

T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**VANKOMİSİN İLE TEDAVİ EDİLEN DENEYSEL STAFİLOKOKAL  
PERİTONİT MODELİNDE MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KULLANIMININ  
PERİTONEAL FONKSİYONLAR VE FİBROZİS ÜZERİNE ETKİSİ**

Uzmanlık Tezi  
**Dr. Serpil KAYA ÇELEBİ**

Trabzon - 2014

T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**VANKOMİSİN İLE TEDAVİ EDİLEN DENEYSEL STAFİLOKOKAL  
PERİTONİT MODELİNDE MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KULLANIMININ  
PERİTONEAL FONKSİYONLAR VE FİBROZİS ÜZERİNE ETKİSİ**

**THE EFFECT OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON THE PERITONEAL  
FUNCTIONS AND FIBROSIS IN THE EXPERIMENTAL STAPHYLOCOCCIC  
PERITONITIS MODEL TREATED WITH VANCOMYCIN**

Uzmanlık Tezi  
**Dr. Serpil KAYA ÇELEBİ**

Tez Danışmanı  
**Doç. Dr. Elif BAHAT ÖZDOĞAN**

Trabzon – 2014

## TEŐEKKÖRLER

Uzmanlık eğitimim esnasında bana her türlü desteği esirgemeyen başta tez danışmanım Doç Dr. Elif Bahat Özdoğan ile birlikte tüm hocalarıma,

Tezimin çeşitli aşamalarında büyük yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. Murat Ertürk, Prof. Dr. Ümit Çobanoğlu, Prof. Dr. İlknur Tosun, Prof. Dr. Orhan Değer, Pediatri Yoğunbakım Servis Sorumlu Hemşiresi Emine Öründü, Dr. İdris T. Sakir Nazif, Dr. Hakan Kısaoğlu, Dr. Sevcan Bilen ve tüm Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Araştırma Merkezi çalışanlarına,

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ihtisasını seçmemde büyük payı olan annem Mülkinaz Kaya (merhume), ihtisasım sırasında her türlü desteğini esirgemeyen kayınvalidem (annem) Gülsüm Çelebi, varlığıyla bana güç veren biricik kızım Asya ve yaşamımın her anında olduğu gibi bu zorlu süreçte de destek ve sevgisini esirgemeyen hayat arkadaşım Dr. Bilgin Çelebi'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Serpil KAYA ÇELEBİ  
Trabzon, 2014

**İÇİNDEKİLER****Sayfa No**

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>i</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>iii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>iv</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b>	<b>v</b>
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b>	<b>vi</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Periton</b>	
<b>2.1.1. Anatomisi</b>	<b>3</b>
<b>2.1.2. Histolojisi</b>	<b>4</b>
<b>2.1.3. Fizyolojisi</b>	<b>6</b>
<b>2.2. Periton Diyalizi</b>	<b>7</b>
<b>2.2.1. Tarihçesi</b>	<b>7</b>
<b>2.2.2. Kullanımı</b>	<b>8</b>
<b>2.2.3. Sürekli Periton Diyalizi</b>	<b>10</b>
<b>2.2.3.1. Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi</b>	<b>10</b>
<b>2.2.3.2. Aletli Periton Diyalizi</b>	<b>11</b>
<b>2.2.4. Periton Diyalizi Solusyonları</b>	<b>12</b>
<b>2.2.5. Periton Diyalizinin Uygulanmaması Gereken Durumlar</b>	<b>13</b>
<b>2.2.6. Çocuklarda Periton Diyalizi</b>	<b>14</b>
<b>2.2.7. Sürekli Periton Diyalizi Yapan Hastalarda Peritoneal Geçirgenliğin Değerlendirilmesi</b>	<b>16</b>
<b>2.3. Peritonit</b>	<b>18</b>
<b>2.3.1. Ortaya Çıkan Sitokinler</b>	<b>24</b>
<b>2.3.1.1. Tümör Nekrozis Faktör- Alfa</b>	<b>24</b>
<b>2.3.1.2. Transforming Growth Faktör- Beta1</b>	<b>25</b>
<b>2.3.1.3. İnterlökin-6</b>	<b>25</b>
<b>2.3.1.4. Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF)</b>	<b>25</b>
<b>2.4. Mezenkimal Kök Hücre</b>	<b>26</b>
<b>2.4.1. Mezenkimal Kök Hücre Kullanımı ve Sitokin Salınımı</b>	<b>28</b>

