonuçlarından dolayı, ilerleyici yaralanmanın ortak bir patojenik yolunu paylaştığı genellikle kabul edilir.

KBY ile yaşayan yetişkin popülasyonun tahmini % 13-16'lık bir kısmı 1.73m<sup>2</sup>'de glomerüler filtrasyon oranı < 60 mL/dk olan bireyler olarak tanımlanmıştır ve bu hastalar gelecekte bir noktada diyaliz ve/veya böbrek nakli ihtiyacı ile karşı karşıya kalacaktır. Bununla birlikte, ne yazık ki, çoğunluk bu noktaya asla erişmeyecektir, çünkü KBY, hızlandırılmış kardiyovasküler hastalık nedeniyle en az beş kat artan erken ölüm riskini ortaya çıkarır.

Böbrek nakli alıcılarının, GFO seviyesine veya böbrek hasarı belirteçlerinin mevcudiyetine bakılmaksızın KBY olduğu kabul edilir. Bu durum için gerekçe, böbrek nakli alıcılarında biyopsilerin GFO veya albüminürisi azalmamış hastalarda bile patolojik anormallikleri ortaya koymasıdır. Böbrek nakli alıcıları genel popülasyona göre daha yüksek mortalite ve böbrek sonuçları riskine sahiptir ve özel tıbbi tedavi gerektirmektedir (Silva 2005).

Böbrek transplantasyonu dünyada ilk kez 1954 yılında Boston'da gerçekleştirilirken Türkiye'de ilk kez 1975 yılında gerçekleştirilmiştir.

Fibrozisin kritik hücrel ve moleküler araçlarını belirlemek için yapılan kapsamlı araştırma çabalarına rağmen, bu hızla büyüyen yeni bilgi henüz klinikte rutin uygulamaya dönüştürülememiştir. Potansiyel terapötik repertuar genişler ve temel bilim araştırmalarındaki son çalışmalar ve devam eden ilerlemeler, KBY hastalarının talihsiz kaderini değiştirmek için yeni terapilerin tasarlanması ve test edilmesi için gereklidir.

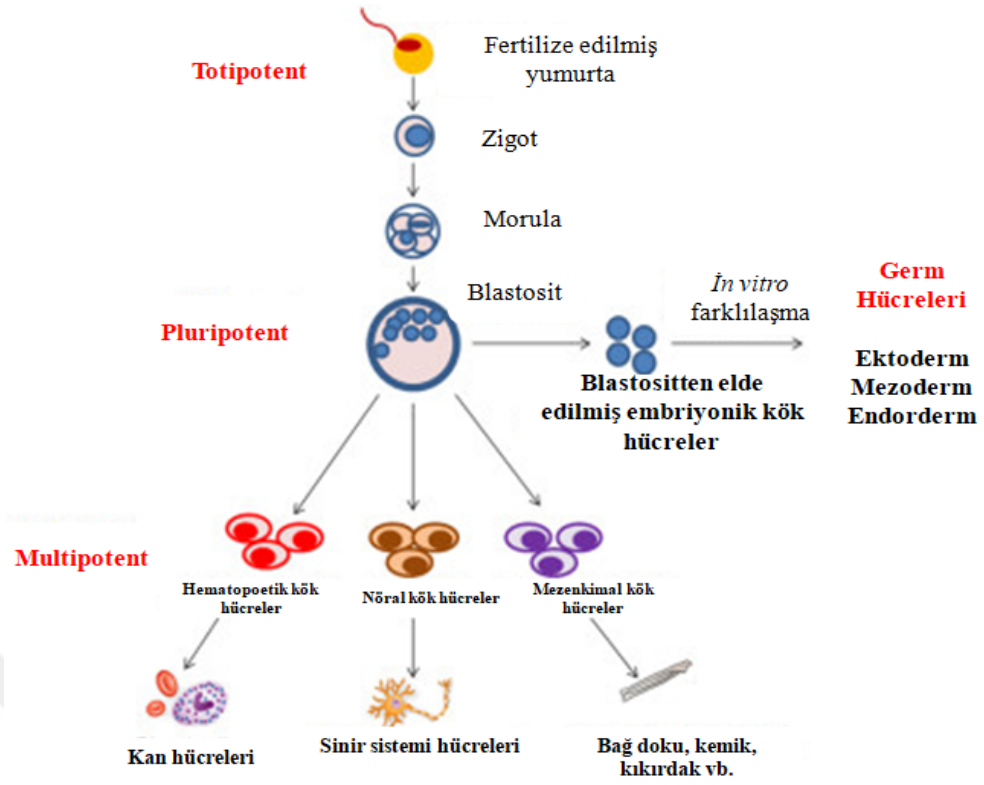
## 2.2. Kök Hücreler

Kök hücreler, insan vücudundaki her dokuyu oluşturma yeteneğine sahiptir, bu nedenle doku rejenerasyonunda ve onarımında gelecekteki terapötik kullanımlar için büyük bir potansiyele sahiptir.

Genel olarak “kök hücre” tanımı, birçok farklı hücre tipini kapsar. Yaygın olarak, “embriyonik” ve “yetişkin” tanımları, kök hücrelerin geldikleri hayvanın gelişim evresiyle ayırt edilmesinde kullanılır, ancak yeni araştırmalar tamamen farklılaşmış yetişkin hücrelerin nasıl geri döndürüleceğini keşfettikçe bu terimler yetersiz kalmaktadır. Embriyonik kök hücrelere ve tersine, “vücuttan” anlamına gelen “somatik” kök hücreler olarak adlandırılan yetişkin kök hücreleri, fetus, plasenta, göbek kordonu kanı ve bebeklerde bulunur (Bajada ve ark., 2008).

Kök hücreler farklılaşma yeteneklerine göre totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır (Weissman 2000).

İlk embriyonik hücre olan zigot, vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek yetenekte olduğundan 'totipotent hücre' olarak adlandırılmıştır. Totipotent kök hücreler tüm hücre tiplerine farklılaşmanın yanı sıra, plasenta ve amniyon kesesi gibi embriyo dışı dokulara da farklılaşabilirler ve bu kavram erken embriyonik dönemde 5. güne kadar olan tüm blastomerler için geçerlidir. Totipotent kök hücreler, gelişimin ileri evrelerinde pluripotent hücrelere dönüşmektedirler (Chapman ve ark., 1999). Pluripotent kök hücreler, vücuttaki tüm hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahiptirler. Multipotent hücreler doğumla birlikte kordon kanında ve erişkin vücudunda özellikle kemik iliği ve yağ dokusunda bulunurlar. Kök hücrelerin oluşum ve farklılaşma mekanizması Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Kök hücrelerin oluşum ve farklılaşma mekanizması (Hayes ve ark., 2012)

Başta kemik iliği olmak üzere vücudumuzun çeşitli organlarında ve bu organların belirli doku bölgelerinde lokalize olan, gerektiğinde kendini çoğaltıp, farklılaşabilen, multipotent kök hücrelere "Yetişkin Kök Hücreler" (YKH) denir. YKH, doku ya da organa özel doku bütünlüğünün devamını sağlayan kök hücrelerdir (Can 2009). Multipotent bir kök hücre olan yetişkin kök hücreleri, totipotent ve pluripotent kök hücrelerle karşılaştırıldığında, daha az sayıda hücre türüne farklılaşma kapasitesine sahiptirler (Chapman ve ark., 1999). Bu özelliklerinden dolayı, prekürsör (öncü veya progenitör) hücre olarak isimlendirilirler. YKH; retina, akciğer, kalp kası, iskelet kası, barsaklar, böbrek, dalak, kemik iliği, kan ve deri gibi dokuların oluşumuna katkıda bulunabilmektedirler (Grove ve ark., 2004). Ayrıca, sahip oldukları asimetric hücre bölünme potansiyeliyle, hemen hemen sınırsız bir şekilde kendilerini yenileme kabiliyetine de sahiptirler (Schwab ve ark., 2005).

Hücrelerin "kök hücreler" tanımına uygun olması için kendiliğinden hücrenin aynısını üretmeleri ve sınırsız kendi kendini yenileme yeteneğine sahip olmaları gerekir. Bu özellikler, kontrolsüz bir şekilde bölünen kanser hücreleri için de doğrudur; oysa kök hücre bölünmesi oldukça düzenlenmiş bir mekanizmadır. Kök

hücrelerin tanımlayıcı bu iki özelliğine dayanarak bunların dört sonucu veya kaderi olduğu söylenebilir (Molofsky ve ark., 2004).

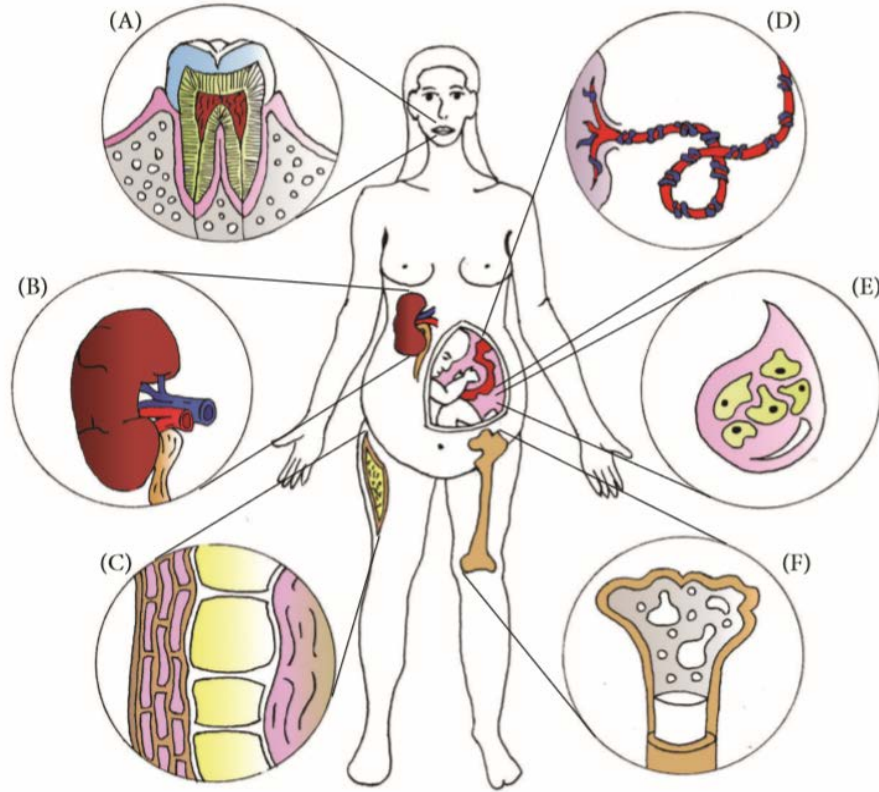
- a. Çok hücreli kök hücreler için ortak bir kader, bölünmeden veya farklılaşmadan sessiz kalarak kök hücre havuzundaki yerini korur. Bunun bir örneği, vücuttan aktive edici sinyalleri bekleyen kemik iliğindeki kök hücrelerdir.
- b. Kök hücrelerin ikinci bir kaderi simetrik kendi kendini yenilemedir, bu iki kök hücresi, aynen ana hücre gibi, hücre bölünmesinden ortaya çıkar. Bu, farklılaşmış döl ile sonuçlanmaz, ancak sonraki hücrelerde uzmanlaşmış hücrelerin gelişebileceği kök hücre havuzunu artırır.
- c. Asimetrik kendiliğinden yenilenme, bir kök hücre diğerinin bir kopyasını oluşturduğunda veya somatik ya da progenitor bir hücre olarak adlandırılan daha uzmanlaşmış bir hücreye bölündüğünde ortaya çıkar. Asimetrik kendiliğinden yenilenme, doğal doku gelişimi/rejenerasyonu için gerekli farklılaştırılmış döl nesillerinin üretilmesini ve aynı zamanda kök hücre havuzunun gelecekte de korunmasını sağlar.
- d. Bir kök hücrenin, ana hücreden farklı iki yavru hücreyi üretmek için bölünmesidir. Bu kök hücre havuzunda net bir kayıp ile farklılaşmış döl proliferasyonuna neden olur.

Kök hücrelerin kaderini belirleyen faktörler yoğun araştırmanın odak noktasıdır. Bilgilerin artışı klinik olarak yararlı olabilir. Örneğin, klinisyenler ve bilim adamları, bir kök hücre popülasyonunu, çok katmanlı veya daha özel progenitör hücrelere farklılaşmadan önce simetrik kendi kendini yenileme yoluyla birkaç kat genişletmeye yönlendirebilirler. Bu, başarılı bir doku rejenerasyonu için hastalara verilebilecek yararlı bir farklılaşma aşamasında büyük ve homojen bir hücre popülasyonunu sağlayacaktır.

Embriyonik kök hücreler (EKH), blastositin iç hücre kütesinden izole edilir ve her üç germ katmanının hücrelerine dönüşebilir (Thomson ve ark., 1998). EKH'lerden farklı olarak, yetişkin kök hücreleri sınırlı proliferasyon ve soy farklılaşması gösterir. Yetişkin kök hücreler, erken embriyo gelişimini tamamlamış bir organizmada bulunan multipotent kök hücreler olarak tanımlanır. Yetişkin organizmadaki çoğalan geçici hücrelerin öncüsü olan bu hücreler hasarlanan dokuların yenilenmesinde de görev alır (Can 2014). Yetişkin kök hücrelerin öncelikli görevleri homeostazı devam

ettirmektedir. Bunun yanında organ veya doku için yaşam süresince gerekli olan kök hücre miktarını karşılamak için önemlidirler (Serakinci ve ark., 2006). YKH'ler, çoğunlukla kemik iliğinde, kanda, gözün kornea ve retinasında, beyinde, iskelet kasında, diş pulpasında, karaciğerde, deride ve pankreasta bulunur. YKH'ler genellikle, spesifik şekil ve fonksiyona farklılaşan progenitör ve prekürsör hücreleri oluşturmak için bölünürler (Weissman 2000).

Günümüzde üzerinde en çok çalışılan YKH tipleri hematopoetik kök hücreler (HKH), mezenkimal kök hücreler (MKH), nöral kök hücreler (NKH) ve endotel kök/öncü hücreleridir (Can 2014).



**Şekil 2.3.** Renal hasarların deneysel modellerinde kullanılan MKH kaynakları. Preklinik çalışmalar renal hasar tedavilerinde kullanılmak üzere MKH'lerin belirtilen dokulardan izole edildiğini ortaya koymuştur:

- A)** Diş pulpası; **B)** Böbrek; **C)** Adipoz doku; **D)** Umbilikal kord; **E)** Amniyotik sıvılar; ve **F)** Kemik iliği (Peired ve ark., 2016)

### 2.2.1. Mezenkimal Kök Hücreler

Mezodermal soyuna spesifik olarak osteositlere, adipositlere ve kondrositlere dönüşebilen yetişkin kök hücreler, "mezenkimal kök hücreler" olarak adlandırılır. Friedenstein, kemik iliğinden klonojenik, proliferatif fibroblastik hücrelerin izolasyonunu ve kemik ile osteositlere dönüşmelerini gösteren ilk araştırmacıdır (Mundra ve ark., 2012).

Mezenkimal kök hücreler, mezenkimal stromal hücreler, multipotent stromal hücreler, ilik stromal hücreleri ve koloni oluşturan birim-fibroblastik olan hücreler gibi pek çok farklı isimle anılıyor olsa da MKH'ler, orijinal olarak "kemik iliğinden koloniler oluşturan yapışkan hücreler" olarak tanımlanmıştır (Friedenstein ve ark., 1976). Daha sonra, bu hücrelerin, kemik, adipoz ve kıkırdak üretebilen bağ dokusu hücre tiplerini oluşturabildikleri için, çok yönlü farklılaşma potansiyeline sahip oldukları bulunmuştur (Caplan 2009). Uluslararası Hücresel Terapi Derneği (ISCT), insan MKH'lerini, CD73, CD90 ve CD105 için pozitif olan ancak CD11b, CD14, CD34, CD45, CD79a ve insan lökosit antijeni (HLA-DR) yüzey belirteçleri için negatif olan osteogenezis, adipogenezis ve kondrogenezis yapabilen plastik yapışık hücreleri olarak tanımlar (Dominici ve ark., 2006). Bu yönergelere rağmen, MKH fenotipinin karakterizasyonu ve tanımlanması, devam eden bir sorunu temsil etmektedir (Karp ve Leng Teo 2009). MKH'lerin yağ ve hemen hemen tüm diğer olgun dokulardaki keşfi (da Silva Meirelles ve ark., 2006) MKH özelliklerinin izole edildiği dokuya bağlı olduğu için ek nüanslar getirmiştir (Prockop ve 2009).

MKH'ler başlangıçta multiliner diferansiyasyon kapasitesine göre tedavi için düşünülse de, antiapoptotik, proanjiojenik ve skarlaşmayı ve enflamasyonu azaltma potansiyeline sahip olan sitokinleri ve büyüme faktörlerini salgılama yetenekleri, MKH'leri daha geniş bir klinik uygulama yelpazesi için konumlandırmıştır (Burchfield ve Dimmeler 2008). Özellikle, iltihaplanmayı azaltmak için MKH'lerin kullanılması, enflamatuar hastalıkların tedavisi için önemli bir terapötik potansiyel sunmaktadır. Spesifik olarak, MKH'ler, T-düzenleyici hücre indüksiyonu ve IL-10 salgılanmasını teşvik ederken  $\beta$ -hücre proliferasyonu, monosit olgunlaşması ve interferon- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ 'nın sekresyonunu azaltma yeteneğine sahiptir (Nauta ve Fibbe 2007; Németh 2009).

### 2.3. Plasenta

Plasenta, fetüsün besin, sıvı, mineral, oksijen ve diğer gerekli maddeleri alarak beslenmesi; bunun yanısıra bebekteki artık maddelerin uzaklaştırılıp temizlenmesinde rol oynayan fonksiyon olarak oldukça önemli bir organdır. Plasentanın karmaşıklığı göz önüne alındığında, bu doku kavramsal olarak amniyon, göbek kordonu ve desidüadan oluşan maternal kısım ile koryondan meydana gelen fetal kısım olarak ikiye ayrılabilir. Plasentadaki farklı bölgelerden elde edilen MKH'lere dair birçok rapor yayınlanmıştır (In 't Anker ve ark., 2004; Yen ve ark., 2005; Miao ve ark., 2006; Ilancheran ve ark., 2009; Pappa ve Anagnou 2009; Nekanti ve ark., 2010; Manuelpillai ve ark., 2011; Castrechini ve ark., 2012; Abumaree ve ark., 2013; Kusuma ve ark., 2015; Abomaray, ve ark., 2016).

Plasental doku tıbbi atık olarak kolayca elde edilebilir. Plasentadan türetilen MKH'ler, bu tıbbi atıktan, adipoz doku toplanması gibi invaziv prosedürlere arındırılmış olarak temin edilebilir ve embriyonik kök hücrelerden farklı olarak kullanımını çevreleyen hiçbir etik zorluk yoktur. MKH'leri umbilikal korddan izole etmek için mevcut yöntemler, miktarı az fakat proliferasyon potansiyeli değişken hücreler üretir (Beeravolu ve ark., 2017).

Umbilikal kord (UC), amniyotik membran (AM), koryonik plak (KP) dahil olmak üzere perinatal kaynakların birçoğunun, hücrelerin saflığı, dokudaki kök hücrelerin bolluğu ve yüksek proliferasyon kapasitesi gibi kolaylıkları nedeniyle yetişkin kök hücre kaynaklara göre avantajları vardır (Ilancheran ve ark., 2009; Yang ve ark., 2013; Abumaree ve ark., 2016).

Şimdiye kadar plasenta, MKH'leri çalışmak için büyük ölçüde kullanılmıştır ve çeşitli çalışmalar, farklı plasental dokulardan izole edilen MKH'lerin fenotip ve fonksiyonel özelliklerini karşılaştırmıştır (Hwang ve ark., 2009; Wang ve ark., 2012; Yamahara ve ark., 2014; Zhu ve ark., 2014; Talwadekar ve ark., 2015; Chen ve ark., 2015; Deihim ve ark., 2016; Qin ve ark., 2016; Heo ve ark., 2016; Asgari ve ark., 2017; Dabrowski ve ark., 2017). MKH'lerin plasentadan türetilmiş dokulardan izolasyonu, fibroblastlar, plasentadan türetilmiş epitel hücreleri ve plasentadan türetilen retiküler hücreler gibi çoğu zaman MKH'lerle birlikte var olmaları gerçeği ile karmaşıklaşmaktadır (Shen ve ark., 2015).



Fibroblastlar ve MKH'ler benzer bir morfolojik görünüme sahiptirler. Her ikisi de iyi çoğalır ve birçok benzer hücre yüzeyi işaretleyicisine sahiptir (Linge ve ark., 1989; Lorenz ve ark., 2008). MKH'ler ve fibroblastlar arasındaki ana fark, fonksiyonel özelliklerdir. MKH'ler multipotent köklülük ve immünomodülasyon kapasitesini korur, ancak fibroblastlar bu fonksiyonel alanların her ikisinde de daha sınırlı görünmektedir. Bu nedenle, umbilikal kord ve plasentadan türetilen MKH'lerin genom çapında değerlendirilmesi, MKH'ye özgü genleri tanımlamak için negatif kontrol olarak fibroblastları dikkate alınmalıdır.

#### **2.4. MKH'lerin KBY'de Uygulanması**

Son evre böbrek yetmezliğinin yaşam kalitesi ve etkilenen bireylerin yaşam beklentisi üzerinde büyük bir etkisi vardır (Wyld ve ark., 2012). Bu nedenle, böbrek yetmezliğinin ilerlemesini önlemek, hafifletmek veya yavaşlatmak için terapötik müdahaleler geliştirmek zorunludur.

Diyabet ve hipertansiyon, ABD'de KBY'nin başlıca nedenleridir ve diyaliz sürecini başlatmaktadır (Collins ve ark., 2012). Ek olarak, glomerüler hastalıklar, malnütrisyon, bulaşıcı hastalıklar ve akut böbrek hasarı, bu durumla ilişkili artan küresel yüküne katkıda bulunarak SEBY'ye ilerleyebilir (Perico ve Remuzzi 2012). Mevcut tedavi yöntemleri genellikle renal hastalığın ilerlemesi için temel altta yatan katkı maddelerini hedef almamaktadır (Rivera 2012). Kronik glomerüler ve tübülointerstisyel fibrozis, sıklıkla apoptoz, oksidatif hasar ve mikrovasküler yoğunlukta azalma ile ilişkili SEBY'nin ortak bir yoludur. Gerçekte, renal disfonksiyonun, glomerüler hasara kıyasla tübülointerstisyel dereceyle daha iyi korele olduğu ileri sürülmektedir (Nangaku 2004).

Önemli olarak, böbreğin sınırlı içsel rejeneratif kapasitesi vardır (Kaneko ve ark., 2012). Ne yazık ki, bu rejeneratif potansiyel kronik koşullar altında sınırlıdır ve bu nedenle progresif glomerüloskleroza ve tübülointerstisyel fibrozu önlemek için verimsizdir (Benigni ve ark., 2010). Hücresel rejenerasyonu artıran tedavi stratejileri bu nedenle kronik böbrek yetmezliğine sahip olan hastalar için iyi alternatifler sunabilir.

Son yıllarda, deneysel çalışmalar MKH'lerin çeşitli KBY modellerinde böbrek fonksiyonlarını iyileştirme potansiyelini ortaya çıkarmıştır ve birçok klinik çalışma

KBY'de güvenlik ve etkinliğini göstermiştir. Bununla birlikte ilk olarak birtakım engellerin ele alınması gerekmektedir. Son birkaç yıldır, MKH'ler diyabet, hipertansiyon ve kronik allogreft nefropati gibi KBY deney modellerinde başarıyla uygulanmıştır.

Örneğin, MKH'lerin tek bir intravenöz dozu,  $\beta$ -pankreatik adacık rejenerasyonu ile sonuçlandığı, C57BL/6 farelerinde streptozotosin ile indüklenen tip 1 diyabette böbrek hasarını önlediği ve enjeksiyondan 2 ay sonra devam eden hiperglisemi ve glikozürinin azaldığı belirtilmiştir (Ezquer ve ark., 2008). Benzer şekilde Lee ve meslektaşları, çoklu düşük dozlarda streptozotosin ile üretilen tip 2 diyabetli immün yetmezlikli farelerde insan kemik iliğinden intrakardiyak infüzyonların etkinliğini test etmiştir. (Lee ve ark., 2006). Yapılan bir başka çalışmada MKH'lerin kan şekeri düzeylerini düşürdüğü ve mezangiyal kalınlaşma ve makrofaj infiltrasyonunu azalttığı ortaya konmuştur; bu durum diyabetli hastalarda renal lezyonların gelişme potansiyellerini akıllara getirmiştir. İlginç bir şekilde, MKH ile tedavi edilmiş diyabetik farelerin böbreklerinde, glomerüler endotelial hücrelere farklılaşmalar ortaya çıkmıştır. Buna ek olarak, modifiye 5/6 nefrektomi yapılan sıçanlarda, nefrektomi sonrası 1 gün süreyle tek bir venöz MKH enjeksiyonunun böbrek fonksiyonu ve zayıflatılmış böbrek hasarına karşı koruma sağladığı ortaya konmuştur (Choi ve ark., 2009). Değişmemiş kan üre azotu ve kreatinin seviyelerine rağmen, MKH ile tedavi edilen hayvanlar proteinürinin zayıflatılmış ilerlemesini gösterdi. Kronik böbrek yetmezliği olan sıçanların böbreklerinde MKH'lerin nadiren aşılınması, sitokinler veya büyüme faktörleri gibi araçların parakrin sekresyonunun yararlı etkilerini açıkladığını düşündürmektedir.

Sıçanlarda böbrek transplantasyonundan 11 hafta sonra tek bir kemik iliğinden elde edilen MKH'ler, interstisyel fibrozis, tübüler atrofi, T hücresi ve makrofaj infiltrasyonu ve enflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu azaltmıştır (Franquesa ve ark., 2012).

MKH ile tedavi edilen hayvanlardaki enflamatuar ve profibrotik sitokin seviyelerindeki zamana bağlı bir azalma ve görülmüştür ve bu durumun anti-enflamatuar sitokin IL-10'daki artış ile ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur. Bu gözlemler, MKH'lerin yararlı etkisinin, esas olarak parakrin immünomodülatör özelliklerine bağlı olduğunu belli etmektedir.

Araştırmacılar, domuz aterosklerotik renovasküler hastalıkta, subkutan adipoz dokudan izole edilen MKH'lerin intrarenal yolla bulaşmasını, sürekli hipertansiyona rağmen stenotik böbreği koruduğu ortaya koymuşlardır (Zhu ve ark., 2013). Bir başka çalışmada ise MKH'lerin hücresel mekanizmalar yoluyla renal inflamasyon, endoplazmik retikulum stres ve apoptozu da azalttığu gösterilmiştir. Ayrıca, yardımcı MKH'lerin böbrek revaskülarizasyonu ve stenotik böbrekte inflamasyon, oksidatif stres, apoptoz, mikrovasküler yeniden biçimlenme ve fibrozisin azalmasından sonra böbrek fonksiyon ve yapısını dzelttiğu belirtilmiştir (Eirin ve ark., 2012).

KBY azaltılmış böbrek rejeneratif kapasitesi ile karakterizedir. Çeşitli *in vivo* alışmalarda, KBY hayvan modellerinde hücre bazlı tedavilerin yararlı rejeneratif etkileri gösterilmiştir (Papazova ve ark., 2015). Hem kemik iliğinden elde edilmiş MKH'nin hem de adipoz dokudan elde edilen MKH'nin uygulanması, intrarenal enflamatuar infiltratın, azalmış fibrozun ve glomerlosklerozun azaltılması dahil olmak üzere önemli renoprotektif etkiler göstermiştir. MKH, böbrek hastalıklarının çok sayıda deney modelinde etkili olan terapötik özelliklere sahip, iyi karakterize edilmiş, kolayca elde edilebilen hücrelerden oluşan bir popülasyon oluşturur. MKH'nin altta yatan etki mekanizmaları kapsamlı bir şekilde tarif edilmiştir ve esas olarak immünomodülatör ve parakrin etkileri içerir. Ancak, klinik öncesi çalışmaların sağlam, etkili ve güvenli hasta terapilerine dönüştürülmesi sınırlı kalmaktadır.

Gerçekleştirilen ve tamamlanan birçok klinik çalışma, böbrek patolojilerindeki MKH tabanlı tedavinin güvenilirliği ve etkinliği konusunda daha fazla bilgi sağlayacaktır (Pileggi ve ark., 2013; Sharma ve ark., 2014; Squillaro ve ark., 2016). Son alışmalar, önkoşullama veya genetik modifikasyon yoluyla MKH'nin içsel tamir kapasitesini kuvvetlendirme olasılığını düşündürmektedir (Pasha ve ark., 2008; Polchert ve ark., 2008; Mastri ve ark., 2014; D'Souza ve ark., 2015). Tam olarak test edildikten sonra, gelişmiş MKH, keşfedilmemiş terapötik alanların yanı sıra, güncel için önemli bir araç olabilir.

Diyabet global bir salgın hastalıktır (van Dieren ve ark., 2010). Bu global salgın hastalığın sonucu olarak, diyabet ile bağlantılı makro ve mikro vasküler komplikasyonlarda artış diyabetik nefropati (DN) ve diyabetik böbrek hastalığı (DBH) ile ilişkilidir (Gross ve ark., 2005; de Boer ve ark., 2011).

Diyabet genel olarak mevcut en iyi tıbbi uygulamalara rağmen ilerleyici kronik böbrek hastalığına yol açar. DBH'nin patogenezi, böbrek içi ve sistemik komponentlerin her ikisinin primer ve sekonder mekanizmalarının kompleks bir ağını içerir. Kök veya progenitör hücre terapileri kompleks hastalık proseslerinin birden çok patojenik yolları baskılayarak modüle etmede ve projeneratif mekanizmaya öncülük edilmesine alternatif bir strateji önermektedir.

Şuanda diyabet, KBY ve SEBY'nin en yaygın sebebidir. Geçen on yılda bazı gruplar tarafından, DBH hayvan modelleri üzerindeki MKH'lerin faydalarının ele alındığı deney sonuçları açıklanmıştır. Bu pre-klinik çalışmalar otolog, genetik olarak özdeş (Ezquer ve ark., 2008; Ezquer ve ark., 2009; Fang ve ark., 2012) alojenik (Zhou ve ark., 2009; Lv ve ark., 2013; Lv ve ark., 2014; Pan ve ark., 2014; Abdel Aziz ve ark., 2014) ve ksenogenik MKH'lerinin uygulamalarını içermektedir. Çalışmaların çoğunluğunda MKH'lerin damar yolu ile sistemli verilmesi yöntemi uygulanmıştır. İki çalışmada sol karıncık yolu ile intrakardiyak uygulama gerçekleştirilmişken, bir başka çalışmada ise sol renal arter üzerinden lokal uygulama yapılmıştır (Wang ve ark., 2013). Yapılan bu çalışmalar MKH'lerin; albüminüri, serum kreatinin/üre, glomerüler hipertropi, mesanjiyal genişleme ve skleroz; podosit sayısı, tübüler hasar ile interstisyel fibrozis gibi DBH ile klinik olarak bağlantılı göstergelerinin şiddetini azalttığına dair genel kanıtlar sağlamıştır. Bu veriler birlikte ele alındığında bugüne kadar gözlemlenen sonuçlar, bir ya da daha fazla MKH dozunun sistemli uygulamasının genetik/türsel uyumluluk ve doku kaynağından bağımsız olarak küçük hayvan modelleri üzerindeki proteinürik DBH üzerinde yararlı etkiler ortaya koyduğu sonucuna ulaşılabilir.

İlerlemiş KBY'nin gelişiminin riski için, artmış idrar albümin salgılanması önemli bir belirteçtir (Viberti ve ark., 1982; Parving ve ark., 1982; Mogensen ve ark., 1984). Ama son yıllarda, diyabetli pek çok bireyde zamanla dalgalanmalar olduğu görülmüştür. Bundan dolayı, albüminüriye dair alternatif veya KBY'nin patofizyolojisinin anlaşılmasının artışı ile bağlantılı biyobelirteçlerin araştırılması önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir (Fassett ve ark., 2011; Currie ve ark., 2014; Pena ve ark., 2014).

Günümüzde KBY tanısı hala genel olarak kan üre ve serum kreatinin düzeyleri ile (sCr) yapılmaktadır, ancak sCr'nin yüksek prediktif değerden yoksun olduğu

gösterilmiştir. Ayrıca Steubl ve ark., (2016) serum kreatinin ve tahmini glomerüler filtrasyon oranı arasındaki eğrisel ilişki nedeniyle, kreatinin serum konsantrasyonlarının sadece renal parankimin % 40-50'sinin geri dönüşlü veya geri dönüşsüz olarak hasar gördüğü durumlarda serumda arttığını ileri sürmüştür. Bu, akut veya kronik böbrek yetmezliğinin erken evrelerinin tespit edilmemesine ve bu nedenle detaylı tanıların ve terapötik müdahalelerin uygulanmasının gecikmeli uygulanmasına yol açabilir.

Azaltılmış tahmini glomerüler filtrasyon oranı ve artmış idrar proteini ve albümin atılımı ile daha yüksek derecelerde tübülointerstisyel atrofi ve fibrozis daha kötü KBY prognozu ile ilişkilidir. Bu patolojik değişiklikler, inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, fibroblast aktivasyonu ve proliferasyonu, aşırı üretim ve ekstraselüler matriks bileşenlerinin birikmesi ve peritübüler kılcak damarlardaki azalma ile uyandırılmıştır (Khurana ve ark., 2017; Liu 2011; Mayer 2011). Erken evrelerde, KBY semptomları genellikle belirgin değildir. Böbrek fonksiyonunun önemli ölçüde azaltılması, hastalığın ilk belirgin belirtisidir. Erken teşhis edilirse (evre 1 ve 3), KBY'nin ilerlemesi değiştirilebilir ve komplikasyonlar azalır (Fink ve ark., 2012). 4. ve 5. evrelerde, genellikle son dönem böbrek yetmezliği ile sonuçlanan geniş böbrek hasarı görülür.

KBY'nin izlenmesi için uygun olan biyobelirteç, hastalık esnasında süregelen değişikliklerin değerlendirilmesini için minimum biyolojik değişkenliğe sahip olmalıdır. Ayrıca, yaş, beslenme durumu gibi faktörlerden etkilenmemelidir. İyi bir biyobelirteç, böbrek dokusu patolojisi ile iyi korelasyon gösteren hızlı, invaziv olmayan ve spesifik ölçümler sağlamalıdır (Wasung ve ark., 2015). İyi biyobelirteçlerin böbrek hastalıkları için yüksek duyarlılığa sahip olması gerektiği, böbrek biyopsisi ve hastalık progresyonunun histopatolojik sonuçları ile ilişkili olması gerektiği ve böbrek yetmezliği hastalığının ve prognozunun erken evrelerinin tanımlanmasını mümkün kılması gerektiği ortaya konmuştur (Mok 2010).

İdrar, klinik teşhis için kandan daha iyi bir materyal gibi görünmektedir, çünkü invaziv olmayan bir şekilde toplanabilir ve muhtemelen mesane içindeki uzun "depolama" süreleri nedeniyle nispeten stabildir. Kan toplanması kaçınılmaz olarak proteazların aktivasyonu ile ve bunun sonucu olarak, onun miktarı ile kaçınılmaz olarak bağlantısı olan proteolitik parçalanma ürünleri ile ilişkilidir (Kolch ve ark.,

2005; Good ve ark., 2010). Günümüzde idrar örneği içine daldırılarak bakılan ve proteinüri, mikroalbüminüri, kan, irin, bakteri ve şeker gibi anormalliklerin varlığında renk değiştiren bazı test stripleri (çubukları) bulunmaktadır. Bu stripler, idrar tahlili, kronik böbrek hastalığı, mesane enfeksiyonları ve böbrek taşları gibi çok sayıda böbrek ve idrar yolu rahatsızlığını tespit etmek için kullanılabilir. Geleneksel yöntemlerin yanı sıra tükürük ve solunan nefes de yeni, potansiyel olarak yararlı sağlık bilgisi kaynakları olarak test edilir. Tükürük üre azotu stripleri, akut ve kronik böbrek hastalığı için potansiyel bir tarama aracı olarak önerilmiştir (Raimann ve ark., 2011; Calice-Silva ve ark., 2014; Evans ve ark., 2016). Raimann ve ark., (2011) tükürük üre azotu striplerinin, tek başına uygulandığında kronik böbrek hastalığını saptamak için daha yüksek tarama duyarlılığına sahip olduğunu, ancak diyalizde KBY evre 1–5 olan hastalarda hasta tarafından bildirilen idrar çıkışı ile kombinasyon halinde kullanıldığında daha iyi bir tanısal özgüllüğe sahip olduklarını göstermiştir. Dahası, başka bir çalışma, tükürük üre azotunun Malawi popülasyonunda ölüm zamanı için bağımsız bir prediktör olduğunu ortaya koymuştur; bu da tükürük üre azotunun hastanın hastalığının şiddeti ve prognozunun bir biyo-belirleyicisi olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir (Evans ve ark., 2016). Ayrıca, ekshale edilen nefesin insan patolojilerinde tanı değerine sahip kimyasallar içerdiği gösterilmiştir (Zeng ve ark., 2016). Kreatininin *in vivo* nefes analizinde ekstrakt elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi (EESI-MS) ile KBY'li hastalarda yüksek duyarlılık ve yüksek özgüllüğe sahip olduğu bulunmuştur.

Yüksek verimli teknolojilerin ve bilgisayar bilimlerinin hızlı gelişimi ve sistemik yaklaşımların uygulanması, kişiselleştirilmiş ilacın etkileyici bir şekilde ilerlemesine neden olmuştur. Genomik, epigenetik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gelişmeler nedeniyle, yeni tekniklerin tanıtımı böbrek hastalıklarında yeni biyobelirteçlerin tanımlanmasını sağlayacaktır (Gentile ve Remuzzi 2016).

## 2.5. Adipositokinler

Son yirmi yılda vücut yağlarının rolüne dair algılar değişti. Adipositler, "adipositokinler" olarak bilinen yüzlerce hormonu sentezleyerek endokrin ve immün homeostazi modüle eder. Birçok çalışma bu adipositokinlerin etkilerini araştırmıştır ve bunların besinsel ve immünolojik ortam tarafından modüle edildiğini ileri sürmektedir.

Salgılanan adipositokinler yoluyla adipoz dokusunun kompleks ve oldukça aktif bir metabolik ve endokrin organ oluşturduğu iyi bilinmektedir. Sadece reseptörleri ile adipositokinler, obezite koşullarında ve de atılım bozukluklarında anormalliklerini eksprese eden endokrin ve parakrin modunda hareket edebilirler (Szczepańska ve ark., 2015).

Sağlıklı bireylerde, adipositokinlerin çeşitli yolaklar üzerindeki rolü geniş ölçüde araştırılmıştır. Bununla birlikte, böbrek fonksiyonunun ve renal replasman tedavisinin bu ilişkileri nasıl değiştirdiği hakkında pek az şey bilinmektedir (Tilg ve Moschen 2006).

Yağ dokusu, vücuttaki içeriğine bağlı olarak zararlı veya yararlı bir etkiye sahip olabilir. KBY'de çeşitli adipositokinler (Tablo 2.1) endotel disfonksiyonunu, oksidatif stresi, enflamasyonu, ateroskleroza, böbrek sempatik aktivitesini, kan basıncını ve anemiyi artıran bir rol oynayabilir (Miyamoto ve Sharma 2013; Rüter ve Wolf 2013). Böbrek transplant alıcıları adipositokinlerin fonksiyonlarının değiştirilebildiği, adipositokin metabolizmasının değiştirilmiş beslenme ve bağışıklık durumları ve daha sonra disregülasyonu göz önüne alındığında, benzersiz bir popülasyondur. Örneğin, az sayıda çalışma, adipositokinlerin, böbrek transplant alıcılarında, greft kaybı ve ölüm gibi uzun vadeli sonuçlar üzerindeki etkisini incelemiştir. Adipositokin konsantrasyonları tipik olarak serumda ölçülür, ancak böbrek transplant alıcılarında normal aralıklar henüz tanımlanmamıştır. İnflamasyon, potansiyel olarak üretimi indükleyebilir ve böbrekler bu hormonların klirensinin çoğunda temel bir rol oynadığından, böbrek fonksiyonlarında bozulma dolaşımdaki yüksek adipositokin seviyelerine yol açabilir.

**Tablo 2.1.** Major adipositokinlerin karakteristikleri ve KBY'deki etkileri (Rüster ve Wolf, 2013)

Adipokin	Molekül ağırlığı	Major kaynak	KBY'deki değişim	KBY'deki klinik etkiler
Adiponektin	26.4 kDa	Beyaz adipoz doku	↑	Anti-inflamatuvar Anti-aterojenik Oksidatif stres ↓ Proteinüri ↓ Kemik turnover regülasyonu
Leptin	16 kDa	Beyaz adipoz doku	↑	Aterojenik İnflamatuvar Oksidatif stres ↑ Bağışıklık düzenleyici Kemik turnover ↓ Renal simpatik aktivasyonu ↑ Eritropoetin hassasiyeti ↓
TNF-α	26 kDa	Adipositler, makrofajlar	↑	İnflamatuvar Makrofaj infiltrasyonu ↑ Profibrotik Epitel → mezenkimal değişimi
IL-6	21 kDa (suda çözünür) 28 kDa (membranöz)	Viseral adipoz doku	↑	Aterojenik İnflamatuvar Mortaliteyi artırır
Rezistin	12.5 kDa	Makrofajlar Viseral adipoz doku	↑	Aterojenik İnflamatuvar Renal simpatik aktivasyonu ↑
Visfatin	52 kDa	İnflamatuvar hücreler (esas olarak makrofajlar) Viseral adipoz doku	↑	İnflamatuvar Aterojenik Profibrotik
Anjiyotensinojen (efektör: anjiyotensin II)	49.8 kDa (1.05 kDa)	Adipoz doku, esas olarak viseral adipoz doku	↑	İnflamatuvar Aterojenik Profibrotik

### 2.5.1 Adiponektin

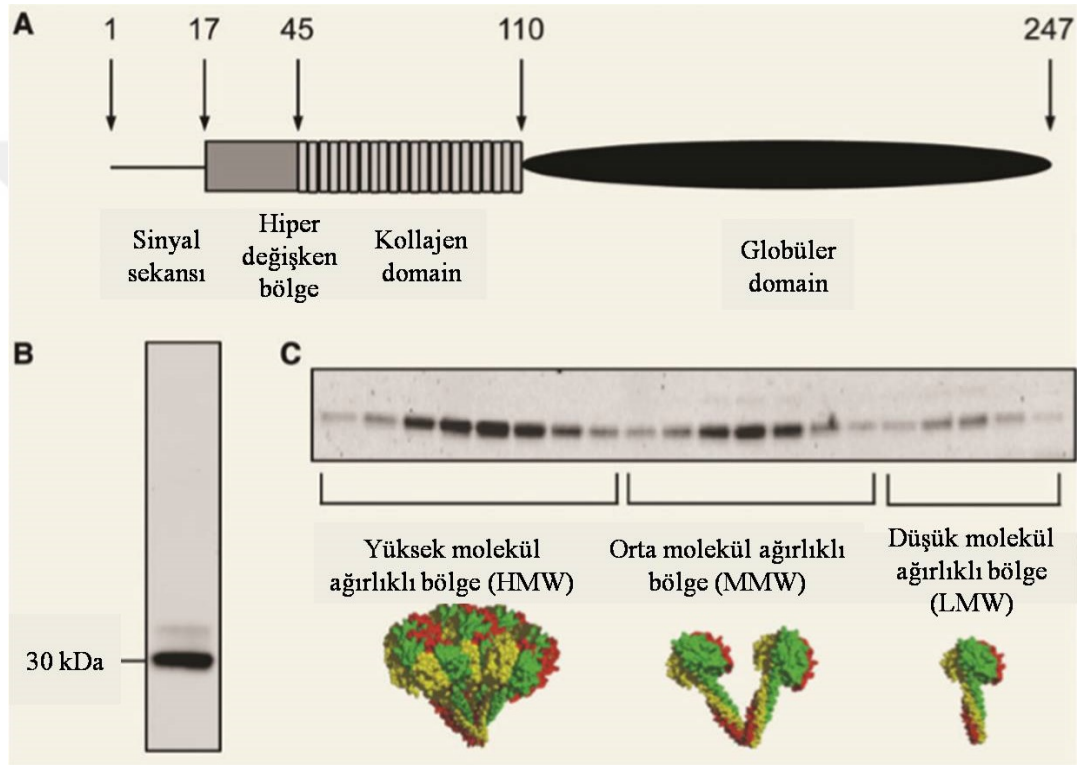
#### Adiponektinin Keşfi ve Yapısı

Adiponektin, yapısal olarak çözünür kollajen süper ailesine ait olan 244 amino asitten oluşan 30 kDa'lık bir proteindir (Berg ve ark., 2002).

Farklı komplekslerin isimlendirilmesi farklı yayınlarda farklılık gösterse de, genel bulgular tamamen tutarlıdır. Adiponektin plazmada, üç adiponektin molekülünün kollajen domainlere bağlandığı form olan düşük molekül ağırlıklı (LMW) trimer, iki trimerin disülfid bağlar aracılığıyla kollajen bölgesinden bağlanmasıyla oluşan heksamer (orta molekül ağırlıklı adiponektin, MMW), ve MMW oligomerlerinin birleşmesiyle 12-18merden oluşan bir buket benzeri yapı olan yüksek molekül



ağırlıklı (HMW) izoformları olmak üzere (Şekil 2.4) üç farklı oligomer şeklinde bulunur (Wang ve ark., 2006). Farklı izoformlar farklı biyolojik fonksiyonlarda görev alır (Bobbert ve ark., 2005). Hücre dışında sekresyon için hormonu hedefleyen bir amino-terminal sinyal peptid bölgesinden, kısa bir hiperdeğişken bölge, bir 65-amino asitlik uzun kollajen bölgesi ve reseptörlerine adiponektin bağlanmasını kolaylaştıran bir karboksi terminal globüler domain olmak üzere adiponektinin yapısı 4 domainden oluşur (Scherer ve ark., 1995; Maeda ve ark., 1996; Nakano ve ark., 1996).



**Şekil 2.4.** Adiponektinin biyokimyasal yapısı

(A) Adiponektinin genel yapısı. (B) 30 kDa'lık adiponektinin, SDS-PAGE bant görüntüsü. Minör üst bant, adiponektinin ek translasyon sonrası modifikasyonları ile daha küçük bir havuzu yansıtır. (C) Adiponektinin üç farklı kompleks formu, yüksek molekül ağırlıklı 12-18mer, orta molekül ağırlıklı heksamer ve düşük molekül ağırlıklı trimer yapıları (Wang ve Scherer 2016)

1995 yılında adiponektin (30 kDa, Acrp30 adiposit kompleman ilişkili protein olarak anılmaktaydı) adiposit-spesifik genler ile zenginleştirilmiş bir cDNA kütüphanesinden tanımlanan ilk rapor yayınlanmıştır. Adiponektinin adipoz dokuda ve doku kültüründe tamamen farklılaşmış adipositlerde spesifik olarak eksprese olduğunu bulunmuştur (Scherer ve ark., 1995).

Adiponektin, türe spesifik hiper-değişken bölgeye karşı yetiştirilen bir antikor kullanılarak fare serumunda kolayca tespit edilebilir. Bu antikor, insan, tavşan veya baldir kaynaklı adiponektine karşı reaksiyona girmez. Hem boyut fraksiyonasyon analizi hem de kimyasal çapraz bağlama deneyleri, adiponektinin çoklu komplekslerde var olduğunu göstermektedir ve orijinal çalışmalar, adiponektinin biyokimyasal özelliklerinin, alt birimlerin birbirleriyle nasıl kompleks oluşturulduğuna bağlı olarak, farklı şekilde etkilenme olasılığını ortaya çıkarmıştır.

Benzer şekilde, Spiegelman ve arkadaşları bir mRNA diferansiyel görüntü testinden fare adiponektini tanımladılar ve başlangıçta AdipoQ olarak adlandırıldılar (Hu ve arkadaşları 1996). Adiponektin transkripsiyon ve translasyonunun adiposit farklılaşması ile kuvvetli bir şekilde indüklendiğini gösterdi.

Yüksek tuz ile elüsyondan sonra, protein dizilemesi ile tanımlanan adiponektin, Scherer ve ark., (1995) tarafından kemirgenlerde yapılan çalışmalarla uyumludur. Nakano ve ark., (1996), adiponektinin farklı moleküler ağırlıklara sahip çoklu kompleksler olarak var olduğunu göstermiştir. 1996 yılında, iki Japon grubu farklı yaklaşımlar kullanarak insan homologunu rapor etmiştir. Maeda ve ark., (1996) insan adipoz dokusundan bir cDNA kütüphanesi inşa etmiştir. Adiponektini en bol bulunan transkriptör olarak tanımlamışlar ve transkript 1 adipozu (apM1) olarak adlandırmışlardır (Maeda ve ark., 1996).

Kemirgenlerde yapılan çalışmalara benzer şekilde, northern blot çalışmalarıyla adiponektinin insan yağ dokusunda yüksek oranda zenginleştiğini göstermiştir. Diğer bir çalışmada, Nakano ve ark., (1996) adiponektini insan plazmasından izole etmek için jelatin esaslı afinite kromatografisi kullanarak tanımlama için farklı bir yöntem kullanmışlardır.

Adiponektin, tip 2 diyabet ve obeziteye genetik yatkınlığa bağlı bir bölge olan 3q27 kromozomunda yer alan APM1 geni (AdiPoz En bol Gen transkript 1) tarafından kodlanır (Kissebah ve ark., 2000).

Plazmada sirküle olan adiponektin, çeşitli moleküler ağırlıklardaki homooligomerlerin yanı sıra az miktarda toplam dolaşımdaki adiponektini temsil eden "globüler adiponektin" (Tsao ve ark., 2003) adı verilen bir proteolitik parçalanma fragmanı olarak bulunur. Globüler adiponektin, kollajen benzeri alan

olmadan globuler baş kısmı içerir ve miyositler ile iskelet kas membranlarında bağlanmayı artırır; ancak hepatosit ve karaciğer membranlarında bağlanmayı azaltıcı yönde etkiye sahiptir.

Adiponektinin, insan kanında zengin olduğu ve plazma düzeylerinin mg/mL aralığında olduğu ve böylece toplam plazma proteininin % 0.01'ini içerdiği bildirilmiştir (Guebre-Egziabher 2005). Adiponektin düzeyleri, kadınlarda, erkeklerde görülen düzeylerin iki katına çıkarak, testosteron etkisi ile perinatal dönemde güçlü bir cinsel dimorfizm gösterir. Testosteron ayrıca yetişkinlerde, üretim, kompleks oluşumu ve adiponektinin klirensi modülasyonu yoluyla doğrudan etkilere sahip olabilir (Wang ve ark., 2005). Adiponektinin doğal durumu, sodyum dodesilsülfat-poliakrilamid jel elektroforezinde (SDS-PAGE) görülen denatüre ve indirgeyici koşullar altında basit görünümle ortaya çıkar. Bu önemli bir konudur, çünkü sadece adiponektinin toplam seviyeleri değil, aynı zamanda kompleks dağılımı aşağı yönde biyolojik etkilere katkıda bulunabilir (Qi ve ark., 2004). Örneğin, erkeklerde ve kadınlarda toplam adiponektin düzeylerinin farkı, erkeklerde düşük HMW seviyeleri nedeniyle olabilir.

Ayrıca, HMW ve total seviyelerinin, hem kemirgen hem de insan çalışmalarında insülin duyarlılığı ile korelasyon için daha güvenilir bir indeks olduğunu bulunmuştur.

Gerçekten de, HMW adiponektin intraperitoneal olarak farelere enjekte edildiğinde daha güçlü glukoz düşürücü etkiler ortaya çıkarmaktadır (Qi ve ark., 2004). Peroksizom proliferator aktive edici reseptör  $\gamma$  agonistlerine (tiazolidinedionlar) ait anti-diyabetik ilaç sınıfı, adipositlerde ve plazmada HMW'yi spesifik olarak artırır.

Ek olarak, Li ve ark., (2012) , hidroksilasyon ve glikozilasyondan sonra (Lys68, 71, 80 ve 104) dört lizin bölgesini tanımlamışlardır. Dört lizinin tümünün arjininlere mutasyonunun, HMW'nin toplanmasını ve salgılanmasını tamamen ortadan kaldırdığını ve dolayısıyla biyolojik fonksiyonu *in vivo* olarak azalttığını göstermişlerdir (Mao ve ark., 2006).

Benzer şekilde, Waki ve ark., (2003) implantasyonu olan HMW oluşumu ile insan mutasyonlarını incelemişlerdir. Adiponektin heksamerlerin trimerik yapı

bloklarından montajı, sistein 39'da (insan adiponektininde sistein 36) inter-trimerik disülfit bağ oluşumunu gerektirir.

### **Adiponektinin Reseptörleri ve Fonksiyonları**

Adiponektinin yağdan türetilen bir faktör olarak bulunmasından kısa bir süre sonra reseptörü (reseptörleri) araştırılmaya başlandı. Kadowaki ve meslektaşları bu hedefi 2003 yılında tamamladılar (Yamauchi ve ark., 2003).