<b>3. MATERYAL ve METOD</b>	<b>30</b>
<b>3.1. Deney Hayvanları ve Bakım</b>	<b>30</b>
<b>3.2. Çalışma Basamakları</b>	<b>30</b>
<b>3.3. MKH' nin Hazırlanışı</b>	<b>31</b>
<b>3.4. Gruplar</b>	<b>32</b>
<b>3.5. Peritoneal Eşitleme Testi- Peritonun Alınması</b>	<b>33</b>
<b>3.6. Sitokinlerin Değerlendirilmesi</b>	<b>36</b>
<b>3.6.1. Rat TNF-<math>\alpha</math> Seviyelerinin Ölçümü Rat</b>	<b>36</b>
<b>3.6.2. Rat TGF-<math>\beta</math>1 Seviyelerinin Ölçümü</b>	<b>37</b>
<b>3.6.3. Rat Interlökin- 6 Seviyelerinin Ölçümü</b>	<b>38</b>
<b>3.6.4. Rat VEGF Seviyelerinin Ölçümü</b>	<b>39</b>
<b>3.7. Dokunun Histopatolojik Değerlendirilmesi</b>	<b>40</b>
<b>3.8. İstatistiksel Analiz</b>	<b>41</b>
<b>4. BULGULAR</b>	<b>42</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>51</b>
<b>6. SONUÇ</b>	<b>56</b>
<b>7. ÖZET</b>	<b>58</b>
<b>8. SUMMARY</b>	<b>60</b>
<b>9. KAYNAKLAR</b>	<b>62</b>

## TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 1.</b> Memelilerde Bulunan Aquaporinler	5
<b>Tablo 2.</b> Sürekli ayaktan Periton Diyalizinin Avantajları-Dezavantajları	11
<b>Tablo 3.</b> Periton Diyaliz Solusyonun İçerdiği Bileşimler ve Özellikleri	12
<b>Tablo 4.</b> Periton Diyalizinin Kontrendike Olduğu Durumlar	14
<b>Tablo 5.</b> Ülkemizde 2012 Yılı İçinde Kronik PD Programına Başlanan Pediatrik Hastaların Yaş ve Cinsiyet Dağılımı	15
<b>Tablo 6.</b> 2012 Yılı Sonu Verilerine Göre Kronik PD Programında Olan Pediatrik Hastaların Etyolojik Nedenlere Göre Dağılımı	15
<b>Tablo 7.</b> Periton Diyalizinde Membran Geçirgenliği ve Ultrafiltrasyon Arasındaki İlişki	17
<b>Tablo 8.</b> 2012 Yılı Sonu Verilerine Göre Türkiye'deki SPD Hastalarında Geçirilen Peritonit Atağı Sayısına Göre Dağılımı	18
<b>Tablo 9.</b> Peritonit Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler ve Dozları	23
<b>Tablo 10.</b> MKH lerin eksprese ettikleri ve etmedikleri yüzey belirteçleri	28
<b>Tablo 11.</b> Çalışma Grupları	30
<b>Tablo 12.</b> Gruplara Göre İşlemin Sonlandırıldığı Gün	33
<b>Tablo 13.</b> Peritoneal Geçirgenlik Skorlaması	34
<b>Tablo 14.</b> Ratların Gruplara Göre Dağılımı	42
<b>Tablo 15.</b> Sağlam Gruba Göre D kreatinin, P kreatinin ve D/P Kreatinin Oranının Değerlendirilmesi	43
<b>Tablo 16.</b> Peritonit Olup Mezenkimal Kök Hücre Tedavisi Alan Grubun D/P Kreatinin Oranına Göre Diğer Gruplarla İkili Karşılaştırılması	43

<b>Tablo 17.</b> Sağlam Gruba Göre Peritoneal Eşitleme Testindeki D1 Glukoz - D1/D0 Glukoz Oranı- Volüm- Ultrafiltrasyon Değerlendirilmesi	44
<b>Tablo 18.</b> Sağlam Gruba Göre İnflamasyon Açısından Diğer Grupların Histopatolojik Değerlendirmesi	44
<b>Tablo 19.</b> Sağlam Gruba Göre Fibrozis Açısından Diğer Grupların Histopatolojik Değerlendirmesi	45
<b>Tablo 20.</b> Sağlam Gruba Göre Vaskülarizasyon Açısından Diğer Grupların Histopatolojik Değerlendirmesi	45
<b>Tablo 21.</b> Sağlam Gruba Göre TNF- $\alpha$ Değerlendirilmesi	48
<b>Tablo 22.</b> Peritonit Olup Vankomisin Tedavisi Alan Grubun Diğer Gruplarla TNF- $\alpha$ Açısından İkili Karşılaştırılması	48
<b>Tablo 23.</b> Sağlam Gruba Göre TGF- $\beta$ 1 Değerlendirilmesi	49
<b>Tablo 24.</b> Sağlam Gruba Göre IL-6 Değerlendirilmesi	49
<b>Tablo 25.</b> Peritonit Olup Mezenkimal Kök Hücre Tedavisi Alan Grubun Diğer Gruplarla IL-6 Açısından Karşılaştırılması	49
<b>Tablo 26.</b> Sağlam Gruba Göre VEGF Değerlendirilmesi	50
<b>Tablo 27.</b> Peritonit Olup MKH Alan Grubun Diğer Gruplarla İkili Karşılaştırılması	50