Adiponektin, iki ana reseptörü olan AdipoR1 ve AdipoR2'nin aracılık ettiği çeşitli biyolojik etkileri uygular. AdipoR1, globüler adiponektin için yüksek afiniteli, tam uzunlukta adiponektin için düşük afiniteli bir reseptör iken; AdipoR2 tam uzunlukta ve globüler adiponektin için bir ara afinite reseptörüdür (Yamauchi ve ark., 2003). Hem AdipoR1 hem de AdipoR2, birçok doku ve organda yüksek oranda eksprese edilir. AdipoR1, iskelet kası, karaciğer ve makrofajlarda bolca eksprese edilir ve glukoneogenezisi inhibe eden AMPK yollarının aktivasyonuna bağlıdır. AdipoR2 en sık karaciğer, beyaz yağ dokusu ve vaskülatürde bulunur. AdipoR2, inflamasyonun ve oksidatif stresin inhibisyonunun yanı sıra yağ asidi oksidasyonunu ve enerji tüketimini destekleyen peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör- $\alpha$  (PPAR- $\alpha$ ) yolaklarının aktivasyonu ile daha yakından ilişkilidir (Yamauchi ve ark., 2002; Kadowaki ve Yamauchi 2005; Yamauchi ve ark., 2007).

Periferik dokularda işlev görmesinin yanı sıra, adiponektinin iştah ve enerji harcamalarını düzenleyen merkezi sinir sisteminde de etkili olduğu bulunmuştur. Hem AdipoR1 hem de AdipoR2, bu beyin bölgelerinde adiponektin eyleminin fizyolojik bir tutulumunu düşündüren, paraventriküler hipotalamusta saptanmıştır (Kubota ve ark., 2007; Coope ve ark., 2008). AdipoR1 ve AdipoR2'nin keşfinin ardından Hug ve ark., (2004) adiponektin için ek bir reseptör olarak T-kadherin'i tanımlamıştır. T-kadherin spesifik olarak adiponektinin MMW ve HMW formlarına bağlanır. İlginçtir ki, T-kadherin ile globüler veya bakteriyel olarak üretilen adiponektin arasında saptanabilir bir etkileşim yoktur, bu da yüksek mertebeden komplekslerin önemini ve uygun biyolojik fonksiyon için adiponektinin ökaryotik post-translasyonel modifikasyonlarını vurgulamaktadır. T-kadherin, endotel hücrelerde ve düz kas hücrelerinde bol miktarda ifade edilir. T-kadherin ayrıca kronik iskemiden sonra adiponektin aracılı revaskülarizasyonda kritik rol oynar (Parker-Duffen ve ark., 2013). Bunun yanında, Denzel ve ark., (2010) T-kadherin'in

kardiyak miyositlerde eksprese olduğunu bulmuştur. Bununla birlikte, T-kadherin bir glikozil fosfatidilinositol (GPI) çapası vasıtasıyla plazma membranına bağlanır. Adiponektin için hücre içi sinyal iletimi, bu nedenle, diğer tek taraflı olmayan ko-reseptörleri veya AdipoR1/2'yi gerektirebilir. T-kadherin yetmezliği ayrıca iskemi/reperfüzyon ve AMPK indüksiyonunun azalmasıyla enfarktüs boyutunun artmış olduğunu göstermektedir.

Adiponektin, antiinflamatuvar sitokin olarak işlev görür ve metabolik sendromda önemli bir rol oynar. Adiponektin, anjiyotensin II indüklenmiş inflamasyonu inhibe eder ve albüminüriyi azaltır. Son zamanlarda elde edilen veriler, adiponektinin nekroz faktör  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) transkripsiyonunu aktive ettiğini ileri sürmektedir. NF- $\kappa$ B, T hücre aktivitesi ile bağışıklık sistemini düzenleyen ve akut rejeksiyonda önemli bir rol oynayan bir protein kinazdır (Vu ve ark., 2013). Dahası, bazı veriler adiponektinin T hücreleri üzerinde düzenleyici etkisi olduğunu önermektedir. Anti ve pro-inflamatuvar etkiler adiponektinin moleküler izoformuna göre değişebilir.

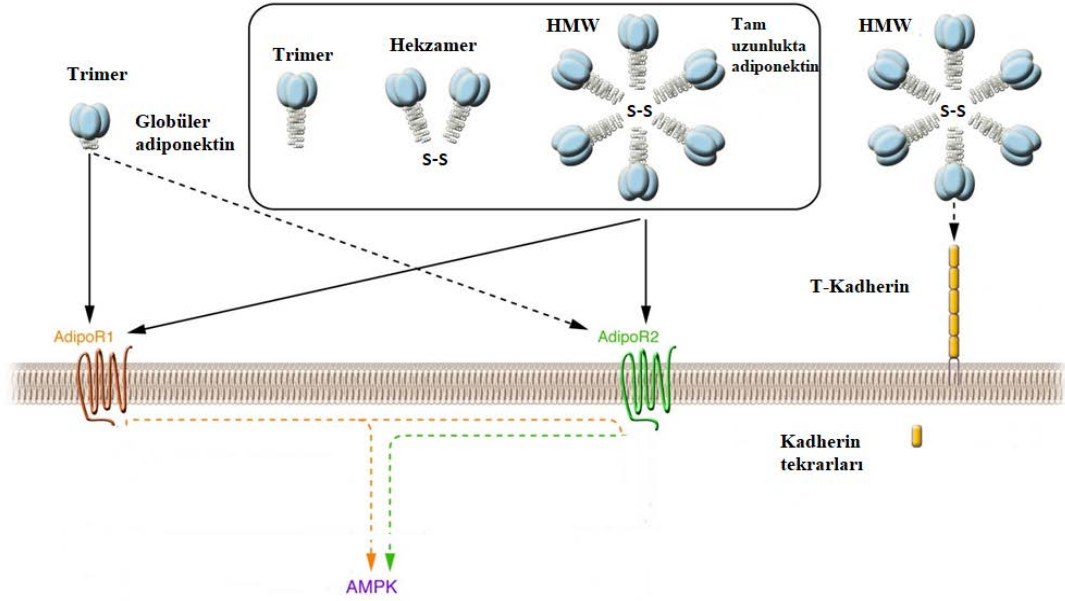
Adiponektin, karaciğer tarafından metabolize edilir ve metabolitler böbrekler tarafından elimine edilir (Tacke ve ark., 2005).

Adiponektin metabolitleri, glomerulus yoluyla filtre edilebilir ve proksimal ve distal tübüllerde olduğu gibi renal arteriol kas ve endotel hücrelerinde de bulunurlar. Proksimal tübül hücreleri adiponektini sentezleyebilir ve salgırlar; bu nedenle idrarda ölçülebilirler (von Eynatten ve ark., 2009; Perri ve ark., 2013)

Beyinde adiponektinin biyoaktif oligomeri ile ilgili bazı belirsizlikler olsa da, artan kanıtlar LMW izoformunun aktif form olabileceğini göstermektedir (Aroda ve ark., 2008; Glintborg 2008). Kubota ve meslektaşlarına göre (2007) LMW izoformu, merkezi sinir sisteminde beslenme davranışını düzenlemede önemli bir rol oynar. Bu nedenle, adiponektinin periferik etkilerine ağırlıklı olarak HMW multimerleri aracılık ederken, LMW formları merkezi etkilerinden sorumlu olabilir. Sonuç olarak, adiponektin sinyal yolu, adiponektinin moleküler formuna, reseptörlerinin relatif bolluğuna ve hedef dokuya bağlıdır.

Adiponektin reseptörleri böbrek hücrelerinde de bulunur. Adiponektin, AdipoR1 aracılığıyla, AMPK yolunu aktive eder. AMPK,  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  olmak üzere üç alt

birimden oluşur ve memeli hücrelerinde  $\alpha$  alt ünitesinin iki izoformu,  $\beta$  alt ünitesinin iki izoformu ve bunların alt ünitelerinin 3 izoformu vardır (Carling 2004).



**Şekil 2.5.** AdipoR1, AdipoR2 ve T-Kadherin aracılığıyla adiponektin sinyal iletimi. Adiponektin, AdipoR1 ve AdipoR2 aracılığıyla AMPK aktivitesini uyararak biyolojik fonksiyonlarını gerçekleştirir (Kadowaki ve ark., 2006)

$\alpha$  alt birimi, N-terminalinde tipik bir serin / treonin protein kinaz alanı ve bir C-terminal düzenleyici alanı içerir.  $\beta$  alt birimi içinde, birincil sekansı, oligosakkaritlere bağlanan bir protein familyasında muhafaza edilen sekanslara benzer olduğu için, glikojen bağlanma alanı veya karbohidrat bağlanma modülü olarak adlandırılan bir alan vardır (Hudson ve ark., 2003; Polekhina ve ark., 2003).  $\beta$  alt ünitesinin C-terminal bölgesi,  $\alpha$  ve  $\gamma$  alt birimleri ile etkileşir ve heterotrimerik kompleksin etkileşimi için iskele görevi görür (Woods ve ark., 1996). Memelilerde hem  $\beta 1$  hem de  $\beta 2$  N-terminal miristoilasyonuna uğrar ve  $\alpha$  ve  $\beta$  alt birimleri fosforilasyona tabi tutulur.  $\gamma$  alt birim izoformları, sistatyonin- $\beta$ -sentazda tanımlanmış olan bir motifin dört kopyasını içerir (Bateman 1997). AMPK'da, sistatyonin- $\beta$ -sentaz alanları, adenin nükleotit bağlayıcı bölgelerini oluşturur. AMPK, evrim boyunca büyük ölçüde korunmuştur ve homologlar hemen hemen tüm ökaryotlarda mevcuttur (Hardie ve ark., 2011). AMPK, apoptozu, TGF $\beta$ -1, nefrin ve Nox-4 sentezinin fibrotik etkilerini inhibe eder. Endotelial hücrelerde, proinflamatuvar ve vazodaratıcı faktörleri ve oksidatif stresi azaltır. Ayrıca, endotelial nitrik oksit sentaz konsantrasyonunu yükseltir ve anabolik süreçleri kontrol eder (Christou ve Kiortsis 2014).

## 2.6. KBY'de Adiponektin

Özgün yeni KBY biyobelirteçlerinin erken safhalardaki doğrulamalarına rağmen, hala sadece birkaçı geleceği parlak çalışmaların öznesi haline gelmiştir. MKH'lerin KBY üzerindeki terapötik etkilerine dair çalışmalar literatürde kan ve idrarda ölçülebilir biyobelirteçler hakkında dikkatli bir değerlendirme yolu ile geliştirilmiştir. Araştırmacılar bu amaçla şimdiye kadar, MKH terapisinin KBY üzerindeki etkilerinin tahmini için spesifik potansiyeli olduğuna inanılan özgün biyobelirteçlerin seçimi üzerine odaklanmışlardır.

Adiponektinin, kemirgen denemelerinde renal-koruyucu bir etkisi olduğu rapor edilmiştir (Sharma ve ark., 2008; Ohashi ve ark., 2008; Nakamaki ve ark., 2011). Yapılan bir başka çalışmaya göre serum adiponektin seviyelerinin, diyabetli fakat normal albüminüri ve glomerüler atılım oranına sahip bireylerde idrar albümin eksresyonu ile negatif ilişkili olduğu gözlenmiştir. Buna rağmen, bu ilişkinin mikro-albüminüri içeren bireylere göre daha az tutarlı olduğu ortaya koyulmuştur (Tsioufis ve ark., 2005; Barlovic ve ark., 2009; Barlovic ve ark., 2010; Tamba ve ark., 2010). Buna ek olarak, KBY'li bireylerde serum ve idrar adiponektin seviyelerinin albüminüri ile pozitif ilişkili, GFO ile negatif ilişkili olduğu gösterilmiştir (Koshimura ve ark., 2004; Looker ve ark., 2004; Costacou ve ark., 2005; Frystyk ve ark., 2005; Fujita ve ark., 2006; Schalkwijk ve ark., 2006; Kacso ve ark., 2012; Jorsal ve ark., 2013).

Saraheimo ve arkadaşları tip I diyabetli denekler ile yaptıkları bir çalışmada, artmış serum adiponektinden normo-albüminüriden son evre böbrek hasarına gelişimi tahmin etmiştir (Saraheimo ve ark., 2008). Buna benzer olarak, Panduruve ark., (2015) idrar adiponektini ve tip I diyabetteki son evre böbrek hasarı gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmıştır.

Tip II diyabet, obezite ve insülin direnci ile ilişkili olan adiponektinin aşağı regülasyonu ile bağlantılıdır (Christou ve Kiortsis 2014).

Alam ve ark., (2013) artmış adiponektin konsantrasyonunun, böbrek transplantasyonu sonrası erişkin KBH hastalarında daha yüksek ölüm riskine bağlı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte, bu hastalardaki daha yüksek allogreft yetmezliği oranı kanıtlanamamıştır. Niemczyk ve diğ. KBY'deki adipositokin

düzeylerinin çoğu durumda yüksek olduğu ve bunların bozulmuş atılımı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. (Seeger ve ark., 2008).

Adiponektin eksikliği endotel disfonksiyonu, arteriyel hipertansiyon, koroner kalp hastalığı ve diğer kardiyovasküler komplikasyonlar için bağımsız bir risk faktörüdür (Kershaw ve Flier 2004). Bu nedenle, KBH olan çocuklarda düşük adiponektin düzeyindeki gözlemler, bu adipositokinin koruyucu etkisinin kaybolduğunu doğrulayabileceği yöndedir (Szczeпаńska ve ark., 2015). Kamariski ve ark., yaptıkları çalışmada adiponektin seviyelerinin yaşla doğrudan ilişkili olduğunu; fakat yetişkinlerde bu adipositokinin daha yüksek seviyelerinin sadece ileri yaştan ve GFO düşüşünden kaynaklanamadığı belirtmişlerdi (Kamariski ve ark., 2009).

Kaynar ve ark., KBH olan erişkin hastalarda adiponektin ve resistin düzeylerinin protein-enerji kaybı varlığı ile anlamlı derecede pozitif ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Kaynar ve ark., 2014).

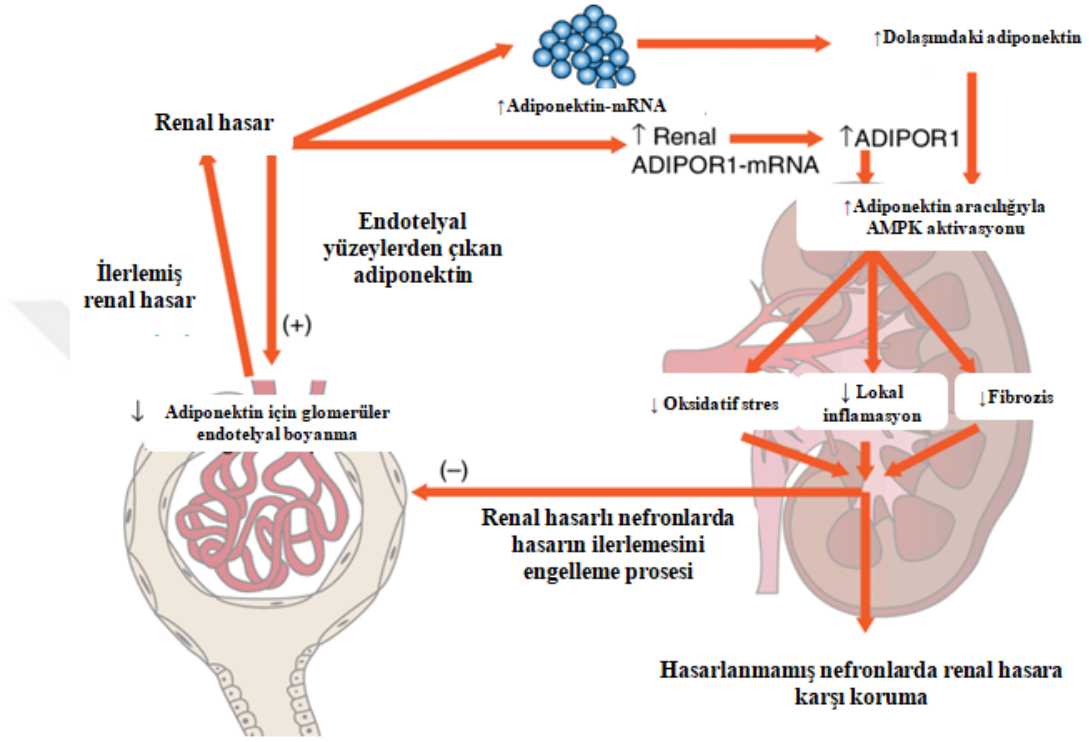
Böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda serum adiponektin düzeyleri yükselir. Üremik ortam ve proinflatuar sitokinler, böbrek eliminasyon bozukluğu için adiponektin sentezini biyolojik geri bildirim ile bozar (Bruun ve ark., 2003). Yüksek adiponektin düzeyleri de artan enerji harcanması nedeniyle kilo kaybı yoluyla yetersiz beslenmeye yol açabilir (Qi ve ark., 2004). Renal replasman tedavisi alan yetersiz beslenen hastaların daha yüksek adiponektin düzeylerine sahip olduğu gözlenmiştir (Ekramzadeh ve ark., 2013).

Deneysel çalışmalarda yüksek adiponektin düzeylerinin yüksek dansiteli lipoprotein, apolipoprotein A1 ve hepatositlerin düzensizliğini azalttığı gösterilmiştir (Liu ve ark., 2012).

Özet olarak, adiponektinin daha yüksek seviyelerinin böbrek üzerinde koruyucu etkileri olabildiği ortaya koyulmuştur. Araştırmacılar idrar adiponektininin albümin eksresyon oranından daha iyi bir tahmin edici olduğu sonucuna varmıştır. Bundan dolayı, serum veya idrar adiponektini, açıkça proteinüri ve azalmış GFO ayarlanmasında DKD gelişiminin tahmin edicisi olarak spesifik bir değer olabilir; belki de MKH tedavisi için en çok çalışılması hedeflenen gruptur.



Obezite ve ilerleyici böbrek hastalığı arasındaki ilişkinin altında yatan mekanizmalar iyi anlaşılmamıştır. Yüksek yağlı bir diyetle maruz kalmak, böbrek de dahil olmak üzere birçok organda AMPK hücresel enerji seviyesini azaltır, ancak AMPK'nin yüksek yağlı bir diyetin neden olduğu böbrek hastalığının patofizyolojisine katkıda bulunup bulunmadığı bilinmemektedir.



Şekil 2.6. Renal hasarda adiponektin (Christou ve Kiortsis 2014)

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Term Plasentalardaki Amniyon Membranından Mezenkimal Kök Hücrelerin İzolasyonu

Plasenta, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü doğumhanesinden temin edilip, koryoamniyonik zarlarının yapısı kontrol edildi. Amniyon zarı, kenarlardan başlanarak koryon zarından nazikçe uzaklaştırıldı.

Amniyon steril bir kaba alındı, serum fizyolojik (SF) + %2 penisilin/streptomisin (P/S) + %2 Fungizon solüsyonuyla yıkandı. Yıkama işlemine amniyon kandan uzaklaşınca kadar devam edildi. Kalan kan parçacıkları ve jölemsi kısımlar bistüri ile kesilerek uzaklaştırıldı. Tamamen şeffaf renkte, kan içermeyen bir amniyon kalıncaya kadar işleme devam edildi. Amniyon bistüri yardımıyla 3x3 cm<sup>2</sup>'lik parçalara ayrıldı. Kesilen parçalar sayılarak + %1 P/S + %1 Fungizon içeren steril bir kaptaki toplandı. Bu adım 2 kez tekrarlanarak kandan olabildiğince uzaklaştırma sağlandı.

Parçalar pens ile kabın kenarından süzdürerek steril bir kaptaki Enzim Solüsyonu 1 (Dispaz 2.5 U/mL)'e alındı ve hızlıca çalkalandı. Bir amniyon zarından yaklaşık 15-30 parça çıktığından dolayı 15 mL enzim solüsyonu 1 kullanıldı. Bazal membran sindirimi için parçalar 9 dakika (dk) 37°C'deki su banyosunda çalkalamadan inkübe edildi ve daha sonra pens yardımıyla hızlı şekilde 40 mL RPMI 1640 medyumu içeren steril kaba koyularak 5 dk bekletildi.

Parçalar pensle kabın kenarından süzdürülerek steril kaptaki Enzim Solüsyonu 2 (%5 fetal bovin serum içeren RPMI 1640 medyumu, kollajenaz ve Dnaz I)'ye alındı ve 2 - 2.5 saat 37°C'de su banyosunda inkübe edildi. Süre sonunda, solüsyon ve içindeki parçalar 2 adet 50 mL steril falkona eşit olarak paylaştırıldı, üzerine HBSS+ %1 P/S + %1 Fungizon eklenerek toplam hacim 50 mL'ye tamamlandı. Tüpler 900 rpm'de 3 dk 20°C'de santrifüj edildi. Süpernatantlar steril 100 µm cell strainer (Corning, #352360)'dan geçirilerek falkonlara alındı. Falkonların üzerlerine HBSS + %1 P/S + %1 Fungizon eklenerek toplam hacim 50 mL'ye tamamlandı ve 1300 rpm'de 10 dk 20°C'de santrifüj edildi. Süpernatantlar atıldı ve falkonlardaki pelletler falkona hafifçe vurularak resüspanse edildi.

Pelletin üzerine DMEM W/ düşük glukoz medyumu eklenerek ve tripan mavisi kullanılarak toma lamında hücre sayımı yapıldı. Toma lamının her iki kenarındaki ortada bulunan büyük karelerdeki hücreler sayıldı, ikiye bölünerek ortalaması alındı. Çıkan rakam  $2 \times 10.000 \times 5$  ile çarpıldı. Hücreler flaska ekildi. Ertesi gün (24 saat sonra), hücrelerin medyumu değiştirildi. Hücrelerin medyumu 3 günde bir DMEM W/ düşük glukoz medyumuyla değiştirildi. Hücreler konflüent olduğunda pasajlama yapıldı.

25 mL'lik flask için 2 mL ve 75 mL'lik flasklar için 3 mL akutaz kullanıldı.

Eski medyum çekildi, HBSS ile 1 kez yıkandı, flaska 2 mL akutaz konuldu ve 37°C'lik inkübatörde 1 dk beklendi. Mikroskopta kontrol edildi. Hücrelerin tamamı kalkınca üzerine 5 mL medyum ilave edildi. 900 rpm'de 7 dk 20°C'de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve DMEM W/ düşük glukoz medyumu ile resüspanse edilerek flasklara dağıtıldı.

### **3.2. Hücrelerin Flow Sitometre ile Karakterizasyonu**

Hücrelerin karakterizasyonu için Mezenkimal Kök Hücre Kiti (BD, 562245) kullanıldı. Hücreler Akkutaz ve BD marka stain buffer ile kaldırıldı ve yıkandı; 1400 rpm'de +4°C'de 5dk santrifüj edildi ve  $1 \times 10^6$  hücre/mL olacak şekilde pellet BD marka Stain buffer ile resüpanse edildi. 1-10 arası tüpler yazıldı (1.5 mL'lik steril mikrosantrifüj tüpü). Daha sonra  $1 \times 10^6$  hücre/mL hücre süspansiyonundan 100 µL hücre tüm tüplere pipetlendi. Böylece her bir tüpe  $1.10^5$  hücre/mL konsantrasyonda hücre konulmuş oldu.

Her bir tüp için aşağıda belirlenmiş olan antikorlardan uygun miktarda pipetleme yapıldı.

1. - / (Sadece hücre (100 µL)
2. PE hMSC Negatif İzotip Kontrol Kokteyl (20 µL)
3. hMSC Pozitif İzotip Kontrol Kokteyl (20 µL)
4. hMSC Pozitif İzotip Kontrol Kokteyl (20 µL) + PE Mouse IgG2b İzotip kontrol (5 µL) (4 pozitifin izotip kontrol kokteyli)

5. FITC Mouse Anti Human CD90 (5 µL)
6. PE Mouse Anti Human CD44 (5 µL)
7. PerCP Mouse Anti human CD105 (5 µL)
8. APC Mouse Anti human CD73 (5 µL)
9. hMSC Pozitif Kokteyl (20 µL) + PE hMSC Negatif Kokteyl (20 µL)
10. hMSC Pozitif Kokteyl (20 µL) + PE Mouse Anti Human CD44 (5 µL) (4 pozitif marker)

Tüpler kısaca vortekslendi ve 45 dk inkübe edildi. Hücreler 1 mL Stain buffer ile 2 kez yıkandı (2 yıkama arası 1400 rpm, 4°C derecede 5 dk santrifüj). Santrifüj sonrası pellet 300-500 µL Stain buffer ile resüspanse edildi ve flow sitometri analizine alındı.

### **3.3. Mezenkimal Hücrelerin Adiposit, Kondrosit ve Osteositlere Yönlendirilmesi**

#### **3.3.1 Osteositlere Yönlendirme**

Osteositlere yönlendirme için StemPro Osteogenesis kiti (Life Tech, #A10072-01) kullanıldı.

Flaskta hücrelerin konflüent olduğu belirlendi. Eski medyum çekildi ve flask HBSS ile yıkandı. Flaska 2 mL akutaz konuldu. 37°C'lik inkübatörde 1 dk bekletildi ve mikroskopta hücrelerin kalktığı belirlendi. Üzerine 5 mL medyum eklendikten sonra 900 rpm'de 7 dk santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Hücre canlılığının belirlenmesi için tripan mavisi kullanıldı. Toma lamında hücreler sayıldı. Hücreler 96'lık well plate'e ekildi. Hücrelerin üzerine DMEM/düşük glukoz + FBS + P/S medyumları koyularak hücreler %5 CO<sub>2</sub>, 37°C'lik inkübatörde 2 saat boyunca inkübe edildi. 2 saatin sonunda medyum çekildi ve su banyosunda ısıtılmış Complete Osteogenesis Farklılaşma Medyumu (100 mL için, 90 mL StemPro Osteosit Bazal Medyum+10 mL StemPro Osteogenesis Supplement+50 µL P/S) eklendi. Bu medyum 3 günde bir değiştirilerek 21 gün boyunca hücreler inkübe edildi. 21 gün sonunda Alizarin Red S boyaması yapılarak invert mikroskopta görüntülendi ve fotoğrafları çekildi.

**Alizarin Red S Boyaması:** 2 gr Alizarin Red S (Santa Cruz, #205998) 100 mL distile su (dH<sub>2</sub>O) içerisinde çözöldü, pH'sı ölçöldü (pH 4.1-4.3) ve filtreden geçirildi. Hücrelerin üzerindeki medyum çektilirerek 1 kez PBS ile yıkandı. Hücreler formalin ile 30 dk oda sıcaklığında fikse edildi. Formalini uzaklaştırmak için hücreler dH<sub>2</sub>O ile 3 kere yıkandı. Alizarin Red S hücrelerin üzerine konuldu ve 30 dk bekledikten sonra dH<sub>2</sub>O ile 3 kez yıkandı. PBS konularak invert mikroskopta görüntölendi.

### 3.3.2 Adipositlere Yönlendirme

Adipositlere yönlendirme için StemPro Adipogenesis kiti (Life Tech, #A10070-01) kullanıldı.

Osteosite farklılaştırmada olduğu gibi akutazla kaldırılan hücreler santrifüj edilip süpernatantları atıldıktan sonra 96 kuyucuklu plate'te her bir kuyucuğa 1 × 10<sup>4</sup> hücre/cm<sup>2</sup> hücre ekildi. Hücrelerin üzerine DMEM/düşük glukoz + FBS + P/S medyumunu konularak hücreler %5 CO<sub>2</sub>, 37°C'lik inkübatörde 2 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonunda medyum çekildi ve su banyosunda ısıtılmış Complete Adipogenez Farklılaşma Medyumunu (100 mL için, 90 mL StemPro Adiposit Bazal Medyum 10 mL StemPro Adipogenesis Supplement+ 50 µL P/S) eklendi. Bu medyum 3 günde bir değiştirilerek 21 gün boyunca hücreler inkübe edildi. 21 gün sonunda Oil Red O boyaması yapılarak invert mikroskopta görüntölendi ve fotoğrafları çekildi.

**Oil Red O Boyaması:** 50 mL izopropanol içine 250 mg Oil red O (Sigma, 00625) konularak stok solüsyon hazırlandı. Hücrelerin üzerindeki medyum çektilirdi 1 kez PBS ile yıkandı. Hücrelerin fikse olması için formalin konuldu ve 30 dk oda sıcaklığında beklenildi. Formalini uzaklaştırmak için hücreler 2 kez PBS ile yıkandı.

30 mL Oil Red O stok solüsyonuna 20 mL dH<sub>2</sub>O eklenerek boyama solüsyonu hazırlandı. %60'lık izopropanol solüsyonu hazırlandı. Hücreler PBS ile yıkandıktan sonra hazırlanan %60'lık izopropanol solüsyonu hücrelerin üzerine konuldu ve 5 dk beklenildi. İzopropanol solüsyonu çektilirdikten hemen sonra Oil Red O solüsyonu eklendi ve 1 saat oda sıcaklığında beklenildi. Hücreler dH<sub>2</sub>O ile 3 kez yıkandı ve zıt boyama yapıldı. PBS eklenerek invert mikroskopta görüntölendi.

### 3.3.3 Kondrositlere Yönlendirme

Kondrositlere yönlendirme için StemPro Kondrogenesis kiti (Life Tech, #A10072-01) kullanıldı. Osteosite farklılaştırma olduğu gibi akutazla kaldırılan hücreler santrifüj edilip süpernatantları atıldıktan sonra  $1 \times 10^6$  hücre ependorfa ekilerek pellet kültürü yapıldı. 21 gün inkübe edilerek ve 3 günde bir eski medyum çektilerilerek 1 mL Complete Kondrogenesis Farklılaşma Medyumu (100 mL için, 90 mL StemPro Kondrosit Bazal Medyum + 10 mL StemPro Kondrogeniz Supplement+ 50 µL P/S) eklendi. 21 gün sonunda Alsiyan Mavisi ve Sirius Kırmızı boyaması yapıldı ve fotoğraflandı.

**Alsiyan Mavi Boyaması:** Pellet halindeki hücreler parafine ekildikten sonra kesitleri alındı. %1'lik Alsiyan Mavisi ve %3 asetik asit içeren boyama solüsyonu hazırlandı. Kesitler boyama solüsyonunda 30 dk bekletildi. Kesitler 3 kez %1'lik HCl'de yıkandı. Zıt boyama yapılarak kapatma yapıldı.

**Sirius Kırmızı Boyaması:** 0,1 gr Direct Red 80 (Sigma, #365548), 100 mL pikrik asit (Sigma, #P6744-1GA) içerisinde çözülerek Sirius Kırmızı boyası hazırlanır. Kesitler solüsyona konularak 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. %2'lik asetik asit içeren solüsyonda kesitler yıkandı. Zıt boyaması yapılarak kapatma yapıldı.

### 3.4 KBY'li Hayvan Modelinin Oluşturulması

Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden B.30.2.AKD.0.05.07.00/79 sayılı etik kurul kararı ile Wistar cinsi toplam 42 erkek sıçan (250 - 300 gr) temin edildi. Tüm hayvanlar deney sonlanıncaya kadar Deney Hayvanları Ünitesi'nde 12/12 saat karanlık/aydınlık periyodunda, 20-22°C oda sıcaklığında barındırıldı. Hayvanlar musluk suyu ve standart yem ile beslendi. Gruplar Tablo 3.1.'de gösterilen şekilde oluşturuldu.

**Tablo 3.1.** Hayvan gruplarının oluşturulması

	<b>Grup İsimleri</b>	<b>Gerçekleştirilen işlemin içeriği</b>
Grup (n=7)	Kontrol Grubu (Sham)	Hayvan deney günlerinde sadece açılıp, kapatıldı. Bunun dışında herhangi bir cerrahi müdahale yapılmadı.
Grup (n=7)	5/6 Nefrektomi (60. Gün) (NEF)	Hayvan temin edildikten sonra sol böbrekte bulunan renal arterin polar 3 dalından 2'sine ligasyon yapıldı. 2 hafta sonra ise sağ böbrek tamamen çıkarılarak nefrektomi gerçekleştirildi. Böylece toplam 5/6 renal arter ligasyonu sağlanmış olup, 8 hafta süre ile beklendi.
Grup (n=7)	5/6 Nefrektomi (60. Gün) + 15. Gün (NEF+15)	Hayvan temin edildikten sonra sol böbrekte bulunan renal arterin polar 3 dalından 2'sine ligasyon yapıldı. 2 hafta sonra ise sağ böbrek tamamen çıkarılarak nefrektomi gerçekleştirildi. Böylece toplam 5/6 renal arter ligasyonu sağlanmış olup, 8 hafta süre ile beklendikten sonra hastalığın ilerlemesi için 15 gün daha beklendi.
Grup (n=7)	5/6 Nefrektomi (60. Gün) + 30. Gün (NEF+30)	Hayvan temin edildikten sonra sol böbrekte bulunan renal arterin polar 3 dalından 2'sine ligasyon yapıldı. 2 hafta sonra ise sağ böbrek tamamen çıkarılarak nefrektomi gerçekleştirildi. Böylece toplam 5/6 renal arter ligasyonu sağlanmış olup, 8 hafta süre ile beklendikten sonra hastalığın ilerlemesi için 30 gün daha beklenerek hayvanların "son evre renal hastalık" durumuna sahip olması sağlandı.
Grup (n=7)	5/6 Nefrektomi (60. Gün) + Kök hücre sonrası 15. Gün (KHS+15)	Hayvan temin edildikten sonra sol böbrekte bulunan renal arterin polar 3 dalından 2'sine ligasyon yapıldı. 2 hafta sonra ise sağ böbrek tamamen çıkarılarak nefrektomi gerçekleştirildi. Böylece toplam 5/6 renal arter ligasyonu sağlanmış olup, 8 hafta süre ile beklenerek, KBY yapılmış sıçanlara kök hücre enjekte edilerek iyileşmenin gözlenmesi için 15 gün daha beklendi.
Grup (n=7)	5/6 Nefrektomi (60. Gün) + Kök hücre sonrası 30. Gün (KHS+30)	Hayvan temin edildikten sonra sol böbrekte bulunan renal arterin polar 3 dalından 2'sine ligasyon yapıldı. 2 hafta sonra ise sağ böbrek tamamen çıkarılarak nefrektomi gerçekleştirildi. Böylece toplam 5/6 renal arter ligasyonu sağlanmış olup, 8 hafta süre ile beklenerek, KBY yapılmış sıçanlara kök hücre enjekte edilerek iyileşmenin gözlenmesi için 30 gün daha beklendi.

Kök hücre gruplarındaki hayvanlara amniyon zarından izole edilen  $1 \times 10^6$  mezenkimal kök hücre enjeksiyonu 0.5 mL medyum içerisinde kuyruk veninden verildi. Hayvanlara mezenkimal kök hücre verilmesinden 1 gün önce Siklosporin-A subkutan olarak enjekte edildi ve bu işlem hücre verilmesinden 7 gün sonrasına kadar devam etti. 100 mg siklosporin 10 mL DMSO içerisinde çözüldü ve hayvan başına 1 mg / gün olmak üzere verildi. Siklosporinin verilme amacı, sıçanların bağışıklık sistemlerini baskılayarak insan plasentası kökenli mezenkimal kök hücreleri reddini engellemektir.

Her bir hayvan deney süresi tamamlanarak sakrifiye edilmeden 24 saat önce metabolik kafese alınarak, son gün idrarı toplanmış oldu.

Ertesi gün hayvanlar ketamin HCl ve %2 kslazin ile birlikte intraperitoneal anestezi etkisindeyken abdomen arterinden kanları alındıktan sonra sakrifiye edilmiş ve böbrekleri buz içine alınarak muhafaza edilmiştir. Elde edilen böbrek dokuları western blot ve Real-time PCR deneyleri için kullanıldı. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra alınan böbrek dokuları deneyler için kullanılmıncaya kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi. Alınan kanlar ise 3500 rpm'de 7 dk santrifüj edildi ve serumlar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### **3.5. Western Blot**

#### **3.5.1. Lizat Hazırlama**

Böbrek dokularının ağırlıkları ölçüldü.

0,2 gr doku başına 600  $\mu\text{L}$  lizis tamponu ve 24  $\mu\text{L}$  proteaz inhibitör kokteyli olacak şekilde hesaplama yapılarak tüplere lizis tamponu ve proteaz inhibitör kokteyli eklendi. Örnekler 10 dk buz üzerinde bekledikten sonra sonikasyon ile homojenizasyonları sağlandı. 30 dakika daha buz üzerinde bekletilerek toplam 40 dakika lizis tamponu ile inkübasyonu sağlandı.

Ardından örnekler 15.000 rpm'de 15 dk  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüj edildi. Süpernatantlar alınıp pelet kısmı atılarak lizatlar hazırlandı. Hazırlanan lizatlar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.



### 3.5.2. Protein Miktar Tayini

Hazırlanan lizatların protein miktarları Bradford Kit (Thermo Scientific™, Pierce™ Coomassie Plus (Bradford) Assay Kit) kullanılarak hesaplanmıştır.

Protein içeriklerine göre her bir grup içerisine distile su ve Laemlie eklenerek örnekler sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezinde (SDS-PAGE) yürütülmeye hazır hale getirilmiştir.

### 3.5.3. SDS-PAGE Metodu

Kullanılan Solüsyonlar

- Ayırma Solüsyonu

18,17 g Tris + 0,4 g SDS 80 mL dH<sub>2</sub>O'da çözülür, pH 8.8'e ayarlanır ve 100 mL'ye tamamlanır.

- Toplama solüsyonu

6,06 g Tris + 0,4 g SDS 80 mL dH<sub>2</sub>O'da çözülür, pH'ı 6,8' ayarlanır ve 100 mL'e tamamlanır.

- Akrilamid - Bisakrilamid (Poliakrilamid)

7,5 g hazır akrilamid – bisakrilamid 37,5:1 toplam hacim 25 mL oluncaya kadar distile suda çözülerek hazırlanır.

- TEMED (TEtra Metil Etilen Diamin)

- %10'luk APS (Amonyum PerSülfat)

- Elektroforez yürütme solüsyonu (5X)

9 g TRIS, 43.2 g Glisin ve 3 g SDS 600 mL dH<sub>2</sub>O'da çözünür.

Kullanılacağı zaman 1x şeklinde seyreltildi.

- Blotlama Solüsyonu

3 g TRIS ve 14,3 g Glisin 700 mL dH<sub>2</sub>O'da çözüldükten sonra üzerine 200 mL Metanol eklenerek hazırlanır. Solüsyonun pH'ı 8,3-8,6 arasında çıkmalıdır, ayarlama yapılmaz.

• TBS (10X)

60,55 g TRIS ve 87,66 g NaCl 800 mL dH<sub>2</sub>O'da çözünür, pH 7,4'e ayarlandıktan sonra toplam hacim dH<sub>2</sub>O ile 1000 mL'ye tamamlanarak hazırlanır.

Kullanılacağı zaman 1x şeklinde seyreltilir. 1000 mL TBS'e 1 mL Tween-20 eklenerek yıkama solüsyonu olan TBST-T hazırlanır.

Çalışılacak olan proteinin molekül ağırlığı dikkate alınarak uygun yüzdelerde jeller hazırlanır. Jel yüzdeleri için kullanılması gereken miktarlar Tablo 3.2 ve Tablo 3.3'te belirtilmiştir:

**Tablo 3.2.** Ayırma jeli hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarları

(µL)	% 5	% 7,75	% 10	% 12,5	% 15
<b>Distile su</b>	4680	4000	3300	2640	2000
<b>Ayrılma Solüsyonu</b>	2000	2000	2000	2000	2000
<b>Poliakrilamid</b>	1320	2000	2640	3300	4000
<b>TEMED</b>	10	10	10	10	10
<b>%10'luk APS</b>	60	60	60	60	60

**Tablo 3.3.** Toplama jeli hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarları

(µL)	1 jel için	2 jel için	3 jel için
<b>Distile su</b>	1155	2310	3465
<b>Toplama Solüsyonu</b>	500	1000	1500
<b>Poliakrilamid</b>	330	660	990
<b>TEMED</b>	2,5	5	7,5
<b>%10'luk APS</b>	15	30	45

Jeller hazırlandıktan sonra 95°C'de 5 dk kaynatılmış olan örneklerin (her bir kuyucukta 20 µg protein olacak şekilde hesap yapıldı) ve çalışılan proteinin molekül ağırlığına bağlı olarak seçilmiş olan uygun marker yüklemeleri gerçekleştirildi ve örnekler elektroforez solüsyonu içerisinde 80 Volt'ta yaklaşık 2 saat yürütüldü. Jeldeki örnekler yürüme tamamlandıktan sonra PVDF (Poli-viniliden florür) ya da nitroselüloz membrana aktarıldı. 350 mA'de 1 saat oda sıcaklığında blotlama aşaması yapılarak jeldeki proteinlerin membrana geçmesi sağlandı. Blotlama işleminin sonunda 1 saat oda sıcaklığında ve shaker üzerinde %5'lik BSA (TBS-T içinde hazırlandı) ile bloklama aşaması gerçekleştirildi.

Bloklama aşamasından sonra membranlar adiponektin, AdipoR1, Fibronektin, pAMPK ve Beta-aktin antikoları ile Tablo 3.4.'te belirtilen uygun dilüsyonlarda gece boyu +4°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, 3 kez 10 dk TBS-T ile yıkandıktan sonra membranlar sekonder antikolarla oda sıcaklığında karıştırıcı üzerinde 2 saat inkübe edildi. Süre sonunda tekrar 3 kez 10 dk TBS-T ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. Membranlar Supersignal Chemiluminesans (Thermo) kiti ile geliştirildi ve membrandaki protein bantları karanlık odada filme aktarıldı.

**Tablo 3.4.** Western Blot yönteminde kullanılan antikolar ve seyreltmeleri

Primer antikor	Seyreltme	Sekonder antikor	Seyreltme
Adiponektin	1/2000	Anti-Mouse	1/5000
Adiponektin Reseptör 1	1/2000	Anti-Rabbit	1/5000
Fibronektin	1/1000	Anti-Rabbit	1/10000
pAMPK	1/2000	Anti-Rabbit	1/12500
AMPK-α	1/2000	Anti-Rabbit	1/12500
B-Aktin	1/500	Anti-Rabbit	1/5000

### 3.6. Real-Time PCR Protokolü

#### 3.6.1. Total RNA İzolasyonu

Doku örneklerinden Total RNA izolasyonu Trizol (Invitrogen) reaktifi kullanılarak gerçekleştirildi. Böbrek dokuları MagNa Lyser Gren Beads tüplerine alındı ve üzerlerine 1'er mL Trizol reaktifi eklendi. Homojenizasyon MagNa Lyser cihazında

6000 rpm 25 saniyede gerçekleştirildi. Homojenizasyon işleminden sonra Invitrogen'in protokoluna göre RNA izole edildi. Protokol sonunda elde edilen RNA pelletleri üzerine RNaz-içermeyen su konuldu. Elde edilen RNA için konsantrasyon ölçümü spektrofotometrik olarak 260 nm ve 280 nm dalga boylarında yapıldı. İşlem sonunda tüpler -80°C'ye kaldırıldı.

### **3.6.2. DNaz Muamelesi**

RNA (3 µg) 1U DNaz I (Invitrogen) ile muamele edildi ve komplementer DNA (cDNA) sentezi için kullanıldı.

### **3.6.3. cDNA Sentezi**

cDNA sentezi için, High-Capacity cDNA Reverse Transcription kiti (Thermo Fisher Scientific) kullanıldı. DNaz ile muamele edilmiş olan 3 µg RNA örneğine, 10xRT tamponu, 25xdNTPmix, 10xRT random primerler, RNase inhibitör ve Multiscribe reverse transcriptase (50 U/µL)'den oluşan toplam 10 µL'lik cDNA sentez karışımı ilave edildi. Elde edilen karışım sırasıyla, 25°C'de 10 dakika, 37°C'de 120 dakika ve 85°C'de 5 dakika inkübe edildi. Elde edilen cDNA'lar PCR denemeleri için kullanılmaya kadar -20°C'de saklandı.

### **3.6.4. Real-Time PCR Reaksiyonu**

Sıçan Adiponektin, AdipoR1 ve fibronektin için spesifik primerler Tablo 3.5. kullanılarak QuantStudio 3 Real-Time PCR (Applied Biosystems) cihazında, Power SYBR® Green Master Mix protokolüne göre Real-time PCR çalışıldı. Reaksiyon karışımı; 10 µL Power SYBR® Green PCR Master Mix, 10 µM forward, 10 µM reverse primer, 2 µL cDNA ile toplam hacim 10 µL olacak şekilde nükleaz-içermeyen su ile hazırlandı.

Amplifikasyon koşulları; 95°C'de 10 dakika, 95°C'de 15 saniye ve 60°C'de 30 saniye olacak şekilde gerçekleştirildi. QuantStudio 3 Real-Time PCR (Applied Biosystems) cihazına ait software programı yardımıyla CT (siklus eşik değerleri) değerleri belirlendi. Elde edilen CT değerleri  $2^{-\Delta\Delta CT}$  formülünde kullanılarak her genin kontrol grubuna kıyasla göreceli değişim düzeyleri hesaplandı. Amplifikasyon, 40 siklusta gerçekleştirildi. Ayrıca, Melting Curve analizi ile ürünlerin beklenen ve gözlenen Tm değerleri karşılaştırılarak PCR ürünlerinin doğruluğu değerlendirildi.

**Tablo 3.5.** Real-time PCR deneyi için kullanılan oligonükleotid primerler

Adiponektin	rADIPOQf	5'-TCTCTTCACCTACGACCAGT-3'	176 bps
	rADIPOQr	5'-GGTAGAGAAGGAAGCCTGTA-3'	
AdipoR1	rADIPOR1f	5'-GGAGAAGATGGAGGAGTTTCG-3'	111 bps
	rADIPOR1r	5'-TGGCCATGTAGCAGGTAGTC-3'	
Fibronektin	rFN1f	5'-CGTCTATGCTCTCAAGGACA-3'	143 bps
	rFN1r	5'-CTGTCTTCGTTCTCCAGCTA-3'	
$\beta$ -Aktin	rBACTINf	5'-TATGCCAACACAGTGCTGTC-3'	156 bps
	rBACTINr	5'-GATAGAGCCACCAATCCACA-3'	

### 3.7. Serum Ve İdrar Adiponektin Düzeyinin Ölçülmesi

Kontrol ve deney gruplarından kan ve idrar örnekleri alınmış ve bunlarda adiponektin düzeyi ölçülmüştür. Serum adiponektin düzeyini ölçmek için ELISA yöntemine dayalı "Adiponektin ölçüm kiti" kullanılmıştır.

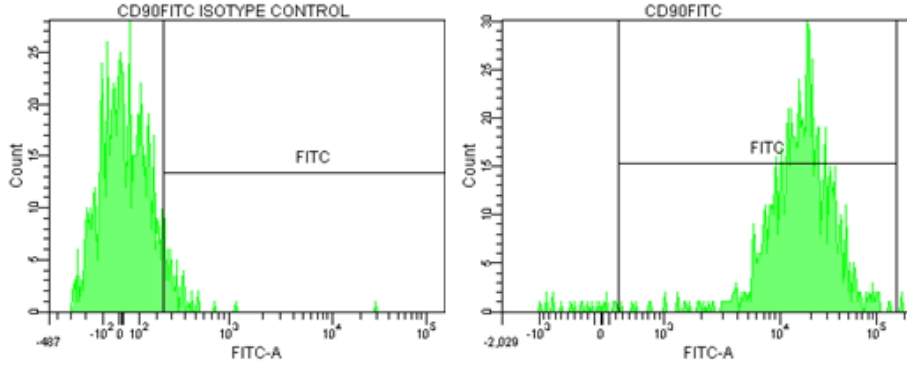
### 3.8. İstatistiksel Analizler

Tüm istatistik hesaplamalar bilgisayar ortamında GraphPad Prism programı ile gerçekleştirilmiştir (version 2.0, GraphPad Software Incorporated). Dansitometrik analizler için ImageJ (National Institutes of Health) programı kullanılmıştır.

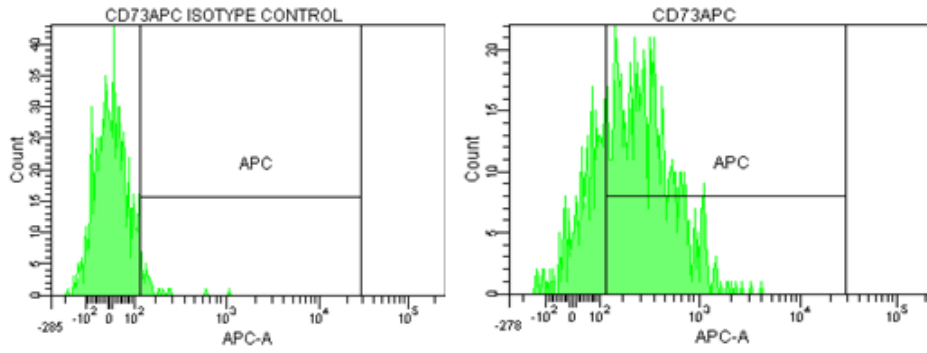
## 4. BULGULAR

### 4.1. İzole Edilen Mezenkimal Kök Hücrelerin FACS Analiz Sonuçları

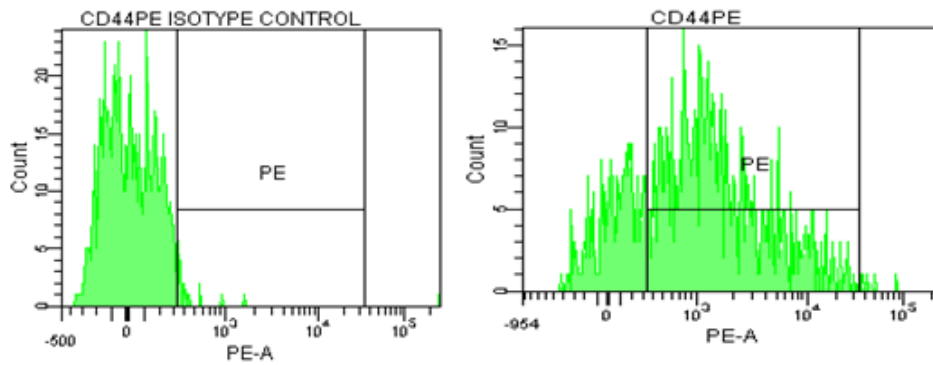
A. %98.4



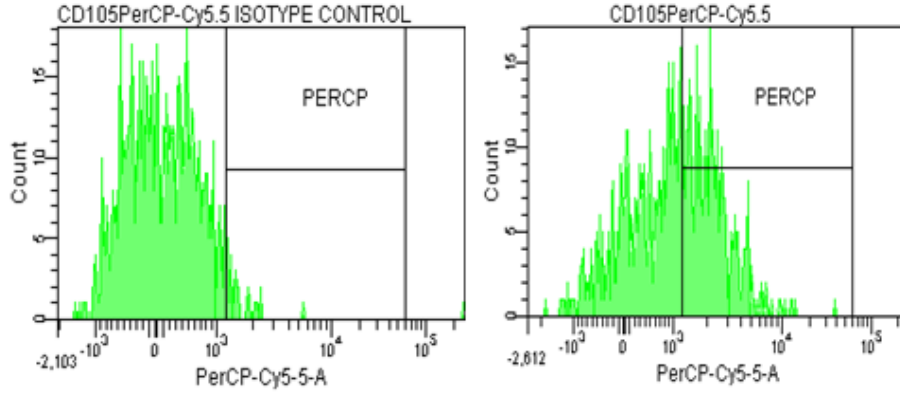
B) 87.8



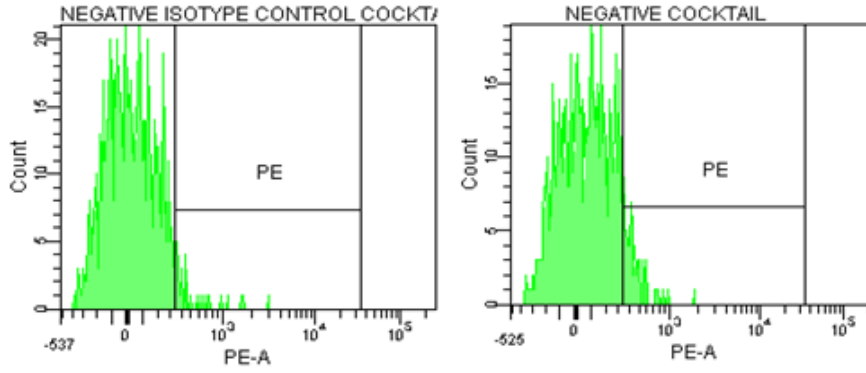
C) 82.4



D) % 85.5



E) % 1.1



Şekil 4.1. İzole edilen mezenkimal kök hücrelerin FACS analiz sonuçları

A) CD90 B) CD73 C) CD44 D) CD105 E) Negatif Kontrol için FACS analiz sonuçları.

Mezenkimal kök hücreler izole edildikten sonra, flow sitometre analizi sonuçlarına göre CD44, CD90, CD73, CD105 pozitif, hematopoetik belirteçler olan CD34, CD45, CD14, CD19 ve HLA-DR negatif bulunmuştur.

CD44, CD73, CD90 ve CD105 mezenkimal kök hücre belirteçleriyle yapılan FACS deney sonuçlarına göre pozitif hücrelerin oranları CD44 %82.4, CD73 %87.8, CD90 %98.4 ve CD105 %85.5'tir.