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Şekil 1.</b> Periton Yapısı	3
<b>Şekil 2.</b> Mezotel Hücreleri	4
<b>Şekil 3.</b> Kapiller Endotel - Periton Arası Geçiş	7
<b>Şekil 4.</b> Periton Diyalizinin Şematik Anlatımı	8
<b>Şekil 5.</b> Kateter Çeşitleri	9
<b>Şekil 6.</b> Kateterin Yerleştirilmesi	10
<b>Şekil 7.</b> Peritonit Etkenleri	19
<b>Şekil 8.</b> Bölgelere Göre Peritonit Kültürlerinin Sonuçları	19
<b>Şekil 9.</b> Peritonit Tedavisinin Başlanması	22
<b>Şekil 10.</b> Mezenkimal Kök Hücre	26
<b>Şekil- 11</b> Mezenkimal Kök Hücrenin Diğer Hücrelere Dönüşümü	27
<b>Şekil 12.</b> Kanser Tedavisinde MKH'nin Pozitif ve Negatif Etkileri	29
<b>Şekil 13.</b> Rat Mezenkimal Kök Hücrelerin Kültür Kabında 3, 7 Ve 15. Günlerdeki Mikroskopik Görünümü	32



**RESİMLER DİZİNİ**

<b>Resim 1.</b> İntraperitoneal Diyaliz Solusyonu Verilmesi	35
<b>Resim 2.</b> PET Sırasında Diyaliz Solusyonunun Boşaltılması	35
<b>Resim 3.</b> Periton Dokusunun Ayrılması	36
<b>Resim 4-</b> Makroskopik Olarak Periton Dokusu	36
<b>Resim 5.</b> S1 , B: P1 Gruplarında Periton Dokusunun Histopatolojik Görünümü	46
<b>Resim 6.</b> Periton Dokusunda Vaskülarizasyon	47

**GRAFİKLER DİZİNİ**

<b>Grafik 1.</b> Periton Sıvısında TNF- $\alpha$ Değerlendirilmesi	37
<b>Grafik 2.</b> Periton Sıvısında TGF- $\beta$ 1 Değerlendirilmesi	38
<b>Grafik 3.</b> Periton Sıvısında IL- 6 Değerlendirilmesi	39
<b>Grafik 4.</b> Periton Sıvısında VEGF Değerlendirilmesi	40

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Peritonit sürekli periton diyalizi (SPD) hastalarında hastaneye yatışın en sık sebebi olup bu hastalarda hastaneye yatışın %34.3'ünü oluşturmaktadır (1). SPD hastalarında peritonit peritoneal sıvı içerisinde milimetreküpte 100'ün üzerinde beyaz küre ve bunun %50'den fazlasının polimorfonüveli lökosit olması şeklinde tanımlanır (2). En sık izole edilen etken koagülaz negatif stafülakoklardır (3).

Periton diyalizi (PD) 1970'li yıllarda son dönem böbrek yetmezliğinde hemodiyalize alternatif bir yöntem olarak kullanılmaya başlanmıştır (4). SPD hastalarında hemodiyalize göre sıvı yüklenmesi daha azdır. Kan basıncı kontrolü bu hastalarda daha iyi olmaktadır. İşlem hasta tarafından gerçekleştirilir ve günlük uygulama gerektirmektedir. Ancak bu hastalarda periton diyalizi ile protein kaybedilir. En önemlisi de enfeksiyon riski söz konusudur. Tekrarlayan peritonit atakları periton üzerinde fibrozise yol açabilir. Bu durumda etkin bir periton diyalizi yapılamamakta, başka bir renal replasman tedavisine (RRT) geçmek zorunda kalılabilmektedir.