#### **4.2. Mezenkimal Kök Hücrelerin Yönlendirme Sonuçları**

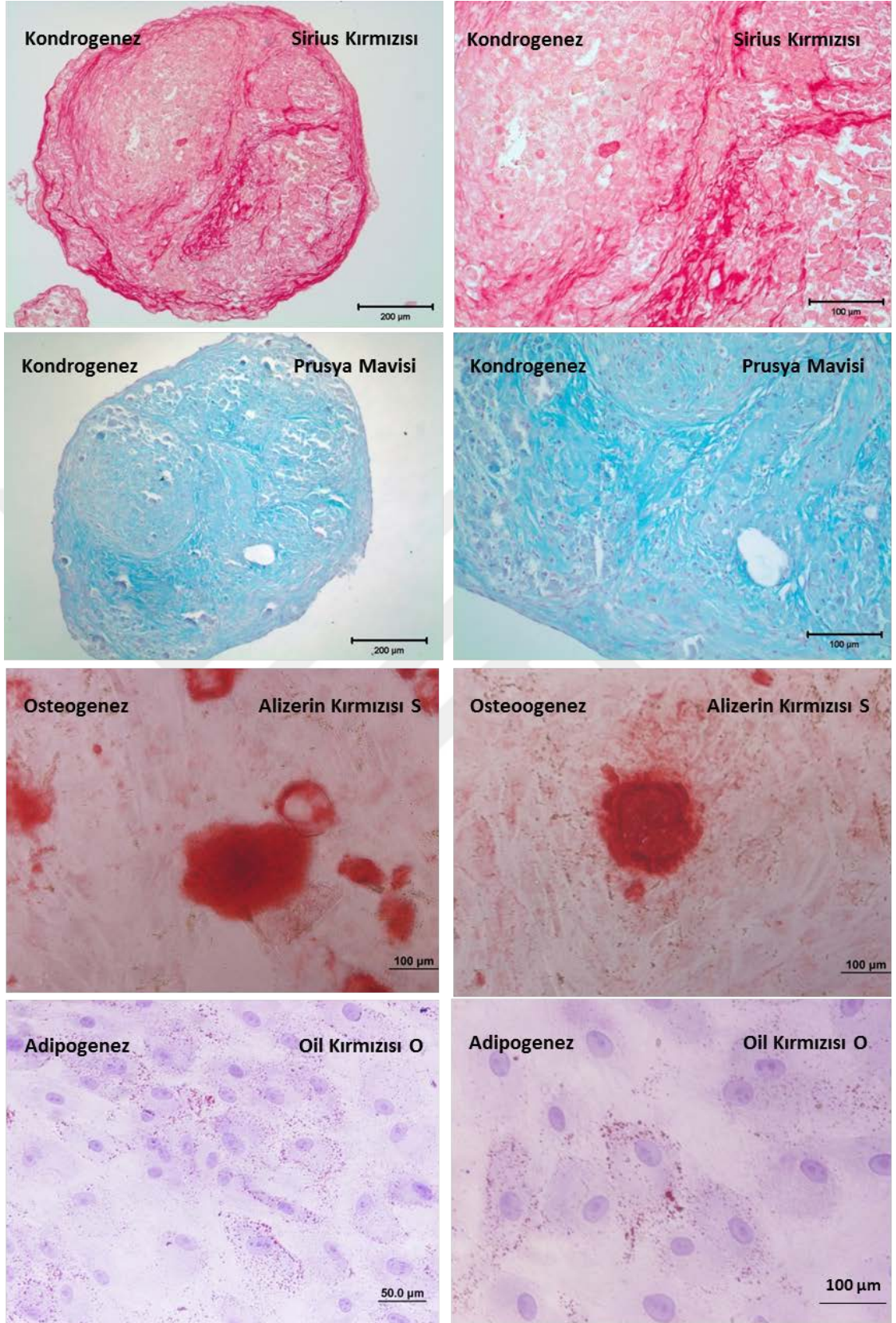
Farklılaşan mezenkimal kök hücrelerin kondrosite yönlendirme sonrası Prusya Mavisi ile boyanması sonucunda kıkırdak proteoglikanlarının boyandığının görülmesi kıkırdak yapısının oluşmaya başladığını göstermiştir. Kıkırdak kollajenlerinin boyanması için Sirius kırmızısı boyası kullanılmıştır.

Osteojenik farklılaşmayı göstermek için yönlendirilen hücrelerdeki kalsiyum depolanmalarını belirlemek için Alizarin kırmızısı S boyaması yapılmıştır.

Adipojenik farklılaşmayı göstermek için yönlendirilen yağ hücreleri için Oil Kırmızısı O boyaması yapılmıştır.





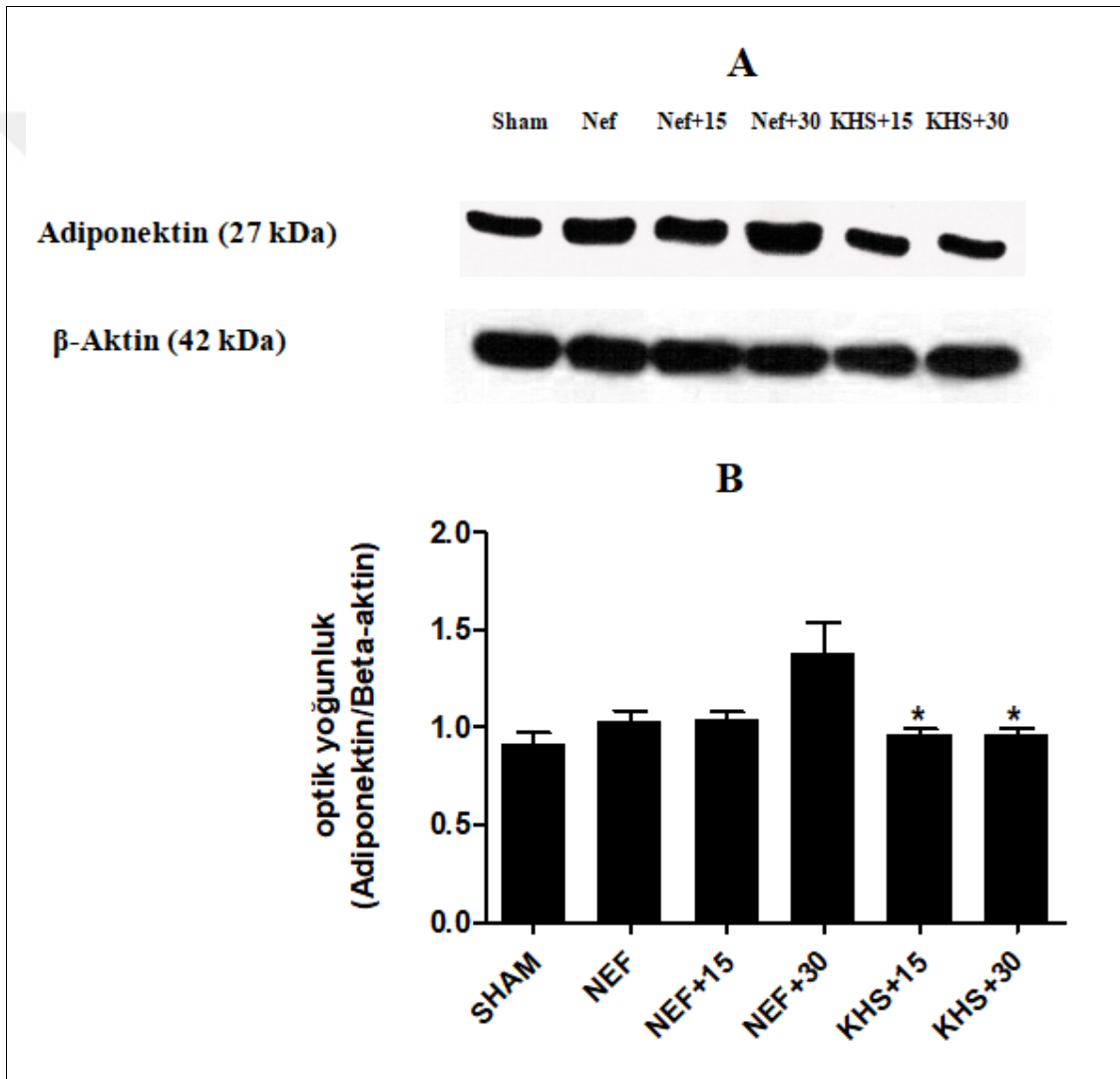


**Şekil 4.2.** İzole edilen mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma boyamaları. MKH'lerin kondrojeniz sonrası kıkırdak hücrelerine (Sirius Kırmızı S ve Prusya Mavisi boyanmaları), Osteojenez sonrası kemik hücrelerine (Alizerin Kırmızı S) farklılaşmasına ve Adipojeniz sonrası (Oil Kırmızı O) boyaları ile yağ hücrelerine farklılaşması.

### 4.3. Western Blot Bulguları

#### 4.3.1. Adiponektin Protein Ekspresyonu

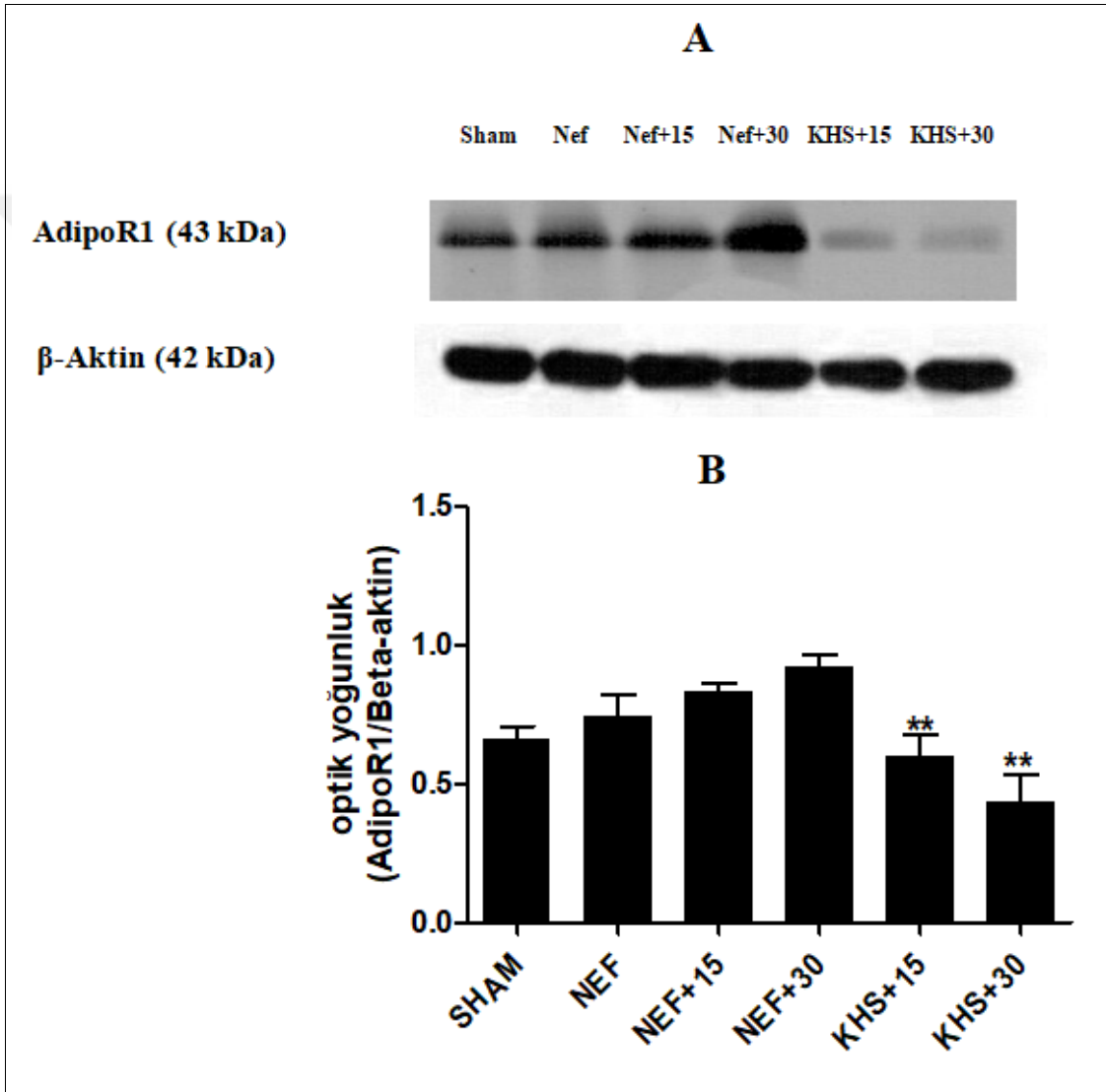
KBY oluşturulduktan sonra kök hücre verilerek 15 ve 30 gün beklenen gruplar arasında subtotal nefrektomi gerçekleştirildikten sonra 30 gün daha beklenerek ESRD'ye sahip olduğu düşünülen hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). Nefrektomi yapılan grup ile, nefrektomi yapılarak 30 gün beklenen grubun Adiponektin protein ekspresyon seviyeleri arasında ise anlamlı bir fark gözlemlenmedi (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** Adiponektin protein ekspresyonları. A) Tüm gruplara ait adiponektin ve internal kontrol olarak kullanılan  $\beta$ -Aktin proteinlerinin western blot sonucuna ait bantlar gösterilmektedir. B) Western blot sonuçlarının bantlarına ait yoğunlukların taranması ile elde edilen veriler sütun grafikleri şeklinde belirtilmiştir ( $\pm$  standart hata, \*  $p < 0,05$  n=6)

### 4.3.2. AdipoR1 Protein Ekspresyonu

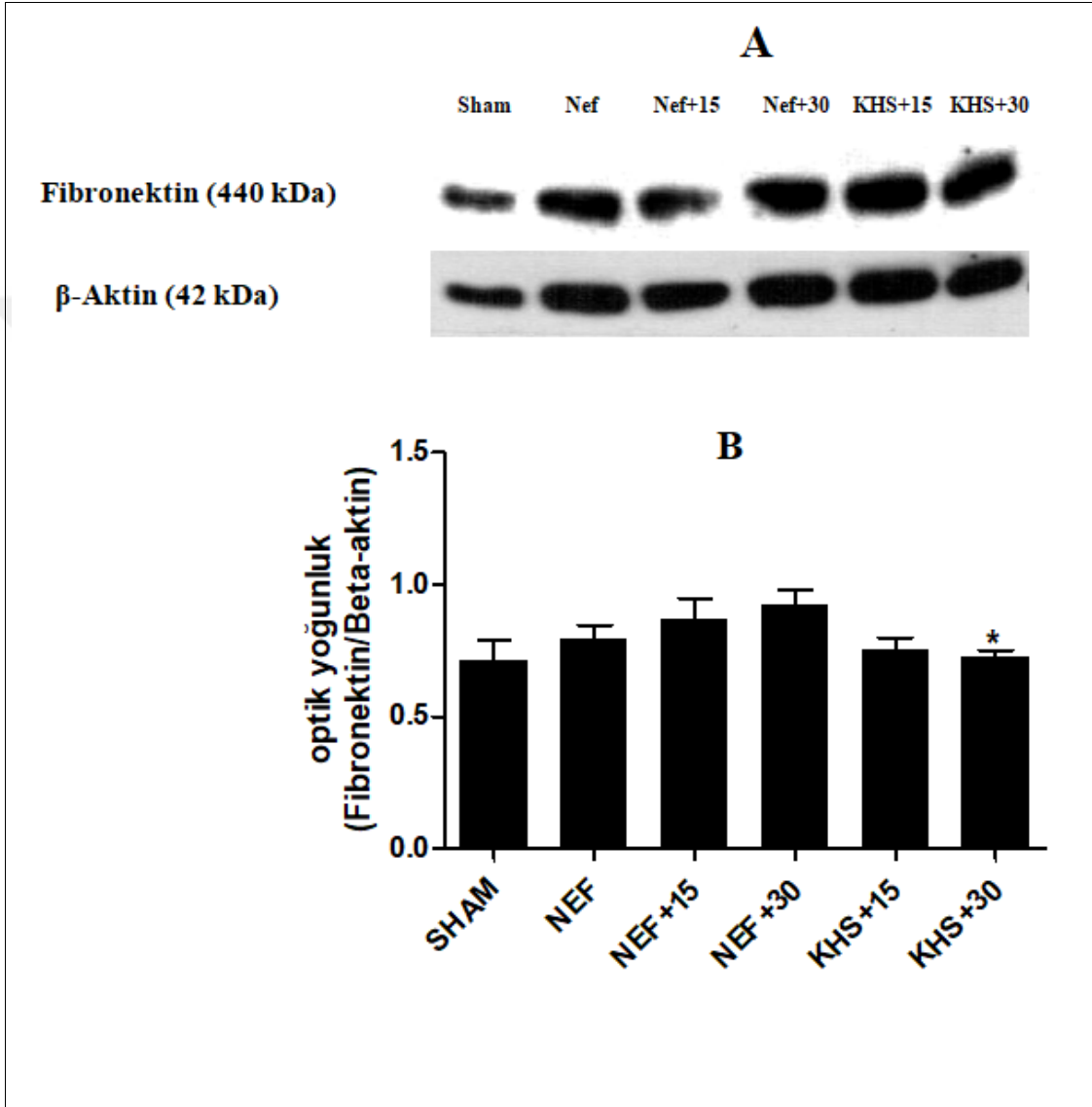
KBY oluşturulduktan sonra kök hücre verilerek 15 ve 30 gün beklenen gruplar arasında subtotal nefrektomi gerçekleştirildikten sonra 30 gün daha beklenerek ESRD'ye sahip olduğu düşünülen hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ( $p < 0,005$ ). Nefrektomi yapılan grup ile, nefrektomi yapılarak 30 gün beklenen grubun AdipoR1 protein ekspresyon seviyeleri arasında ise anlamlı bir fark gözlemlenmedi (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. AdipoR1 protein ekspresyonları. A) Tüm gruplara ait adiponektin ve internal kontrol olarak kullanılan  $\beta$ -Aktin proteinlerinin western blot sonucuna ait bantlar gösterilmektedir. B) Western blot sonuçlarının bantlarına ait yoğunlukların taranması ile elde edilen veriler sütun grafikleri şeklinde belirtilmiştir ( $\pm$  standart hata, \*\*  $p < 0,005$  ve  $n=6$ )

### 4.3.3 Fibronektin Protein Ekspresyonu

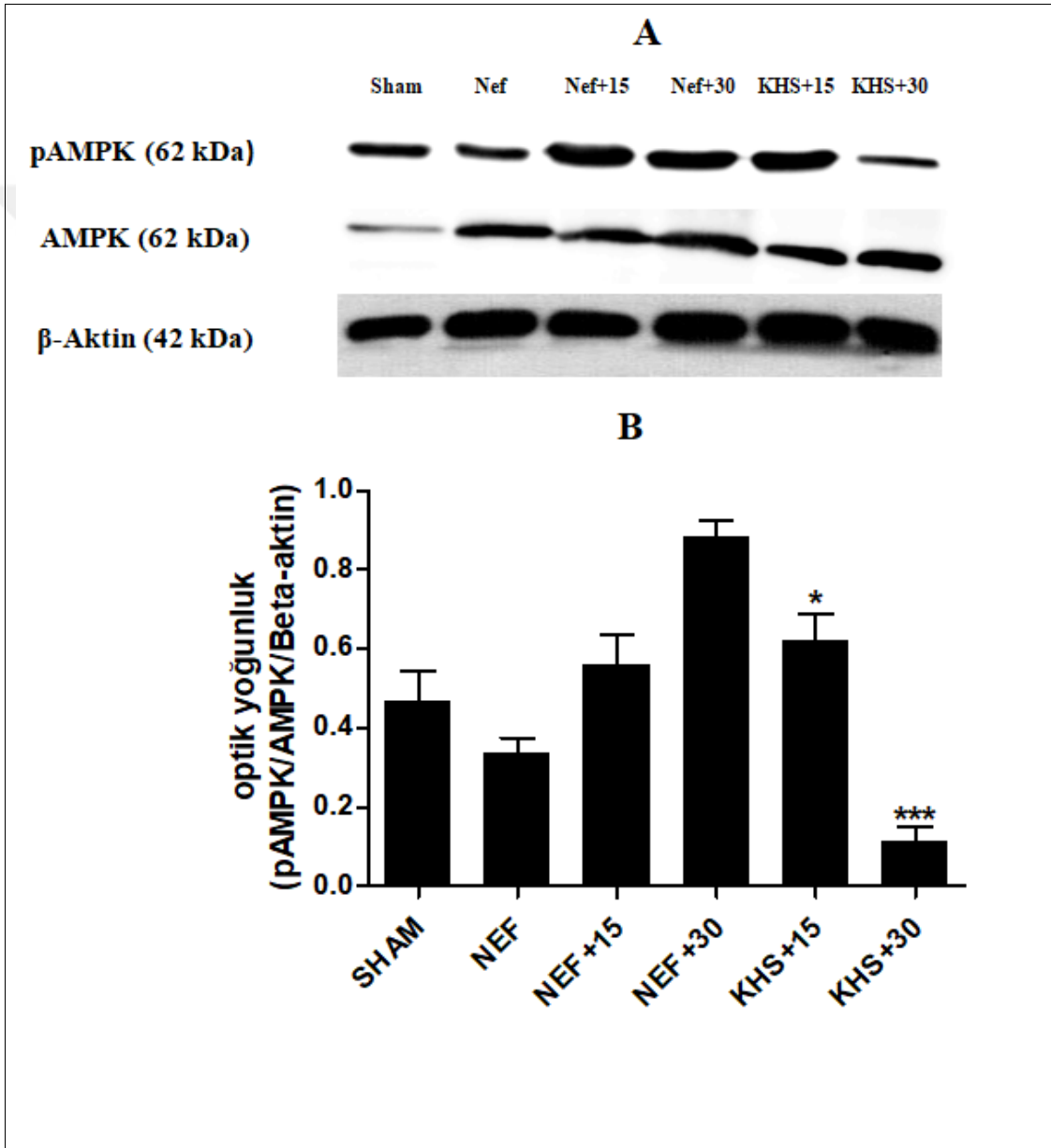
Nefrektomi yapılarak 30 gün beklenen grup ile sham grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmezken; gruplar arasında fibronektin protein ekspresyonu sadece nefrektomi yapıldıktan sonra kök hücre verilerek 30 gün beklenen grup ile Nef+30 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.5).



**Şekil 4.5.** Fibronektin protein ekspresyonları. **A)** Tüm gruplara ait fibronektin ve internal kontrol olarak kullanılan  $\beta$ -Aktin proteinlerinin western blot sonucuna ait bantlar gösterilmektedir. **B)** Western blot sonuçlarının bantlarına ait yoğunlukların taranması ile elde edilen veriler sütun grafikleri şeklinde belirtilmiştir ( $\pm$  standart hata, \*  $p < 0,05$  ve  $n=6$ )

#### 4.3.4. AMPK Fosforilasyonu

Nefrektomi yapıldıktan sonra 30 gün beklenen grup ile, nefrektomi gerçekleştirildikten sonra kök hücre verilerek 15 gün beklenen gruplar arasında ( $p<0,05$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. Aynı şekilde, nefrektomi yapılarak 30 gün beklenen grup ile; nefrektomi yapıldıktan sonra kök hücre verilerek 30 gün beklenen grup arasında ( $p<0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi (Şekil 4.6).

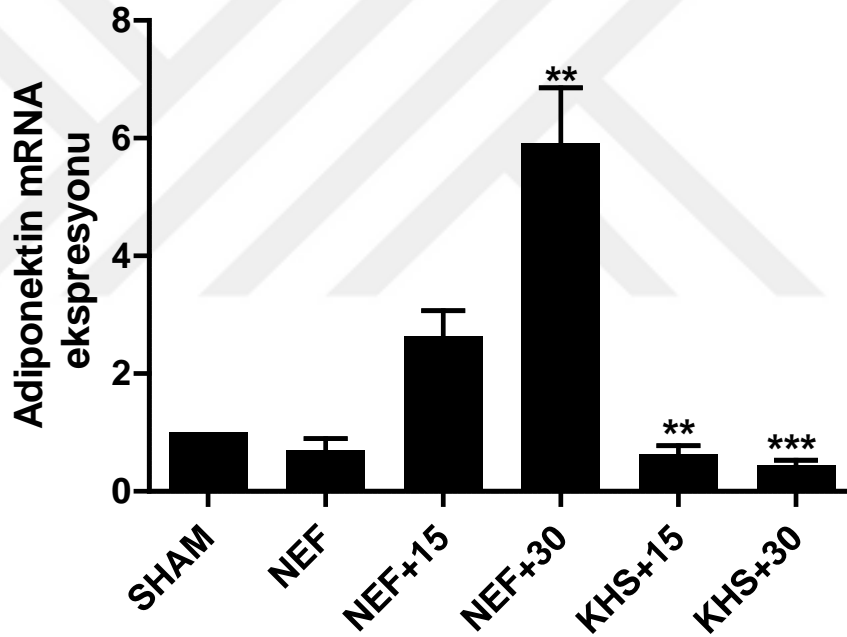


Şekil 4.6. pAMPK ve AMPK protein ekspresyonları. A) Tüm gruplara ait adiponektin ve internal kontrol olarak kullanılan  $\beta$ -Aktin proteinlerinin western blot sonucuna ait bantlar gösterilmektedir. B) Western blot sonuçlarının bantlarına ait yoğunlukların taranması ile elde edilen veriler sütun grafikleri şeklinde belirtilmiştir ( $\pm$  standart hata, \*  $p<0,05$ ; \*\*\*  $p<0,001$  ve  $n=6$ )

#### 4.4. Real-Time PCR Bulguları

##### 4.4.1. Adiponektin mRNA Ekspresyonu

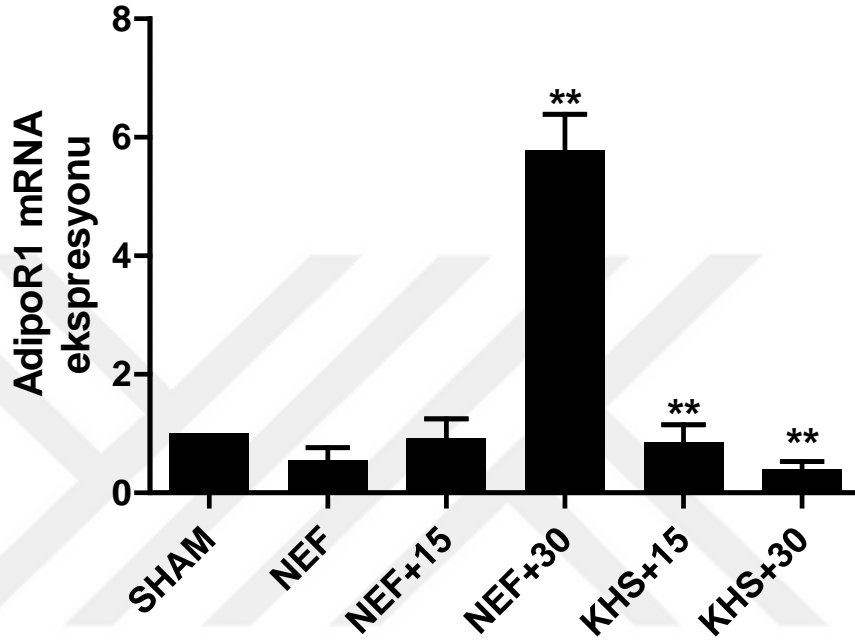
Real-time PCR bulgularına göre, adiponektinin gen düzeyinde ekspresyonunun nefrektomi oluşturulan grup ve nefrektomi oluşturulup 30 gün daha beklenen grup arasında hastalığın ilerleyişi ile paralel bir şekilde görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $p<0,005$ ) bulunmuştur. Bununla birlikte, nefrektomi oluşturulduktan sonra kök hücre verilerek 15 gün beklenen grup ile hastalığın en ilerlemiş hali olan Nef+30 grubu arasında da ( $p<0,005$ ) anlamlı bir fark görülmüştür. Gruplar arasında en belirgin azalma ( $p<0,001$ ) nefrektomi grubu ile nefrektomi sonrasında kök hücre verilerek 30 gün beklenen grup arasında belirlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Adiponektin mRNA düzeyleri. Tüm gruplara ait adiponektin ve internal kontrol olarak kullanılan  $\beta$ -Aktin genlerinin RealTime-PCR sonuçlarına ait veriler sütun grafik şeklinde belirtilmiştir ( $\pm$  standart hata, \*\*  $p<0,005$ ; \*\*\*  $p<0,001$  ve  $n=6$ ).

#### 4.4.2. AdipoR1 mRNA Ekspresyonu

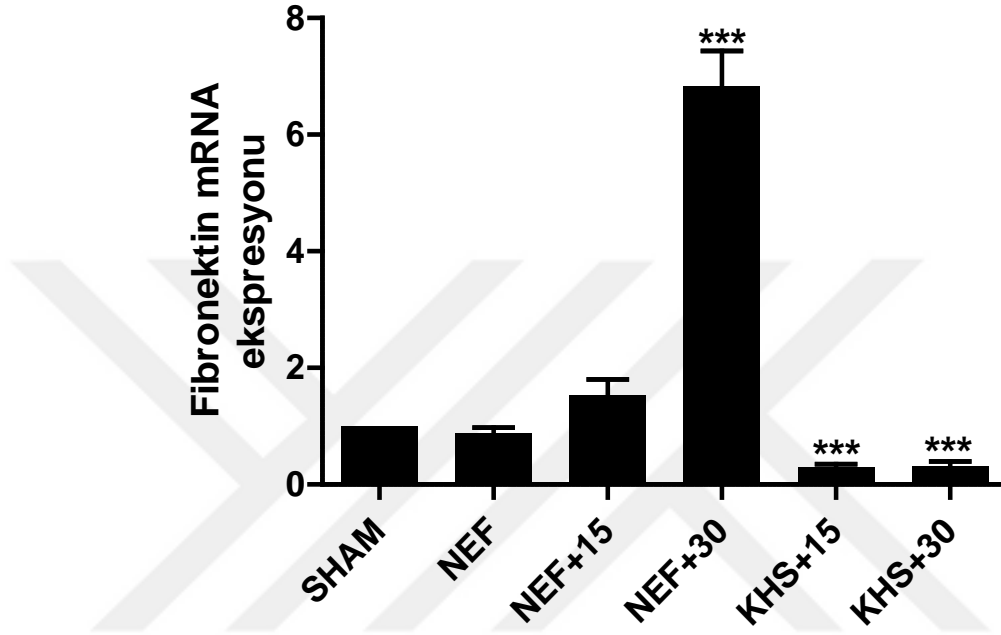
Sham grubu ile nefrektomi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Buna rağmen, nefrektomi yapılarak 30 gün beklenen grup ile, hem kök hücre sonrası 15. gün hem de kök hücre sonrası 30. gün grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,005$ ) bir azalma görülmüştür (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. AdipoR1 mRNA düzeyleri. Tüm gruplara ait adiponektin ve internal kontrol olarak kullanılan  $\beta$ -Aktin genlerinin RT-PCR sonuçlarına ait veriler sütun grafik şeklinde belirtilmiştir ( $\pm$  standart hata, \*\*  $p<0,005$  ve  $n=6$ ).

#### 4.4.3. Fibronektin mRNA Ekspresyonu

Sham grubu ile nefrektomi yapılmış her üç grup arasında anlamlı bir fark gözlenmezken; nefrektomi yapılarak 30 gün beklenen grup ile, hem kök hücre sonrası 15. gün hem de kök hücre sonrası 30. gün grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,001$ ) bir azalma görülmüştür (Şekil 4.9).



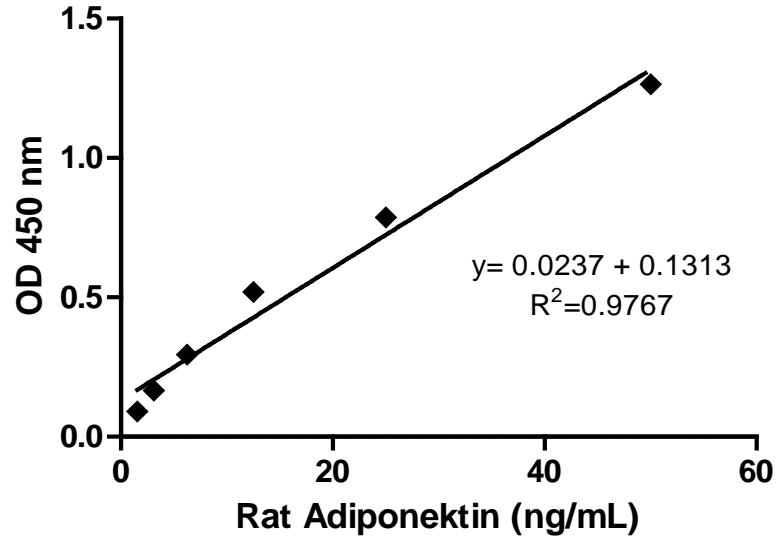
Şekil 4.9. Fibronektin mRNA düzeyleri. Tüm gruplara ait adiponektin ve internal kontrol olarak kullanılan  $\beta$ -Aktin genlerinin RT-PCR sonuçlarına ait veriler sütun grafik şeklinde belirtilmiştir ( $\pm$  standart hata, \*\*\*  $p<0,001$  ve  $n=6$ ).

#### 4.5. ELİSA Bulguları

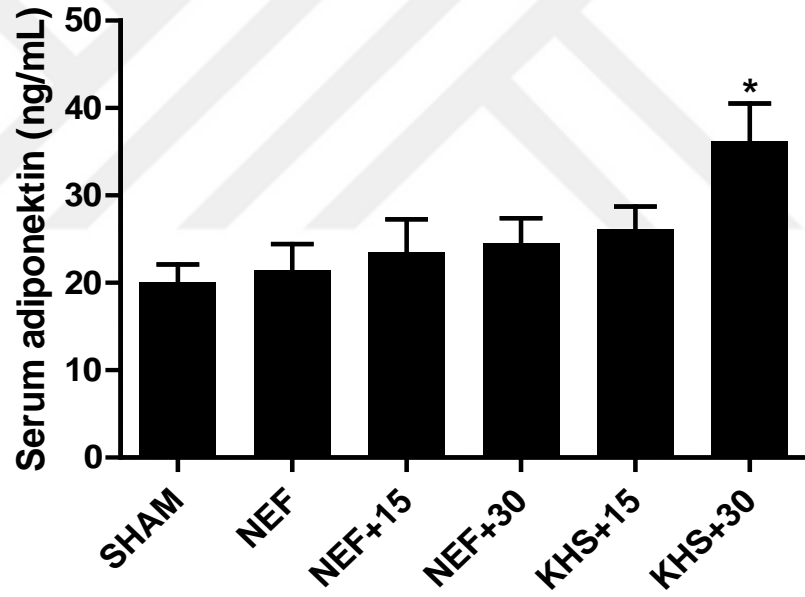
##### 4.5.1. Serum ve İdrar Adiponektin Düzeylerinin Ölçülmesi

ELİSA bulgularına göre standart grafikten yararlanarak (Şekil 4.10) idrar ve serumda adiponektin konsantrasyon ölçümleri gerçekleştirildi. Serum adiponektin konsantrasyonlarında sham grubu ile nefrektomi yapılan her 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Bununla birlikte, kök hücre verildikten sonra 30 gün beklenen grup ile Nef+30 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur (Şekil 4.11).



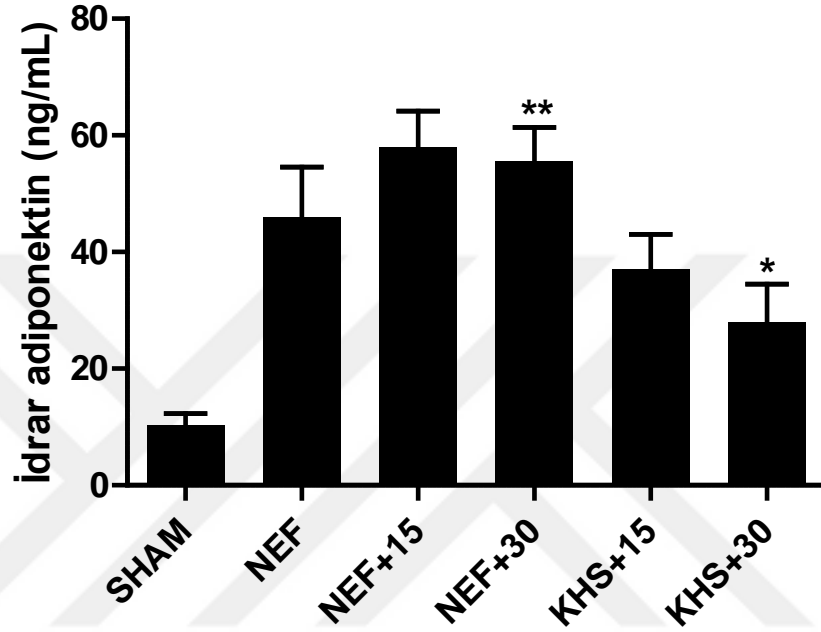


Şekil 4.10. Sıçan adiponektini standart grafiği



Şekil 4.11. Serum Adiponektin (ng/mL) düzeyleri ( $\pm$  standart hata, \*  $p < 0,05$  ve  $n=6$ )

Sıçana özgü ELİSA kit ile gerçekleştirilen adiponektin idrar konsantrasyon ölçümlerinde ise Sham grubu ile Nefrektomi+30. gün grubu arasında anlamlı bir fark ( $p<0,005$ ) gözlemlendi. Benzer şekilde Nefrektomi+30. gün grubu ile kök hücre verildikten sonra 30 gün beklenen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ( $p<0,05$ ) gözlemlendi (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. İdrar Adiponektin (ng/mL) düzeyleri ( $\pm$  standart hata, \*  $p<0,05$  \*\*  $p<0,005$  ve  $n=6$ )

## 5. TARTIŞMA

Kronik böbrek yetmezliği, "glomerüler filtrasyon değerinde azalma sonucu böbreğin metabolik fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma hali" olarak tanımlanan ve son verilere göre dünya popülasyonunun %8-16'sını etkileyen global bir epidemidir (Eirin ve ark., 2014). Böbrek, hasar durumlarında kendini yenileyebilme özelliğine sahiptir; fakat bu rejeneratif potansiyel, kronik koşullar altında sınırlıdır; ilerleyici glomerülosklerozis ve tübülointerstisyel fibrozisi önlemek için etkili değildir. Kronik, glomerüler ve tübülointerstisyel fibrozis, son evre böbrek yetmezliğinin en yaygın sebebidir ve hastalığın ilerleyişinin bireylerin yaşam kalitesinin azalmasında büyük bir etkisi vardır (Wyld ve ark., 2012). Bu nedenle, böbrek yetmezliğinin ilerlemesini önlemek veya yavaşlatmak için terapötik müdahaleler geliştirmek zorunludur. Güncel tedaviler, renal hastalığın progresyonunun altında yatan ana sebepleri hedef almak adına çok başarılı değildir. Yardımcı hücrel rejenerasyon tedavi stratejileri, KBY hastaları için iyi alternatifler sunmaktadır.

İlk olarak Friedenstein tarafından kemik iliğinden fibroblastik hücre izolasyonu ile kemik ve osteositlere dönüşebilme potansiyeline sahip hücreler olarak (Mundra ve ark., 2012) tanımlanan "mezenkimal kök hücreler" multiliner diferansiyasyon kapasitesine göre ilk başlarda tedavi için düşünülse de, antiapoptotik, proanjiyojenik ve skarlaşma ile enflamasyonu azaltma potansiyeline sahip olan sitokinleri ve büyüme faktörlerini salgılaya yetenekleri, MKH'leri daha geniş bir klinik uygulama yelpazesi için uygun kılmıştır (Burchfield ve Dimmeler 2008).

Plasental doku tıbbi atık olarak kolayca elde edilebilir. Plasentadan türetilen MKH'ler, bu tıbbi atıktan, adipoz doku toplanması gibi invaziv prosedürlerden arındırılmış olarak temin edilebilmektedir ve embriyonik kök hücrelerden farklı olarak kullanımını çevreleyen hiçbir etik zorluk yoktur. Birkaç klinik çalışma, renal hastalık için MKH'lerin güvenilirliğini ve etkinliğini test etmiştir. Elde edilen deneysel kanıtlar, MKH'lerin hücrel onarıma katkıda bulunduğunu ve KBY'de böbrek hasarını iyileştirdiğini doğrulamaktadır.

Son yıllarda, deneysel çalışmalar MKH'lerin çeşitli KBY modellerinde böbrek fonksiyonlarını iyileştirme potansiyelini ortaya çıkarmıştır. Son birkaç yıldır, MKH'ler diyabet, hipertansiyon ve kronik nefropati gibi KBY deney modellerinde

başarıyla uygulanmıştır. KBY'nin izlenmesi ve KBY'ye MKH ile diğer tedavilerin progresyonunun analizi için özelleşmiş biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. Uygun biyobelirteçlerin hastalık esnasında süregelen değişikliklerin değerlendirilmesi için minimum biyolojik değişkenliğe sahip olması gerekmektedir. İyi bir biyobelirtecin böbrek hastalığı için yüksek duyarlılığa sahip olması, böbrek biyopsisi ve hastalık progresyonunun histopatolojik sonuçları ile ilişkili olması, böbrek yetmezliği hastalığının ve prognozunun erken evrelerinin tanımlanmasını mümkün kılması (Mok 2010) ve yaş, beslenme durumu gibi faktörlerden etkilenmemesi gerektiği ortaya koyulmuştur. Miyamoto ve Sharma (2013) yaptıkları bir çalışmada KBY'de çeşitli adipositokinlerin endotelial disfonksiyon, oksidatif stres, inflamasyon, ateroskleroz, böbrek aktivitesi veya kan basıncını düzenleme gibi terapötik etkilerini ortaya koymuşlardır (Miyamoto ve Sharma, 2013). Adiponektin, böbrek hasarı ile ilişkili olarak en göze çarpan adipositokindir. Adiponektinin böbrek hastalığının gelişiminde rolü, adiponektin genini baskılayan farklı fare modelleri ile yapılan birkaç bağımsız çalışma tarafından desteklenmiştir.

Çalışmamızda ilk olarak term plasentaların amniyon membranından izole edilen mezenkimal kök hücrelerin flow sitometre ile karakterizasyonu yapıldıktan sonra bu hücrelerin adiposit, kondrosit ve osteositlere yönlendirilmesi sağlandı. Subtotal nefrektomi gerçekleştirilen bazı gruplara kök hücre enjeksiyonu uygulandı. Tüm gruplarda Adiponektin, AdipoR1, Fibronektin ve Adiponektin sinyalizasyonu ile ilişkili olarak AMPK fosforilasyonunun protein düzeyleri Western Blot yöntemi ile incelendi. Analiz sonuçlarına göre kontrol gruplarına kıyasla nefrektomi yapılan gruplarda Adiponektin ve AdipoR1 protein düzeylerindeki sham gruplarına kıyasla bir artış gözlemlendi; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Kök hücre enjeksiyonundan sonra nefrektomi+30. gün grubunda Adiponektin'in ( $p<0,05$ ) ve AdipoR1'in ( $p<0,005$ ) protein seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma belirlenmiştir. Yapılan bazı çalışmalarla böbrek hasarı gittikçe daha şiddetli hale geldiğinde, Adiponektin'in proteinin seviyelerinin de arttığı belirlenmiştir. Adiponektin protein seviyesindeki zamana bağlı artış, reseptörlerinin ifadesinde de benzer bir artış ile koreledir. Adiponektin knockout farelerde, subtotal renal ablasyon modelinde albüminüri ve renal fibrozis önemli derecede artar (Sharma 2009). Bundan dolayı adiponektin, inflamasyon ve oksidatif stresi azaltmasının yanı sıra, podositler üzerindeki etkisi aracılığıyla albüminüriyi azaltarak koruyucu bir rol

oynuyor gibi görünmektedir (Wolf ve Ruster 2013). Yine yapılan bir başka çalışmada KBY grubunda böbrek dokularında AdipoR1 ve AdipoR2 ifadelerinin zamanla arttığı ortaya koyulmuştur (Yu ve ark., 2014). Bizim sonuçlarımız da bu verileri destekler niteliktedir.

Adiponektin ve AdipoR1 mRNA ekspresyonları Real-Time PCR yöntemi ile değerlendirilmiştir. Buna göre sham gruplarına kıyasla nefrektomi+30 gün gruplarında gen ekspresyonu artışı ( $p<0,005$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Daha sonra kök hücre verilerek 15 gün beklenen gruplarda nefrektomi+ 30. gün grubuna kıyasla gen ekspresyonundaki azalma ( $p<0,005$ ) anlamlı iken; kök hücre verildikten sonra 30 gün beklenen grup ile nefrektomi+30. gün grubu kıyaslandığında da Adiponektin ( $p<0,001$ ) ve AdipoR1 ( $p<0,005$ ) ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. Real-Time PCR bulgularımız western blot bulgularımız ile uyumludur.

Çalışmamızda ayrıca gruplar arasında AMPK fosforilasyonunun protein düzeyi açısından bir değerlendirme, western blot yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Adiponektin, öncelikle AMPK'yı uyarmak suretiyle podositler üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir. AMPK, tüm ökaryotik hücrelerde ana enerji sensörü olarak kabul edilen heterotrimerik bir enzimdir (Steinberg ve Kemp 2009). AMPK, ATP'nin tükenmesine veya hücre içi AMP seviyelerini düzenlemeye yanıt olarak aktive edilen, stresle aktive olan bir kinazdır ve adiponektinin etkilerinde merkezi bir rol oynar. Bu bilgiler ışığında AMPK fosforilasyonun da kontrol grubuna kıyasla nefrektomi+30 gün grubunda arttığı görülmüştür. Kök hücre tedavisi sonrasında nefrektomi+30 gün grubuna kıyasla kök hücre sonrası 15. gün grubunda protein düzeyinde anlamlı bir azalış ( $p<0,05$ ) görülmüştür. Bununla birlikte kök hücre enjeksiyonu sonrasında nefrektomi+30. gün grubuna kıyasla kök hücre sonrası 30. gün grubunda da AMPK fosforilasyonunda anlamlı bir azalma ( $p<0,001$ ) görülmüştür.

Hayvan deneylerinin yanısıra insanlar üzerinde yapılan bir çalışmada (Maria ve ark., 2014) da bizim bulgularımıza benzer sonuçlar elde edilmiştir. AdipoR1 seviyeleri şiddetli fibrozise sahip gruplarda sham gruplarına kıyasla yüksek bulunmuştur. Yine aynı şekilde AMPK fosforilasyonunun da kontrol gruplarına kıyasla ESRD grubunda arttığı belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları bizim verilerimizle tutarlıdır. Tüm bu

veriler adiponektinin, AMPK'yi uyararak ve reaktif oksijen türlerini inhibe ederek bir AdipoR1 reseptör yolağı yoluyla albüminüriye karşı koruduğunu göstermektedir.

Fibrozis, dokuların hasarlara ve tekrarlayan yaralanmalara karşı genellikle düzensiz hale gelmesi ile sonuçlanır. Fibrozisin ağırlaşmasının, başta Fibronektin olmak üzere bazı kollajen matris proteinlerinin artışına neden olduğu bilinmektedir. Bulgularımıza göre renal hasarın arttığı gruplarda Fibronektin seviyelerinin arttığı görülmüştür. Kök hücre ile tedaviden sonra ise kök hücre+30. gün grubundaki protein düzeyindeki azalmanın nefrektomi+30. gün grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. Adiponektinin renal koruyucu etkileri için yapılan bir başka çalışmada, adiponektinin proteüriyi ve fibrozisi inhibe ettiği 5/6 nefrektomi modeli kullanılarak gösterilmiştir. Fibronektin seviyelerinin mRNA düzeyinde ölçümleri için tüm gruplarda Real-Time PCR metodu gerçekleştirilmiştir. Buna göre kontrol grubuna kıyasla nefrektomi+30. gün grubunda gen düzeyindeki ekspresyon artışı ( $p<0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kök hücre verildikten sonra 15 ve 30 gün beklenen gruplardaki azalış nefrektomi+30. gün grubuna kıyasla yine ( $p<0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlıdır. Gruplarda belirlenen mRNA seviyesindeki değişiklikler ile protein düzeyindeki sonuçlarımız birbirini destekler niteliktedir.

Çalışmamızda adiponektin düzeylerinin böbrek fonksiyonu ile olan ilişkisi bilindiğinden adiponektinin idrar ve serum düzeyleri sıçana özgü ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Kök hücre verilen gruplarda nefrektomi+30. gün gruplarına kıyasla serum adiponektin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artma gözlenirken, idrar adiponektin düzeylerinde ise anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Bazı çalışmalar ile böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda plazmadaki adiponektin seviyesinin belirgin bir şekilde azaldığı ortaya koyulması bizim çalışmalarımız ile uyumludur (Cantarin ve ark., 2014). Mills ve ark., (2013) daha yüksek adiponektin düzeyine sahip erişkin 201 hasta ile yaptıkları çalışmada, bu bireylerin kronik böbrek hasarına sahip olma olasılığının kontrol gruplarına göre daha fazla olduğunu bulmuştur. Adiponektinin ayrıca, kemirgenlerle yapılan bir çalışmada, albüminüri inhibisyonu ile ilişkili olarak renoprotektif etkiler uyguladığı ortaya koyulmuştur (Nakamaki ve ark., 2011). Araştırmacılar, KBH olan çocuklarda düşük adiponektin düzeyindeki gözlemlerinin, bu adipositokinin koruyucu etkisinin

kaybolmasından dolayı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da bu makalelerle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, adiponektinin renal hasarlı dokuda fibrozis artış hızı ile korele bir şekilde gen ve protein düzeyindeki seviyelerinin ve atılımdaki miktarının arttığı, plazma seviyelerinin ise azaldığı ortaya koyulmuştur. Western blot çalışmaları ile tespit edilen protein düzeyindeki değişiklikler Real-Time PCR bulguları ile elde edilen mRNA ekspresyonu sonuçları ile uyumludur. Ayrıca daha önce yapılan çalışmalar ile ortaya koyulmuş olan serum ve idrar konsantrasyonlarının renal hasardaki rolü, yaptığımız ölçümlerde gruplar arasında bulunan anlamlı farklılıkları destekler niteliktedir. Adiponektinin fibroziste koruyucu bir rolü olduğunu ve renal hastalık progresyonunun analizinde önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ve ayrıca mezenkimal kök hücrelerin kronik böbrek yetmezliği ilerleyişi üzerinde terapötik etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda sham, nefrektomi, nefrektomi+15 gün, nefrektomi+30 gün, kök hücre sonrası 15. gün ve kök hücre sonrası 30. gün gruplarında adiponektin, adiponektin reseptör 1, sinyalizasyon molekülü AMPK ve fibroziste önemli bir protein olan fibronektinin gen ve protein ekspresyonlarındaki değişiklikler incelenmiştir. Ayrıca idrar ve serumdaki adiponektin ölçülmüştür. Buna göre aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Adiponektin, 26 kDa ağırlığında, AMPK ile aktive edilmiş yolaklar aracılığıyla renal koruyucu etkilere sahip olan bir adipokindir.
2. Tüm gruplar için adiponektin, adiponektin reseptör 1, fibronektin ve AMPK fosforilasyonu Western blot yöntemi ile incelendiğinde, kontrol gruplarına kıyasla nefrektomi gruplarındaki bir artış ortaya konmuştur. Ayrıca kök hücre verildikten sonra nefrektomi gruplarına kıyasla protein seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı olarak belirlenen azalma, renal hasara karşı MKH'lerin terapötik etkilerinden kaynaklanıyor olabilir.
3. Tüm gruplar için adiponektin, adiponektin reseptör 1 ve fibronektin seviyelerinin mRNA ekspresyonlarındaki değişim incelendiğinde, her 3 gen için de nefrektomi +30. gün gruplarında sham gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, kök hücre uygulamasından sonra bu artışın azaldığı görülmüştür. Bu da mezenkimal kök hücre uygulanmasının protein düzeyinde olduğu gibi gen düzeyinde de bir iyileşmeye neden olması ve MKH'lerin renal hasar üzerindeki terapötik etkilerinden kaynaklandığını düşündürmektedir.
4. Dolaşımdaki ve atılımdaki adiponektin seviyeleri adiponektinin biyobelirteç olarak kullanılmasına olanak sağlamak adına incelenmiştir. Renal hasarın şiddeti ilerledikçe dolaşımdaki adiponektin seviyelerinde meydana gelen değişiklik istatistiksel olarak anlamlı değilken; kök hücre+30. gün grubundaki adiponektin seviyesi nefrektomi+30. gün seviyesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı bulunmuştur. Fibrozis şiddeti arttıkça idrardaki adiponektin seviyelerinin giderek arttığı; kök hücre enjeksiyonundan sonra ise anlamlı bir şekilde azaldığı bulunmuştur. Adiponektinin renal koruyucu etkileri, muhtemelen renal atılımdaki artış ile ilişkilidir.



Sonuç olarak, adiponektinin renoprotektif rolü neredeyse sadece insansız deneylere dayanmaktadır ve konu ile ilgili derinlemesine araştırmalar için hem insan hem hayvan kaynaklı deneylerin artışına ihtiyaç vardır. Şimdiye kadar ortaya koyulmuş olan adiponektinin renal biyodegradasyon ve salgılanma yollarının incelenmesi ve renal fizyoloji ile ilgili olarak adiponektinin rolünün anlaşılması için ek çalışmalar gerekmektedir. Elde edilen bulguların, adiponektinin renal hasarda bir biyobelirteç olarak kullanılması çalışmalarına yeni bir katkı yapacağı düşünölmektedir.