Geçmişte oluşan peritonitler nedeniyle meydana gelen inflamasyon ve fibrozisin engellenmesi için bir çok deneysel çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda heparin, antitrombin-3 ve oktreotid gibi ajanlar kullanılmıştır (5, 6).

Mezenkimal kök hücre (MKH); kemik, kas, kıkırdak, tendon ve yağ hücrelerine dönüşebilme özelliği olan birçok dokuda bulunmakla birlikte özellikle kemik iliğinde bulunan ve hematopoetik hücrelerin stromaya tutunmasını sağlayan hücredir (7). Çeşitli salgısal faktörler salarak (makrofaj koloni stimüle faktör, kök hücre faktör, vb) hematopoetik hücrelerin olgun hücreye farklılaşmasını sağlar. Yine salgısal faktörler aracılığı ile meydana getirdiği inhibisyon ile kök hücrenin G0 fazında kalarak kök hücre rezervi oluşturabilmektedir. Aynı hücrenin yeniden hücre siklusuna girip kendini yenilemesi de söz konusudur. Bir başka özelliği de lüzum halinde buldukları nişlerden başka dokulara migrasyon yapabilmeleridir (8, 9).

Mezenkimal kök hücreler dental pulpa yapımında, ortopedide menisküs operasyonlarında, graft versus host hastalığında, akut miyokard infarktüsü, akut spinal

kord hasarında, ensefalomyelitte, crohn hastalığı ve SLE gibi otoimmün hastalıklarda, metakromatik lökodistrofi gibi kalıtsal metabolik hastalıklarda, plastik cerrahide kozmetik amaçlı yumuşak dokuyu doldurmak için kullanılabileceğini gösteren klinik çalışmalar vardır (10). Enzim sentezleyebilme özellikleri olup kalıtsal enzim defektlerinde de kullanılabilmektedir (11). Bu kök hücrelerin immunojenitesi düşük olup sentezledikleri solubl faktörler nedeni ile immunsupresif etkileri vardır. HLA-DR ve ko-stimulatör ekspresyonları olmaması nedeniyle farklı kişi ve deneklerde kullanılabilirler (12). T-lenfosit aktivasyonu ve alloreaktif reaksiyonları önleme özellikleri vardır. Aktive B-lenfositleri inhibe ederler. Böylece alloreaktif reaksiyonları önlerler.

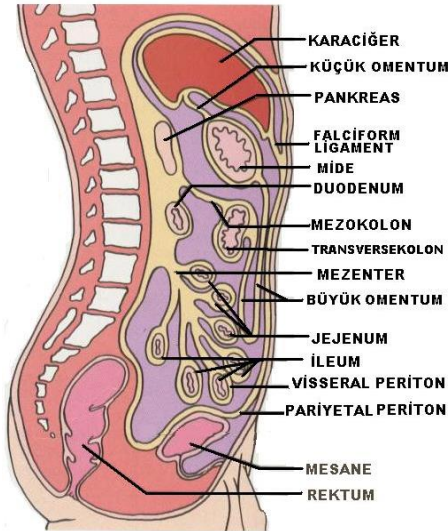
Bu çalışma MKH'ın hasarlı dokuda onarım özelliği ile peritonite bağlı gelişen inflamasyon ve fibrozisi engelleyip engellemeyeceğini araştırmak amacıyla gerçekleştirildi. Böylece SPD hastalarında tekrarlayan peritonit atakları sonucu oluşan fibrozisin engellenmesi ve etkin periton diyalizine devam edilmesine katkı sağlayıp sağlamayacağı konusunda açıklık getirmesi amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 PERİTON

#### 2.1.1. Anatomisi

Periton karın iç duvarını ve karın içerisindeki organları çevreleyen seröz zar tabakasıdır. Embriyonel yaşamın üçüncü haftasında orta hattın her iki yanında yarıklar meydana gelir. Bu yarıkların birleşmesi sonucu somatik ve splanik mezoderm ile çevrelenmiş vücut boşluğu oluşur. Boşluk torasik bölgeden pelvik bölgeye kadar uzanım gösterir. Boşluğun karın iç duvarı ile pelvik boşluğu döşeyen ve somatik mezodermden köken alan kısmına pariyetal periton (peritoneum parietale), organların çevresini döşeyen splanik mezodermden köken alan kısmına ise visseral periton (peritoneum viscerale) denilmektedir (13) (Şekil 1).