## KAYNAKLAR

Abbate M., Zoja C. ve Remuzzi G. How does proteinuria cause progressive renal damage? *Journal of the American Society of Nephrology* 2006 vol.. 17 no. 11 p. 2974–2984

Abdel Aziz M. T., Wassef M. A., Ahmed H. H., Rashed L., Mahfouz S., Aly M.I., Hussein R. E. ve Abdelaziz M. The role of bone marrow derived-mesenchymal stem cells in attenuation of kidney function in rats with diabetic nephropathy. *Diabetol Metab Syndr.* 2014 6:34

Abomaray, F. M., Al Jumah M. A., Alsaad K. O., Jawdat D., Al Khaldi A., AlAskar A. S., Al Harthy S., Al Subayyil A. M., Khatlani T., Alawad A. O., Alkushi A., Kalionis B. ve Abumaree M. H. Phenotypic and Functional Characterization of Mesenchymal Stem/Multipotent Stromal Cells from Decidua Basalis of Human Term Placenta. *Stem cells international* 2016

Abumaree, M. H., Abomaray F. M., Alshehri N. A., Almutairi A., AlAskar A.S., Kalionis B. ve Al Jumah M. A. Phenotypic and Functional Characterization of Mesenchymal Stem/Multipotent Stromal Cells From Decidua Parietalis of Human Term Placenta. *Reproductive sciences* 2016 23, 1193–1207

Alam A., Molnar M. Z., Czira M. E., Rudas A., Ujszaszi A., Kalantar-Zadeh K., Rosivall L. ve Mucsi I. Serum Adiponectin Levels and Mortality after Kidney Transplantation. *CJASN* 2013 8: 460–467

Anderson D. J., Gage F. H. ve Weismann I. L. Can stem cells cross lineageboundaries? *Nat Med* 2001 7:393-395

Arık N., Ateş K., Süleymanlar G., Tonbul H. Z. ve Türk S. Hekimler için hemodiyaliz kaynak kitabı. 2009 Ankara Güneş Tıp Kitabevi. 24-49

Aroda V., Ciaraldi T. P., Chang S. A., Dahan M. H., Chang R. J. ve Henry R. R. Circulating and cellular adiponectin in polycystic ovary syndrome: relationship to glucose tolerance and insulin action. *Fertil Steril* 2008 89: 1200-1208

Asada N., Takase M., Nakamura J., Oguchi A., Asada M., Suzuki N., Yamamura K. I., Nagoshi N., Shibata S., Rao T. N., Fehling H. J., Fukatsu A., Minegishi N., Kita T., Kimura T., Okano H., Yamamoto M. ve Yanagita M. Dysfunction of fibroblasts of extrarenal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice. *J Clin Invest* 2011 121: 3981–3990

Asgari, H. R., Mohammad A., Hossein Y., Zahra R., Shadan N., Fereshte A., Niloufar A., Sargolzaei A. F., Alireza S. ve Mehdi A. Comparison of Human Amniotic, Chorionic, and Umbilical Cord Multipotent Mesenchymal Stem Cells Regarding Their Capacity for Differentiation Toward Female Germ Cells. *Cellular reprogramming* 2017 19, 44–53

Bajada S., Mazakova I., Richardson J. B. ve Ashammakhi N. Updates on stem cells and their application in regenerative medicine. *J Tissue Eng Regen Med.* 2008 2(4):169–83

Barlovic D. P., Zaletel J. ve Prezelj J.. Association between adiponectin and low-grade albuminuria is BMI-dependent in type 2 diabetes. *Kidney Blood Press Res.* 2010 33:405–10

Bateman A. The structure of a domain in common to archae bacteria and the homocystinuria disease protein. *Trends Biochem. Sci.* 1997 22 12-13

Benigni A., Morigi M. ve Remuzzi G. Kidney regeneration. *Lancet* 2010 375: 1310–1317

Ben-Dov I. Z., Muthukumar T., Morozov P., Mueller F. B., Tuschl T. ve Suthanthiran M. MicroRNA sequence profiles of human kidney allografts with or without tubulointerstitial fibrosis. *Transplantation* 2012 94: 1086–1094

Berg A. H., Combs T. P. ve Scherer P. E. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2002 13: 84-89

Bobbert T., Rochlitz H., Wegewitz U., Akpulat S., Mai K., Weickert M. O, Möhlig M., Pfeiffer A. F. H. ve Spranger J. Changes of adiponectin oligomer composition by moderate weight reduction. 2005 *Diabetes* 54: 2712-2719

Bruun J. M., Lihn A. S., Verdich C., Pedersen S. B., Toubro S., Astrup A. ve Richelsen B. Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003 285: E527–E533

Burchfield J. S. ve Dimmeler S. Role of paracrine factors in stem and progenitor cell mediated cardiac repair and tissue fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2008 1(1):1–1

Calice-Silva V., Vieira M.A., Raimann J.G., Carter M., Callegari J., Levin N.W., Kotanko P. ve Pecoits-Filho R. Saliva urea nitrogen dipstick - A novel bedside diagnostic tool for acute kidney injury. *Clin. Nephrol* 2014 82 358–366

Can A. Kök Hücre Biyolojisi, Türleri ve Tedavide Kullanımları 2014 s. 41

Cantarin M. P. M., Keith S. W., Waldman S. A. ve Falkner B. Adiponectin receptor and adiponectin signaling in human tissue among patients with end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2014 29: 2268–2277

Caplan A. I. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *J. Pathol.* 2009 217:318–324

Carling D. The AMP-activated protein kinase cascade: a unifying system for energy control. *Trends Biochem. Sci.* 2004 29,18–24

Castrechini, N. M., Murthi P., Qin S., Kusuma G. D., Wilton L., Abumaree M., Gronthos S., Zannettino A., Gude N. M., Brennecke S. P. ve Kalionis B. Decidua parietalis-derived mesenchymal stromal cells reside in a vascular niche within the choriondecidua. *Reproductive sciences* 2012 19, 1302–1314

Chapman, A. R., Frankel M. S. ve Garfinkel M. S. Stem cell research and applications: Monitoring the frontiers of biomedical research. *Am. Assoc. Adv. Sci. Inst. Civil. Soc* 1999 34: p. 405–416

Chen G, Yue A., Ruan Z., Yin Y., Wang R., Ren Y. ve Zhu L. Comparison of biological characteristics of mesenchymal stem cells derived from maternal-origin placenta and Wharton's jelly. *Stem cell research & therapy* 2015 6, 228

Choi S., Park M., Kim J., Hwang S., Park S. ve Lee Y. The role of mesenchymal stem cells in the functional improvement of chronic renal failure. *Stem Cells Dev.* 2009 18: 521-529

Christensen E. I., Birn H., Storm T., Weyer K. ve Nielsen R. Endocytic receptors in the renal proximal tubule. *Physiology (Bethesda)* 2012 27: 223–236

Christou G. A. ve Kiortsis D. N. The role of adiponectin in renal physiology and development of albuminuria. *J Endocrinol.* 2014 221:R49–61

Collins A. J., Foley R. N., Chavers B., Gilbertson D., Herzog C., Johansen K., Kasiske B., Kutner N., Liu J., St Peter W., Guo H., Gustafson S., Heubner B., Lamb K., Li S., Peng Y., Qiu Y., Roberts T., Skeans M., Snyder J., Solid C., Thompson B., Wang C., Weinhandl E., Zaun D., Arko C., Chen S. C., Daniels F. ve Ebben J. Atlas of chronic kidney disease & end-stage renal disease in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2012 59: A7-e1-e420

Cooper G. J. S., Wang Y., Lam K. S. L., Xu J. Y., Lu G., Xu L. Y. ve Xu A. Adiponectin Inhibits Cell Proliferation by Interacting with Several Growth Factors in an Oligomerization-dependent Manner. *Journal of Biological Chemistry* 2005

Coope A., Milanski M., Araujo E. P., Tambascia M., Saad M. J., Geloneze B. ve Velloso L. A. AdipoR1 mediates the anorexigenic and insulin/leptin-like actions of adiponectin in the hypothalamus. *FEBS Lett* 2008 582: 1471-1476

Coresh J., Selvin E., Stevens L. A., Manzi J., Kusek J. W., Eggers P., Van Lente F. ve Levey A. S. Prevalence of chronic kidney disease in the U.S. during 1988–1994 and 1999–2004. *The Journal of the American Medical Association* 2007 Vol. 298 17 p. 2038–2047

Costacou T., Zgibor J. C., Evans R. W., Otvos J., Lopes-Virella M. F., Tracy R. P. ve Orchard T. J. The prospective association between adiponectin and coronary artery disease among individuals with type 1 diabetes. *The Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study.* *Diabetologia* 2005; 48:41–8

Currie G., McKay G. ve Delles C. Biomarkers in diabetic nephropathy: present and future. *World J Diabetes* 2014 5: 763–76

D'Souza N., Rossignoli F., Golinelli G., Grisendi G., Spano C., Candini O., Osturu S., Catani F., Paolucci P., Horwitz E. M. ve Dominici M. Mesenchymal stem/stromal cells as a delivery platform in cell and gene therapies. *BMC Medicine* 2015 vol. 13 no.1

Dabrowski, F. A., Burdzinska A., Kulesza A., Sladowska A., Zolocinska A., Gala K., Paczek L. ve Wielgos M. Comparison of the paracrine activity of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord, amniotic membrane and adipose tissue. *The journal of obstetrics and gynaecology research* 2017

Dalla Vestra M., Masiero A., Roiter A. M., Saller A., Crepaldi G. ve Fioretto P. Is podocyte injury relevant in diabetic nephropathy? Studies in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003 52:1031-1035

Da Silva Meirelles L., Chagastelles P. ve Nardi N. B. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J. Cell Sci.* 2006 119(11):2204–2213

De Boer I. H., Rue T. C., Hall Y. N., Heagerty P. J., Weiss N. S. ve Himmelfarb J. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. *JAMA* 2011 305 2532–9

Definition and classification of CKD. *Kidney International Supplements* 2013 Chapter 1:3 19-62

Deihim T., Yazdanpanah G. ve Niknejad H. Different Light Transmittance of Placental and Reflected Regions of Human Amniotic Membrane That Could Be Crucial for Corneal Tissue Engineering. *Cornea* 2016 35, 997–1003

Denzel M. S., Scimia M. C., Zumstein P. M., Walsh K., Ruiz-Lozano P. ve Ranscht B. T-cadherin is critical for adiponectin-mediated cardioprotection in mice. *J Clin Invest.* 2010 120 (12):4342-52

Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D. J. ve Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006 8:315–317

Duffield J. S., Forbes S. J., Constandinou C. M., Clay S., Partolina M., Vuthoori S., Wu S., Lang R. ve Iredale J. P. Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. *J Clin Invest* 2005 115: 56–65

Eddy A. A. Progression in chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005 12: 353–365

Eddy A. A. ve Neilson E. G. Chronic kidney disease progression. *J Am Soc. Nephrol* 2006 17: 2964–2966

Eirin A., Zhu X. Y., Krier J. D., Tang H., Jordan K. L., Grande J. P., Lerman A., Textor S. C. ve Lerman L. O. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve revascularization outcomes to restore renal function in swine atherosclerotic renal artery stenosis. *Stem Cells* 2012 30: 1030-1041

Eirin A. ve O Lerman L. Mesenchymal stem cell treatment for chronic renal failure. *Eirin and Lerman Stem Cell Research & Therapy*, 2014 5:83

Evans R., Calice-Silva V., Raimann J.G., Hemmila U., Craik A., Mtekateka M., Hamilton F., Kawale Z., Dobbie H., Dreyer G., Levin N., Kotanko P. ve Pecoits-Filho R. Diagnostic performance of a saliva urea nitrogen dipstick to detect kidney disease in Malawi. *Kidney Int. Rep.* 2016 2 219–227

Ezquer F. E., Ezquer M. E., Parrau D. B., Carpio D., Yanez A. J. ve Conget P. A. Systemic administration of multipotent mesenchymal stromal cells reverts hyperglycemia and prevents nephropathy in type 1 diabetic mice. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008 14:631–40

Ezquer F., Ezquer M., Simon V., Pardo F., Yanez A., Carpio D. ve Conget P. Endovenous administration of bone-marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells prevents renal failure in diabetic mice. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009 15:1354–65

Falcao-Pires I., Castro-Chaves P., Miranda-Silva D., Lourenco A. P., ve Leite-Moreira A. F., Physiological, pathological and potential therapeutic roles of adipokines. *Drug Discovery Today* 2012 17(15-16):880-9

Fang Y., Tian X., Bai S., Fan J., Hou W., Tong H. ve Li D. Autologous transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats by inhibiting oxidative stress, pro-inflammatory cytokines and the p38 MAPK signaling pathway. *Int J Mol Med.* 2012 30:85–92

Fassett R. G., Venuthurupalli S. K., Gobe G. C., Coombes J. S., Cooper M. A. ve Hoy W. E. Biomarkers in chronic kidney disease: a review. *Kidney Int.* 2011 80:806–21

Fink H.A., Ishani A., Taylor B.C., Greer N.L., MacDonald R., Rossini D., Sadiq S., Lankireddy S., Kane R. L. ve Wilt T. J. *Chronic Kidney Disease Stages 1–3: Screening, Monitoring, and Treatment*; Agency for Healthcare Research and Quality 2012

Franquesa M., Herrero E., Torras J., Ripoll E., Flaquer M, Goma M., Lloberas N., Anegon I., Cruzado J. M., Grinyo J. M. ve Herrero-Fresneda I. Mesenchymal stem cell therapy prevents interstitial fibrosis and tubular atrophy in a rat kidney allograft model. *Stem Cells Dev.* 2012 21: 3125-3135

Friedenstein A. J., Gorskaja J. F. ve Kulagina N. N. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp. Hematol.* 1976 4 (5):267–274

Frystyk J., Tarnow L., Hansen T. K., Parving H. H. ve Flyvbjerg A. Increased serum adiponectin levels in type 1 diabetic patients with microvascular complications. *Diabetologia* 2005 48:1911–8

Fujita H., Morii T., Koshimura J., Ishikawa M., Kato M., Miura T., Sasaki H., Narita T., Ito S. ve Kakei M. Possible relationship between adiponectin and renal tubular injury in diabetic nephropathy. *Endocr J.* 2006 53:745–52

Gentile G. ve Remuzzi G. Novel biomarkers for renal diseases? None for the moment (but one). *J. Biomol. Screen* 2016 21, 655–670



Glintborg D., Frystyk J., Hojlund K., Andersen K. K., Henriksen J. E., Hermann A. P., Hagen C., Flyvbjerg A. ve Andersen M. Total and high molecular weight (HMW) adiponectin levels and measures of glucose and lipid metabolism following pioglitazone treatment in a randomized placebocontrolled study in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2008 68: 165-174

Glowacki F., Savary G., Gnemmi V., Buob D., Van der Hauwaert C., Lo-Guidice J. M., Bouyé S., Hazzan M., Pottier N., Perrais M., Aubert S. ve Cauffiez C. Increased circulating miR-21 levels are associated with kidney fibrosis. *PLoS One* 2013 8:e58014

Good D. M., Zürbig P., Argiles A., Bauer H. W., Behrens G., Coon J. J., Dakna M., Decramer S., Delles C., Dominiczak A. F., Ehrich J. H., Eitner F., Fliser D., Frommberger M., Ganser A., Girolami M. A., Golovko I., Gwinner W., Haubitz M., Herget-Rosenthal S., Jankowski J., Jahn H., Jerums G., Julian B. A., Kellmann M., Kliem V., Kolch W., Krolewski A. S., Luppi M., Massy Z., Melter M., Neusüss C., Novak J., Peter K., Rossing K., Rupperecht H., Schanstra J. P., Schiffer E., Stolzenburg J. U., Tarnow L., Theodorescu D., Thongboonkerd V., Vanholder R., Weissinger E. M., Mischak H. ve Schmitt-Kopplin P. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease. *Mol. Cell. Proteom.* 2010 9, 2424–2437

Grande M. T. ve Lopez-Novoa J. M. Fibroblast activation and myofibroblast generation in obstructive nephropathy. *Nat Rev Nephrol* 2009 5: 319–328

Grgic I., Duffield J. S. ve Humphreys B. D. The origin of interstitial myofibroblasts in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2012 27(2): 183–193

Griffin T. P., Martin W. P., Islam N., O'Brien T. ve Griffin M. D. The Promise of Mesenchymal Stem Cell Therapy for Diabetic Kidney Disease. *Curr Diab Rep.* 2016 16(5):42

Gross J. L., de Azevedo M. J., Silveiro S. P., Canani L. H., Caramori M. L. ve Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care* 2005 28:164–76

Grove J. E., Bruscia E. ve Krause D. S. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. *Stem Cells* 2004 22(4): p. 487-500

Guebre-Egziabher F., Bernhard J., Funahashi T., HadjAissa A. ve Fouque D. Adiponectin in chronic kidney disease is related more to metabolic disturbances than to decline in renal function. *Nephrol Dial Transplant.* 2005 20:129 -34

Hardie D. G., Carling D. ve Gamblin S. J. AMP-activated protein kinase: also regulated by ADP *Trends Biochem. Sci.* 2011 36,470–477

Hayes M., Curley G., Ansari B., Laffey J. G. Clinical review: Stem cell therapies for acute lung injury/acute respiratory distress syndrome-hope or hype? *Crit Care* 2012 12;16(2):205

Heo J. S., Choi Y., Kim H. S. ve Kim H. O. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *International journal of molecular medicine* 2016 37, 115–125

Hu E., Liang P. ve Spiegelman B. M. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem.* 1996 3;271(18):10697-703

Hudson E. R., Pan D.A., James J., Lucocq J. M., Hawley S. A., Green K. A., Baba O., Terashima T. ve Hardie D. G. A novel domain in AMP-activated protein kinase causes glycogen storage bodies similar to those seen in hereditary cardiac arrhythmias. *Curr. Biol.* 2003 13,861–866

Hug C., Wang J., Ahmad N. S., Bogan J. S., Tsao T. S. ve Lodish H. F. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proc Natl Acad Sci* 2004 13;101(28):10308-13

Humphreys B. D., Valerius M. T., Kobayashi A., Mugford J. W., Soeung S., Duffield J. S., McMahon A. P. ve Bonventre J. V. Intrinsic epithelial cells repair the kidney after injury. *Cell Stem Cell* 2008; 2: 284–291

Humphreys B.D., Lin S. L., Kobayashi A., Hudson T. E., Nowlin B.T., Bonventre J. V., Valerius M.T., McMahon A.P. ve Duffield J.S. Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis. *Am J Pathol* 2010 176: 85–97

Humphreys B. D., Czerniak S., DiRocco D. P., Hasnain W., Cheema R. ve Bonventre J. V. Repair of injured proximal tubule does not involve specialized progenitors. *Proc Natl Acad Sci* 2011; 108: 9226–9231

Hwang, J. H., Shin Shim S., Seok O. S., Lee H. Y., Woo S. K., Kim B. H., Song H. R., Lee J. K. ve Park Y. K. Comparison of cytokine expression in mesenchymal stem cells from human placenta, cord blood, and bone marrow. *Journal of Korean medical science* 2009 24, 547–554

Ilancheran S., Moodley Y. ve Manuelpillai U. Human fetal membranes: a source of stem cells for tissue regeneration and repair? *Placenta* 2009 30, 2–10, 2009

In't Anker, P. S., Scherjon S. A., Kleijburg-van der Keur C., de Groot-Swings G. M., Claas F. H., Fibbe W. E. ve Kanhai H. H. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem cells* 2004 22, 1338–1345

Ivanova L., Butt M. J. ve Matsell D. G. Mesenchymal transition in kidney collecting duct epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008 294: F1238– F1248

Jorsal A., Petersen E. H., Tarnow L., Hess G., Zdunek D., Frystyk J., Allan F., Maria Stenkil L., Peter R. Urinary adiponectin excretion rises with increasing albuminuria in type 1 diabetes. *J Diabetes Complications* 2013 27:604–8

Kacso I. M., Bondor C. I. ve Kacso G. Plasma adiponectin is related to the progression of kidney disease in type 2 diabetes patients. *Scand J Clin Lab Invest.* 2012 72:333–9

Kadowaki T ve Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005 26: 439-451

Kadowaki T., Yamauchi T., Kubota N., Hara K., Ueki K. ve Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. 2006 116(7):1784-92

Kalluri R. ve Neilson E. G. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest* 2003 112: 1776–1784

Kamariski M., Biscardi M., Cestino L, Miatello R., Guntsche E. ve Valles P. G. Adiponectin in Children on Peritoneal Dialysis: Relationship to Insulin Resistance and Nutritional Status. *Nephron Clin Pract* 2009 113: c24–c32

Kaneko T., Shimizu A., Mii A., Fujita E., Fujino T., Kunugi S., Du X., Akimoto T., Tsuruoka S., Ohashi R., Masuda Y., Iino Y., Katayama Y. ve Fukuda Y. Role of matrix metalloproteinase-2 in recovery after tubular damage in acute kidney injury in mice. *Nephron Exp Nephrol* 2012 122: 23-35

Karp J. M. ve Leng Teo G. S. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. *Cell Stem Cell* 2009 4:206–216

Kaynar K., Kural B. V., Ulusoy S., Cansiz M., Akcan B., Misir N., Yaman S. ve Nuh Kaya N. Is there any interaction of resistin and adiponectin levels with protein-energy wasting among patients with chronic kidney disease. *Hemodial Int* 2014; 18: 153–162

Kershaw E. E. ve Flier J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 89: 2548–2556

Khurana R., Ranches G., Schafferer S., Lukasser M., Rudnicki M., Mayer G. ve Hüttenhofer, A. Identification of urinary exosomal noncoding RNAs as novel biomarkers in chronic kidney disease. *RNA* 2017 23, 142–152

Kissebah A. H., Sonnenberg G. E., Myklebust J., Goldstein M., Broman K., James R. G., Marks J. A., Krakower G. R., Jacob H. J., Weber J., Martin L., Blangero J. ve Comuzzie A. G. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci* 2000 97 14478-14483

Koesters R., Kaissling B., Lehir M., Picard N., Theilig F., Gebhardt R., Glick A. B., Hähnel B., Hosser H., Gröne H. J. ve Kriz W. Tubular overexpression of transforming growth factor-beta1 induces autophagy and fibrosis but not mesenchymal transition of renal epithelial cells. *Am J Pathol* 2010 177: 632–643

Kolch W., Neusüss C., Pelzing M. ve Mischak H. Capillary electrophoresis-mass spectrometry as a powerful tool in clinical diagnosis and biomarker discovery. *Mass Spectrom. Rev.* 2005 24 959-977

Koshimura J., Fujita H., Narita T., Shimotomai T., Hosoba M., Yoshioka N., Kakei M., Fujishima H. ve Ito S. Urinary adiponectin excretion is increased in patients with overt diabetic nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004 316:165–9

Krause D. S., Theise N. D., Collector M. I., Henegariu O., Hwang S., Gardner R., Neutzel S. ve Sharkis S. J. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001 105: 369-377

Krause D. S. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Gene Therapy* 2002 9: 754-758

Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T., Itoh S., Kumagai H., Kozono H., Takamoto I, Okamoto S., Shiuchi T., Suzuki R., Satoh H., Tsuchida A., Moroi M., Sugi K., Noda T., Ebinuma H., Ueta Y., Kondo T., Araki E., Ezaki O., Nagai R., Tobe K., Terauchi Y., Ueki K., Minokoshi Y. ve Kadowaki T. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab* 2007 6: 55-68

Kusuma, G. D., Manuelpillai U., Abumaree M. H., Pertile M. D., Brennecke S. P. ve Kalionis B. Mesenchymal stem cells reside in a vascular niche in the decidua basalis and are absent in remodelled spiral arterioles. *Placenta* 2015 36, 312–321

Kuusniemi A. M., Lapatto R., Holmberg C., Karikoski R., Rapola J. ve Jalanko H. Kidneys with heavy proteinuria show fibrosis, inflammation, and oxidative stress, but no tubular phenotypic change. *Kidney* 2005 Int 68: 121–132

Lakshmipathy U. ve Verfaillie C. Stem cell plasticity. *Blood Rev.* 2005 19(1): 29-38

Lang R. A. ve Duffield J. S. Macrophage Wnt7b is critical for kidney repair and regeneration. *Proc Natl Acad Sci* 2010 107: 4194–4199

Lee J. W., Kim Y. H., Kim S. H., Han S. H. ve Hahn S. B. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and its clinical applications. *Yonsei Med. J.* 2004 45: 41-47

Lee R. H., Seo M. J., Reger R. L., Spees J. L., Pulin A. A., Olson S. D. ve Prockop D. J. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice. *Proc Natl Acad Sci* 2006 103: 17438-17443

Lee S., Huen S., Nishio H., Nishio S., Lee H. K., Choi B. S., Ruhrberg C. ve Cantley L. G. Distinct macrophage phenotypes contribute to kidney injury and repair. *J. Am. Soc. Nephrol* 2011 22: 317–326

Lemoli R. M., Bertolini F., Cancedda R., De Luca M., Del Santo A., Ferrari G., Ferrari S., Martino G., Mavilio F. ve Tura S. Stem cell plasticity: time for a reappraisal? *Haematologica* 2005 90(3):360-81

Li L., Zepeda-Orozco D., Black R. ve Lin F. Autophagy is a component of epithelial cell fate in obstructive uropathy. *Am J Pathol* 2010 176: 1767–1778

Linge C., Green M.R. ve Brooks R. F. A method for removal of fibroblasts from human tissue culture systems. *Exp Cell Res* 1989 185: p. 519-528

Lin S. L. ve Duffield J. S. Macrophages in kidney injury and repair. *Acta Nephrol* 2012 26: 45–57

Lin S. L., Li B., Rao S., Yeo E. J., Hudson T. E., Nowlin B. T., Pei H., Chen L., Zheng J. J., Carroll T. J., Pollard J. W., McMahon A. P., Lang R. A. ve Duffield J. S. Macrophage Wnt7b is critical for kidney repair and regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 2;107(9):4194-9.