Şekil 1. Periton Yapısı

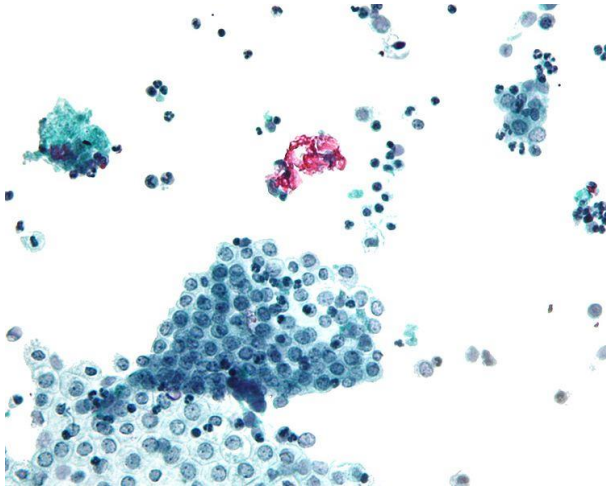
Karın ön duvarı karaciğerin umblikus ve transvers fasiaya bağlandığı ligamentler ile karaciğerin posterior rektus kılıfına bağlandığı yer haricinde tamamen pariyetal periton ile döşelidir. Karın arka duvarında ise apendiks mezosu, transvers ve sigmoid kolon ile pariyetal periton kesintiye uğramaktadır. Diyafram kısmına bakıldığında ise pariyetal periton karaciğerin koroner, falsiform ve gastrofrenik ligamentleri ile kesintiye uğrar.

Periton boşluğu erkeklerde kapalı bir kese iken bayanlarda fallop tüpü serozası ile devam eder (14).

Visseral periton iki organı ard arda sararken iki yaprağının sırt sırta gelmesi ile duplikatörler oluşmaktadır. Bu duplikatörlere omentum denilmektedir (13). Omentum karın içi enfeksiyonlarda, bünyesinde bulundurduğu makrofaj ve lenfositler aracılığıyla savunmada görev alır (15). Periton içerisinde tekrarlayan travma, enfeksiyonlar veya iskemi durumlarında ise omentumda ve peritonda yapışıklıklar oluşur. Bu da omentumun görevini başarılı olarak yerine getirmesine engel olur.

### 2.1.2. Histolojisi

Periton; yüzeyinde tek sıralı epitel hücreleri olan mezotel hücreleri ile interstisyum denilen ve mezotel hücreleri altında yer alan ekstrasellüler sıvı, bağ dokusu, kan damarları ve lenfatik dolaşımı içeren iki kısımdan oluşur (16) (Şekil 2).



**Şekil 2.** Mezotel Hücreleri

Mezotel tabakanın kalınlığı 0.5  $\mu\text{m}$  kadardır. Mezotel hücreleri sitoplazmik uzantılar olarak adlandırılan ve yüzey alanını genişleten mikrovilluslar içerir. Bu mikrovilluslar sayesinde sıvının emilimi sağlanır. Aynı zamanda tip II pnömositler gibi fosfatidilkolin sentezlerler. Böylece yüzey gerilimi azalır (17).

Peritoneal hücre membranı iki katlı lipit tabaka ve bu tabaka üzerinde bulunan protein ve karbonhidrat bileşiminden oluşmaktadır. Membran üzerinde yer alan protein yapılar su ve bazı solütlerin transportunda görev alırlar. Bu transmembran proteinlere aquaporin (AQP) denilmektedir. İlk olarak 1988 yılında Denker ve arkadaşları (18) tarafından insan eritrosit membranında tanımlanmıştır. Aquaporinler farklı büyüklüklerde olup 28-30 kDa kadardır. Üre, gliserol gibi maddelerin taşınmasında görev alırlar. Yüzden fazla çeşidi olup memelilerde oniki adet tanımlanmıştır (19). Aquaporinler başlıca üç sınıfa ayrılırlar: birincisi suya selektif aquaporinler, ikincisi su, üre, gliserol ve diğer solutlerin geçişini sağlayan aquagliseroporinler ve üçüncüsü de süperaquaporinlerdir (20) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Memelilerde Bulunan Aquaporinler

<b>Su Selektif Olanlar</b>	<b>Aquagliseroporinler</b>	<b>Süperaquaporinler</b>
AQP 0	AQP 3	AQP 11
AQP 1	AQP 7	AQP 12
AQP 2	AQP 9	
AQP 4	AQP 10	
AQP 5		
AQP 6		
AQP 8		