Li X., Wei D., He H., Zhang J., Wang C., Ma M., Wang B., Yu T., Pan L., Xue F., He H., Xu W., Pan T., Zuo Q., Ulf L. ve Shan G. Association of the adiponectin gene (ADIPOQ) +45 T > G polymorphism with the metabolic syndrome among Han Chinese in Sichuan province of China. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2012 21(2):296-301

Liu Q., Yuan B., Lo K. A., Patterson H. C., Sun Y. ve Lodish H. F. Adiponectin regulates expression of hepatic genes critical for glucose and lipid metabolism. *Proc Natl Acad Sci* 2012 109: 14568–14573

Liu Y. Cellular and molecular mechanisms of renal fibrosis. *Nat. Rev. Nephrol* 2011, 7, 684–696

Long D. A., Norman J. T. ve Fine L. G. Restoring the renal microvasculature to treat chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2012 8: 244–250

Looker H.C., Krakoff J., Funahashi T., Matsuzawa Y., Tanaka S., Nelson R. G., Knowler W. C., Lindsay R. S. ve Hanson R. L. Adiponectin concentrations are influenced by renal function and diabetes duration in Pima Indians with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 89:4010–7

Lorenz K., Sicker M., Schmelzer E., Rupf T., Salvetter J., Schulz-Siegmund M. ve Bader A. Multilineage differentiation potential of human dermal skin-derived fibroblasts. *Exp Dermatol* 2008 17 p. 925-932

Luo Y., Wang C., Chen X., Zhong T., Cai X., Chen S., Shi Y., Hu J., Guan X., Xia Z., Wang J., Zen K., Zhang C. Y. ve Zhang C. Increased serum and urinary microRNAs in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Clin Chem* 2013 59: 658–666

Lv S., Cheng J., Sun A., Li J., Wang W., Guan G., Liu G. ve Su M. Mesenchymal stem cells transplantation ameliorates glomerular injury in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via inhibiting oxidative stress. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014 104:143–54

Lv S. S., Liu G., Wang J. P., Wang W. W., Cheng J., Sun A. L., Liu H. Y., Nie H. B., Su M. R., Guan G. J. Mesenchymal stem cells transplantation ameliorates glomerular injury in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via inhibiting macrophage infiltration. *Int Immunopharmacol.* 2013 17:275–82

Mackensen-Haen S., Bohle A., Christensen J. Wehrmann M., Kendziorra H. ve Kokot F. The consequences for renal function of widening of the interstitium and changes in the tubular epithelium of the renal cortex and outer medulla in various renal diseases. *Clin Nephrol* 1992 37: 70–77

Maeda K., Okubo K., Shimomura I., Funahashi T., Matsuzawa Y. ve Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose most abundant gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996 221: 286-289

Manuelpillai U., Moodley Y., Borlongan C. V. ve Parolini O. Amniotic membrane and amniotic cells: potential therapeutic tools to combat tissue inflammation and fibrosis. 2011 S320–325, 2011.04.010

Mao X., Kikani C. K., Riojas R. A., Langlais P., Wang L., Ramos F. J., Fang Q., Christ-Roberts C. Y., Hong J. Y., Kim R. Y., Liu F. ve Dong L. APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Q. Nat Cell Biol.* 2006 8(5):516-23

Martin P. ve Parkhurst S. M. Parallels between tissue repair and embryo morphogenesis. *Development* 2004 131: 3021–3034

Mastri M., Lin H. ve Lee T. Enhancing the efficacy of mesenchymal stem cell therapy. *World Journal of Stem Cells* 2014 vol. 6 no 2 p.82–93

Mayer G. Capillary rarefaction, hypoxia, VEGF and angiogenesis in chronic renal disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011 26, 1132–1137

Miao Z., Jin J., Chen L., Zhu J., Huang W., Zhao J., Qian H. ve Zhang X. Isolation of mesenchymal stem cells from human placenta: comparison with human bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell biology international* 2006 30, 681–687



Mills K. T., Hamm L. L., Alper A. B., Miller C., Hudaihed A., Balamuthusamy S., Chen C., Liu Y., Tarsia J., Rifai N., Kleinpeter M., He J. ve Chen J. Circulating Adipocytokines and Chronic Kidney Disease. PLoS ONE 2013; 8: e76902

Mimura I. ve Nangaku M. The suffocating kidney: tubulointerstitial hypoxia in end-stage renal disease. Nat Rev Nephrol 2010; 6: 667–678

Minguell J. J., Erices A. ve Conget P. Mesenchymal stem cells. Exp. Biol. Med. 2011 226(6): 507-520

Miyamoto S. ve Sharma K. Adipokines protecting CKD. Nephrol Dial Transplant 2013 28: iv15–iv22

Mogensen C. E. ve Christensen C. K. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. N Engl J Med 1984 311:89–93

Mok C. C. Biomarkers for lupus nephritis: A critical appraisal. J. Biomed. Biotech. 2010, 638413

Molofsky A. V., Pardal R. ve Morrison S. J. Diverse mechanisms regulate stem cell self-renewal. Curr Opin Cell Biol. 2004 16(6):700–7

Monte J. C., Sakurai H., Bush K.T. ve Nigam S. K. The developmental nephrome: systems biology in the developing kidney. Curr Opin Nephrol Hypertens 2007 16: 3–9

Mundra V., Gerling I. C. ve Mahato R. I. Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy 2012

Miyamoto S. ve Sharma K. Adipokines protecting CKD. Nephrol Dial Transplant 2013 28: iv15–iv22.

Nakamaki S., Satoh H., Kudoh A., Hayashi Y., Hirai H. ve Watanabe T. Adiponectin reduces proteinuria in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. Exp Biol Med. 2011 236:614–20

Nakano Y., Tobe T., Choi-Miura N. H., Mazda T. ve Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem* 1996 120: 803-812

Nangaku M. Mechanisms of tubulointerstitial injury in the kidney: final common pathways to end-stage renal failure. *Intern Med* 2004 43: 9-17

Nauta A. J. ve Fibbe W. E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells *Blood* 2007 110:3499–3506

Nekanti U., Mohanty L., Venugopal P., Balasubramanian S., Totey S. ve Ta M. Optimization and scale-up of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells for clinical applications. *Stem cell research* 2010 5: 244–254

Németh K, Leelahavanichkul A., Yuen P. S., Mayer B., Parmelee A., Doi K., Robey P. G., Leelahavanichkul K, Koller B. H., Brown J.M., Hu X., Jelinek I., Star R. A. ve Mezey E. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat. Med.* 2009 15:42–49

Ohashi N., Kato A., Misaki T., Sakakima M., Fujigaki Y., Yamamoto T. ve Hishida A. Association of serum adiponectin levels with all-cause mortality in hemodialysis patients. *Intern Med.* 2008 47:485–91

Pan X. H., Yang X. Y., Yao X., Sun X. M., Zhu L., Wang J. X., Pang R. Q., Cai X. M., Dai J. J. ve Ruan G. P. Bone-marrow mesenchymal stem cell transplantation to treat diabetic nephropathy in tree shrews. *Cell Biochem Funct.* 2014 32:453–63

Panduru N. M., Saraheimo M., Forsblom C., Thorn L. M., Gordin D., Waden J., Tolonen N., Bierhaus A. ve Humpert M. Urinary adiponectin is an independent predictor of progression to end-stage renal disease in patients with type 1 diabetes and diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2015 38:883–90

Papazova D. A., Oosterhuis N. R., Gremmels H., van Koppen A., Joles J. A. ve Verhaar M.C. Cell-based therapies for experimental chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Disease Models and Mechanisms* 2015 vol.. 8, no. 3 p.281–293

Pappa K. I. ve Anagnou N. P. Novel sources of fetal stem cells: where do they fit on the Developmental continuum? *Regenerative medicine* 2009 4, 423–433

Parker-Duffen J. L., Nakamura K., Silver M., Kikuchi R., Tigges U., Yoshida S., Denzel M. S., Ranscht B. ve Walsh K. T-cadherin is essential for adiponectin-mediated revascularization. *J Biol Chem.* 2013 Aug 23;288(34):24886-97

Parving H. H., Oxenboll B., Svendsen P. A., Christiansen J. S. ve Andersen A. R. Early detection of patients at risk of developing diabetic nephropathy. A longitudinal study of urinary albumin excretion. *Acta Endocrinol* 1982 100:550–5

Pasha Z., Wang Y., Sheikh R., Zhang D., Zhao T. ve Ashraf M. Preconditioning enhances cell survival and differentiation of stem cells during transplantation in infarcted myocardium. *Cardiovascular Research* 2008 vol.77 no.1 p.134–142

Peired A. J., Alessandro Sisti ve Paola Romagnani. *Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for Kidney Disease: A Review of Clinical Evidence.* 2016

Pena M. J., Lambers Heerspink H. J., Hellemons M. E., Friedrich T., Dallmann G., Lajer M., Bakker S. J., Gansevoort R. T., Rossing P., de Zeeuw D. ve Roscioni S. S. Urine and plasma metabolites predict the development of diabetic nephropathy in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2014 31(9):1138–47

Perico N. ve Remuzzi G. Chronic kidney disease: a research and public health priority. *Nephrol Dial Transplant* 2012 27: iii19-iii26

Perri A., Vizza D., Lofaro D., Gigliotti P., Leone F., Brunelli E., Malivindi R., De Amicis F., Romeo F., De Stefano R., Papalia T. ve Bonofiglio R. Adiponectin is expressed and secreted by renal tubular epithelial cells. *J Nephrol* 2013 26: 1049–1054

Pileggi A., Xu X., Tan J. ve Ricordi C. Mesenchymal stromal (stem) cells to improve solid organ transplant out come: lessons from the initial clinical trials. *Current Opinion in Organ Transplantation* 2013 vol. 18 no 6 p. 672–681

Pittenger M. F., Mackay A. M., Beck S. C., Jaiswal R.K., Douglas R., Mosca J. D., Moorman M. A., Simonetti D. W., Craig S. ve Marshak D. R. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999 284: 143-147

Polchert D., Sobinsky J., Douglas G. W., Kidd M., Moadsiri A., Reina E., Genrich K., Mehrotra S., Setty S., Smith B. ve Bartholomew A. IFN- $\gamma$  activation of mesenchymal stem cells for treatment and prevention of graft versus host disease. *European Journal of Immunology* 2008 vol. 38 no.6 p. 1745–1755

Polekhina G., Gupta A., Michell B. J., van Denderen B., Murthy S., Feil S. C., Jennings I. G., Campbell D. J., Witters L. A., Parker M. W. Kemp B. E. ve Stapleton D. AMPK  $\beta$  subunit targets metabolic stress sensing to glycogen. *Curr. Biol.* 2003 13,867–871

Pomerantz J. ve Blau H. M., Nuclear programming: A key to stem cell function in regenerative medicine. *Nature Cell Biology* 2004 6(9) 810

Prockop D. Repair of tissues by adult stem/progenitor cells (MSCs): controversies, myths, and changing paradigms. *Mol. Ther.* 2009 17(6):939–946

Qi Y., Takahashi N., Hileman S. M., Patel H. R., Berg A. H., Pajvani U. B., Scherer P. E. ve Ahima R. S. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nat. Med.* 2004 10(5):524-9

Qin, S. Q., Kusuma G. D., Al-Sowayan B., Pace R. A., Isenmann S., Pertile M. D., Gronthos S., Abumaree M. H., Brennecke S. P. ve Kalionis B. Establishment and characterization of fetal and maternal mesenchymal stem/stromal cell lines from the human term placenta. *Placenta* 2016 39, 134–146

Raimann J.G., Kirisits W., Gebetsroither E., Carter M., Callegari J., Rosales L., Levin N.W. ve Kotanko P. Saliva urea dipstick test: Application in chronic kidney disease. *Clin. Nephrol.* 2011 76, 23–28

Ricardo S. D., van Goor H. ve Eddy A. A. Macrophage diversity in renal injury and repair. *J Clin Invest* 2008 118: 3522–3530

Rivera J. A., O'Hare A. M. ve Harper G. M. Update on the management of chronic kidney disease. *Am Fam Physician* 2012 86: 749-754

Rüster C. ve Wolf G. Adipokines promote chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2013 28: iv8-iv14

Saraheimo M., Forsblom C., Thorn L., Waden J., Rosengard-Barlund M, Heikkila O., Hietala K., Gordin D., Frystyk J., Flyvbjerg A., Groop P. H., FinnDiane Study Group. Serum adiponectin and progression of diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2008 31:1165–9

Schalkwijk C. G., Chaturvedi N., Schram M. T., Fuller J. H., Stehouwer C. D. Adiponectin is inversely associated with renal function in type 1 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 91:129–35

Scherer P. E., Williams S., Fogliano M., Baldini G. ve Lodish H. F. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995 270: 26746-26749

Schlondor D. O. Overview of factors contributing to the pathophysiology of progressive renal disease. *Kidney International* 2008 vol.. 74 p. 860–866

Schrimpf C. ve Duffield J. S. Mechanisms of fibrosis: the role of the pericyte. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011 20: 297–305

Schwab K.E., Chan R. W. ve Gargett C. E. Putative stem cell activity of human endometrial epithelial and stromal cells during the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2005 84 Suppl 2: p. 1124-30

Seeger J., Ziegelmeier M., Bachmann A., Lössner U., Kratzsch J., Blüher M., Stumvoll M. ve Fasshauer M. Serum levels of the adipokine vaspin in relation to metabolic and renal parameters. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 93: 247–251

Serakinci N. ve Keith W. N., Therapeutic potential of adult stem cells. *European Journal of Cancer* 2006 42(9): p. 1243-1246

Sharma K. The link between obesity and albuminuria: adiponectin and podocyte dysfunction. *Kidney Int* 2009 76: 145–148

Sharma K., Ramachandrarao S., Qiu G., Usui H. K., Zhu Y., Dunn S. R., Ouedraogo R., Hough K., McCue P., Chan L., Falkner B. ve Goldstein B. J. Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice. *J Clin Invest.* 2008 118:1645–56

Sharma R. R., Pollock K., Hubel A. ve McKenna D. Mesenchymal stem or stromal cells: are view of clinical applications and manufacturing practices. *Transfusion* 2014 vol. 54, no. 5, p. 1418–1437

Shen S.P., Liu W.T., Lin Y., Li Y.T., Chang C.H., Chang F.W., Wang L. M., Teng S. W. ve Hsuan Y. EphA2 is a biomarker of hMSCs derived from human placenta and umbilical cord. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2015 54: p. 749-756

Silva F. G., The aging kidney: a review part I. *Int Urol Nephrol* 2005 37

Sörensen I., Susnik N., Inhester T., Degen J. L., Melk A., Haller H. ve Schmitt R. Fibrinogen, acting as a mitogen for tubulointerstitial fibroblasts, promotes renal fibrosis. *Kidney Int* 2011 80: 1035–1044

Squillaro T., Peluso G. ve Galderisi U. Clinical trials with mesenchymal stem cells: an update. *Cell Transplantation* 2016 vol.. 25 no 5 p. 829–848

Steinberg G. R. ve Kemp B. E. AMPK in Health and disease. *Physiol Rev* 2009 89 1025–1078, 2009

Steubl D., Block M., Herbst V., Nockher W. A., Schlumberger W., Satanovskij R., Angermann S., Hasenau A. L., Stecher L., Heemann U., Renders L. ve Scherberich J. Plasma uromodulin correlates with kidney function and identifies early stages in chronic kidney disease patients. *Medicine* 2016 95 e3011

Steffes M. W., Schmidt D., McCrery R. ve Basgen J. M. Glomerular cell number in normal subjects and in type 1 diabetic patients. *Kidney Int.* 2011 59: 2104-2113

Szczepańska M., Machura E., Adamczyk P., Świętochowska E., Trembecka-Dubiel E., Lipiec K., Jędzura A., Ziara K., Evaluation of adipocytokines in children with chronic kidney disease. 2015

Tacke F, Wüstefeld T., Horn R., Luedde T., Srinivas Rao A., Manns M. P., Trautwein C. ve Brabant G. High adiponectin in chronic liver disease and cholestasis suggests biliary route of adiponectin excretion in vivo. *J Hepatol* 2005 42(5):666-73

Talwadekar M. D., Kale V. P. ve Limaye L. S. Placenta-derived mesenchymal stem cells possess better immunoregulatory properties compared to their cord-derived counterparts-a paired sample study. *Scientific reports* 2105 5, 15784

Tamba S., Nakatsuji H., Kishida K., Noguchi M., Ogawa T., Okauchi Y., Nishizawac H., Imagawaa A., Nakamura T., Matsuzawa Y., Funahashi T. ve Shimomura I. Relationship between visceral fat accumulation and urinary albumin-creatinine ratio in middle-aged Japanese men. *Atherosclerosis* 2010 211:601–5

Tesauro M., Mascali A., Franzese O., Cipriani S., Cardillo C. ve Daniele N. D. Chronic Kidney Disease, Obesity, and Hypertension: The Role of Leptin and Adiponectin. *International Journal of Hypertension* 2012

Thomson J. A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S. S., Waknitz M. A., Swiergiel J. J., Marshall V. S. ve Jones J. M. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998 282 (5391), 1145– 1147

Tilg H. ve Moschen A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2006 6: 772–783

Tsao T. S., Tomas E., Murrey H. E., Hug C., Lee D. H., Ruderman N. B., Heuser J. E. ve Lodish H. F. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity- Different oligomers activate different signal transduction pathways. *J Biol Chem.* 2003 278: 50810-50817

Tsioufis C., Dimitriadis K., Chatzis D., Vasiliadou C., Tousoulis D., Papademetriou V., Toutouzas P., Stefanadis C. ve Kallikazaros I. Relation of microalbuminuria to adiponectin and augmented C-reactive protein levels in men with essential hypertension. *Am J Cardiol.* 2005 96:946–51

Van Dieren S., Beulens J. W., van der Schouw Y. T., Grobbee D. E. ve Neal B. The global burden of diabetes and its complications: an emerging pandemic. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2010 17 Suppl 1:S3–8

Verfaillie C. M., Pera M. F. ve Lansdorp P. M. Stem cells: Hype and reality. *Hematology* 2002 369-91

Viberti G. C., Hill R. D., Jarrett R. J., Argyropoulos A., Mahmud U. ve Keen H. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1982 1:1430–2

Von Eynatten M., Liu D., Hock C., Baumann M., Allolio B., Korosoglou G., Morcos M., Campean V., Amann K., Lutz J., Heemann U., Nawroth P. P., Bierhaus A. ve Humpert P. M. Urinary adiponectin excretion a novel marker for vascular damage in type 2 diabetes. *Diabetes* 2009 58: 2093–2099

Vu D., Tellez-Corrales E., Sakharkar P., Kissen M. S., Shah T., Hutchinson I. ve Min D. I. Impact of NF kappa B gene polymorphism on allograft out come in Hispanic renal transplant recipients. *Transpl Immunol* 2013 28: 18–23

Waki H., Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Uchida S., Kita S., Hara K., Hada Y., Vasseur F., Froguel P., Kimura S., Nagai R. ve Kadowaki T. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem.* 2003 10 278(41):40352-63.

Wang G., Kwan B. C., Lai F. M. Chow K. M., Li P. K. ve Szeto C.C. Urinary miR-21, miR-29, and miR-93: novel biomarkers of fibrosis. *Am J Nephrol* 2012 36: 412–418

Wang L., Yang Y., Zhu Y., Ma X., Liu T., Zhang G., Fan H., Ma L., Jin Y., Yan X., Wei J. ve Li Y. Characterization of placenta-derived mesenchymal stem cells cultured in autologous human cord blood serum. *Molecular medicine reports* 2012 6, 760–766

Wang S., Li Y., Zhao J., Zhang J. ve Huang Y. Mesenchymal stem cells ameliorate podocyte injury and proteinuria in a type 1 diabetic nephropathy rat model. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013 19:538–46



Wang Y., Lam K. S., Chan L., Chan K. W., Lam J. B., Lam M. C., Hoo R. C., Mak W. W., Cooper G. J. ve Xu A. Post-translational modifications of the four conserved lysine residues within the collagenous domain of adiponectin are required for the formation of its high molecular weight oligomeric complex. *J Biol. Chem.* 2006 281: 16391-16400

Wang Z. V. ve Scherer P. E. Adiponectin, the past two decades. *Journal of Molecular Cell Biology* 2016 8(2), 93–100

Wasser W. G., Tzur S., Wolday D., Adu D., Baumstein D., Rosset S. ve Skorecki K. Population genetics of chronic kidney disease: the evolving story of APOL1. *J Nephrol* 2012 25: 603–618

Wasung M. E., Chawla L. S. ve Madero M. Biomarkers of renal function, which and when? *Clin. Chim. Acta* 2015 438, 350–357

Weissman I. L. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 2000 100(1): p. 157-68

White K. E. ve Bilous R. W. Structural alterations to the podocyte are related to proteinuria in type 2 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004 19:1437-1440

Woods A., Cheung P. C., Smith F. C., Davison M. D., Scott J., Beri R. K. ve Carling D. Characterization of AMP-activated protein kinase  $\beta$  and  $\gamma$  subunits. Assembly of the heterotrimeric complex in vitro. *J. Biol. Chem.* 1996 271,10282–10290

Wyld M., Morton R. L., Hayen A., Howard K. ve Webster A. C. A systematic review and meta-analysis of utility-based quality of life in chronic kidney disease treatments. *PLoS Med.* 2012

Yamauchi T., Kamon J., Minokoshi Y., Ito Y., Waki H., Uchida S., Yamashita S., Noda M., Kita S., Ueki K., Eto K., Akanuma Y., Froguel P., Foufelle F., Ferre P., Carling D., Kimura S., Nagai R., Kahn B. B. ve Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002 8: 1288-1295

Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Tsuchida A., Yokomizo T., Kita S., Sugiyama T., Miyagishi M., Hara K., Tsunoda M., Murakami K., Ohteki T., Uchida S., Takekawa S., Waki H., Tsuno N. H., Shibata Y., Terauchi Y., Froguel P., Tobe K., Koyasu S., Taira K., Kitamura T., Shimizu T., Nagai R. ve Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003 423:762–769

Yamauchi T., Nio Y., Maki T., Kobayashi M., Takazawa T., Iwabu M., Okada-Iwabu M., Kawamoto S., Kubota N., Kubota T., Ito Y., Kamon J., Tsuchida A., Kumagai K., Kozono H., Hada Y., Ogata H., Tokuyama K., Tsunoda M., Ide T., Murakami K., Awazawa M., Takamoto I., Froguel P., Hara K., Tobe K., Nagai R., Ueki K. ve Kadowaki T. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med* 2007 13: 332-339.

Yamaguchi I., Tchao B.N., Burger M.L., Yamada M, Hyodo T., Giampietro C. ve Eddy A. A. Vascular endothelial cadherin modulates renal interstitial fibrosis. *Nephron Exp Nephrol* 2012 120: e20–e31

Yamahara K., Harada K., Ohshima M., Ishikane S., Ohnishi S., Tsuda H., Otani K., Taguchi A., Soma T., Ogawa H., Katsuragi S., Yoshimatsu J., Harada-Shiba M., Kangawa K. ve Ikeda T. Comparison of angiogenic, cytoprotective, and immunosuppressive properties of human amnion- and chorionderived mesenchymal stem cells. 2014 9 e88319

Yang L., Besschetnova T. Y., Brooks C. R., Shah J. V. ve Bonventre J. V. Epithelial cell cycle arrest in G2/M mediates kidney fibrosis after injury. *Nat Med* 2010 16: 535–543

Yang, Z. X., Han Z. B., Ji Y. R., Wang Y. W., Liang L., Chi Y., Yang S G., Li L. N., Luo W. F., Li J. P., Chen D. D., Du W. J. ve Cao X. C. CD106 identifies a subpopulation of mesenchymal stem cells with unique immunomodulatory properties. 2013 8, e59354

Yen, B. L., Huang H. I., Chien C. C., Jui H. Y., Ko B. S., Yao M., Shun C. T., Yen M. L., Lee M. C. ve Chen Y. C. Isolation of multipotent cells from human term placenta. *Stem cells* 2005 23, 3–9

Yu F., Wu L. H., Tan Y., Li L. H., Wang C. L., Wang W. K., Qu Z., Chen M. H., Gao J. J., Li Z. Y., Zheng X., Ao J., Zhu S. N., Wang S. X., Zhao M. H., Zou W. Z. ve Liu G. Tubulointerstitial lesions of patients with lupus nephritis classified by the 2003 International Society of Nephrology and Renal Pathology Society system. *Kidney Int* 2010; 77: 820–829

Yu Y., Bao B. J., Fan Y. P., Shi L. ve Li S. Q. Changes of adiponectin and its receptors in rats following chronic renal failure. *Ren Fail.* 2014 Feb 36(1):92-7

Zandi-Nejad K., Eddy A. A., Glasscock R. J. ve Brenner B. M. Why is proteinuria an ominous biomarker of progressive kidney disease? *Kidney Int Suppl* 2004 92: S76–S89

Zeisberg M., Hanai J. I., Sugimoto H., Mammoto T., Charytan D., Strutz F. ve Kalluri R. BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med* 2003 9: 964–968

Zeisberg M. ve Kalluri R. Fibroblasts emerge via epithelial-mesenchymal transition in chronic kidney fibrosis. *Front Biosci* 2008 13: 6991–6998

Zeisberg M. ve Duffield JS. Resolved: EMT produces fibroblasts in the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2010 21: 1247–1253

Zeng Q., Li P., Cai, Y., Zhou W., Wang, H., Luo J., Ding J. ve Chen H. Detection of creatinine in exhaled breath of humans with chronic kidney disease by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *J. Breath Res.* 2016 10, 016008

Zhou H., Tian H. M., Long Y., Zhang X. X., Zhong L., Deng L., Chen X. H. ve Li X. Q. Mesenchymal stem cells transplantation mildly ameliorates experimental diabetic nephropathy in rats. *Chin Med J.* 2009 122:2573–9

Zhu X. Y., Urbietta-Caceres V., Krier J. D., Textor S. C., Lerman A. ve Lerman L. O. Mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells decrease renal injury in experimental swine renal artery stenosis through different mechanisms. *Stem Cells* 2013 31: 117-125

Zhu Y., Yang Y., Zhang Y., Hao G, Liu T., Wang L., Yang T., Wang Q., Zhang G., Wei J. ve Li Y. Placental mesenchymal stem cells of fetal and maternal origins demonstrate different therapeutic potentials. Stem cell research & therapy 2014 5, 48



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	EZGİ	<b>Uyruğu</b>	T.C.
<b>Soyadı</b>	AKAN	<b>Tel no</b>	0543 251 07 34
<b>Doğum tarihi</b>	04/06/1991	<b>e-posta</b>	ezgiakan_@hotmail.com ezgiakan@akdeniz.edu.tr

### Eğitim Bilgileri

	<b>Mezun olduğu kurum</b>	<b>Mezuniyet yılı</b>
Lise	Beşiktaş Atatürk Anadolu Lisesi	2008
Lisans	Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü	2014
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü	Devam ediyor

## İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (yıl-yıl)</b>
Stajyer	Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü	2009
Stajyer	İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi	2012
Erasmus Researcher	Miguel Hernández University of Elche, Department of Pharmacology, Pediatrics and Organic Chemistry	2013
Erasmus Researcher	Miguel Hernández University of Elche, Department of Bioengineering	2013
Erasmus Researcher	Medical University of Vienna, Austria	2017
Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (ÖYP)	2015-halen

## Yabancı Dilleri

	<b>Sınav türü</b>	<b>Puanı</b>
İngilizce	YÖKDİL	81.25

## Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Sıçanlarda kronik böbrek hastalığının progresyonu üzerine plasenta kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin etkisi.	BAP	2016-
Steviosid'in Normal ve Hiperglisemik Koşullarda Sıçan Plasentasında, İnsan Plasental Endotel Ve Trofoblast Hücrelerinde Glukoz Transportuna Etkisinin Araştırılması.	TÜBİTAK	2017-

## Burslar-Ödüller:

### Yayınlar ve Bildiriler:

Kipmen-Korgun D., **Akan E.**, Mendilcioglu I, Suleymanlar G., Korgun E. T. Nefrektomi yapılmış sıçanlarda mezenkimal kök hücrelerin fibrozis üzerine etkisi. 2. Ulusal Proteomik Kongresi. 24-25 Kasım 2017, İstanbul.

**Akan E.**, Cetinkaya B., Koksoy S., Mendilcioglu I., Kipmen Korgun D., Suleymanlar G., Korgun E. T. The effects of amnion-derived mesenchymal stem cells on fibrosis mechanisms in nephrectomy rat model. 5th Annual Conference of GSCN Poster Presentation No 001, 11-13 September 2017, Jena.

Sıleymanlar G., **Akan E.**, Cetinkaya B., Molbay M., Ozmen A., Koksoy S., Korgun E. T. Sıçanlarda Oluşturulan 5/6 Nefrektomi Modelinde Plasenta Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin Renal Fibrozis Üzerine Potansiyel Etkileri. Türk Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 2016. 33. Ulusal Nefroloji, Hipertansiyon, Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi SS/OP-021, 19-23 Ekim 2016, Antalya.