Memeli lensinde AQP-0 bulunmaktadır. Gözün mikrosirkülasyonunda görev alır. AQP-1'e göre daha az miktarda suyun geçişini sağlar. AQP-1; ilk olarak insan eritrositinde tanımlanmış olup beyin, akciğer, böbrek proksimal tubuluslerinde de izole edilmiştir. Suyun rezorpsiyonu ve sekresyonunda görev alır. AQP-2; böbrekte bulunmaktadır. Mutasyonu sonucu diabetes insipidus ortaya çıkmaktadır. Geni 12. kromozomun kısa kolunda tanımlanmıştır. Ayrıca kulağın endolenfatik drenajında da rol alır. Aynı zamanda rete testis ve epididimde de bulunmaktadır. Sadece suyun geçişinde görevlidir. AQP-3 sindirim, solunum ve üriner sistem ile cilt ve gözde tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda gliserol, etilen glikol, propilen glikol, asetamid gibi maddeleri taşıdığı gösterilmiştir (21). AQP-4 santral sinir sisteminde su dengesinde görevlidir. Serebral iskemide, santral tümörlerde, beyin hasarında, enfeksiyöz ve inflamatuvar durumlarda meydana gelebilecek ödem azaltmak amacıyla miktarı artmaktadır (22). AQP-5 başlıca solunum sisteminde yer almakla birlikte tükürük ve gözyaşı bezleri ile gastrointestinal sistemin sıvı sekresyonunda görev almaktadır (23). AQP-6 böbrekte toplayıcı kanalların interkaler hücrelerinde klor

iyonunun geçişinde görevlidir (24). AQP-7 suyun ve gliserolün böbrek proksimal kanallarında, adipoz dokuda ve testislerde geçişini sağlar. AQP-8 suyun karaciğer, barsak, tükrük bezleri, testis ve kalpte geçişinde görev alır. AQP-9 karaciğer, testis, beyaz küre ve beyinde su ve küçük solutlerin geçişinde görevlidir. AQP-10 ince barsaklarda suyun ve gliserolün geçişini sağlarken AQP-11 başlıca böbrek ve karaciğerde, AQP-12 ise pankreas asiner hücrelerinde bulunup yeni tanımlanmıştır. AQP-11 ve AQP-12 aquaporinlerin alt sınıfı olup süperaquaporinler olarak isimlendirilir. Tam olarak işlevi bilinmemekle birlikte üre gliserol gibi maddelerden daha küçük solutlerin geçişinde görev aldığı düşünülmektedir (23).

Mezotel hücrelerinde bu anlatılan aquaporinlerden ikisi tanımlanmıştır. Lai ve arkadaşları (25,26) tarafından 2001 yılında suyun geçişinde etkin olan AQP-1 tanımlanmış olup üre, gliserol gibi küçük moleküllerin geçişini de AQP-3 sağlamaktadır.

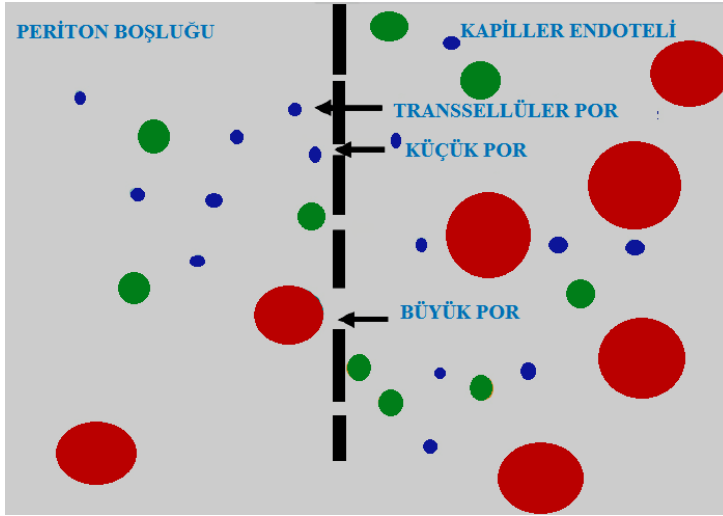
Periton yüzey alanı cilt yüzey alanına hemen hemen eşittir. Oransal olarak bakıldığında çocuklarda yetişkinlere göre daha büyük bir periton alanı vardır (27). Çocuklarda periton yüzey alanı/vücut ağırlığı oranı yetişkinlere göre oldukça fazladır. Bir yenidoğanın ağırlığı yetişkin ağırlığının %4'ü, periton alanı ise yetişkin periton alanının %14'ü kadardır.

### **2.1.3. Fizyolojisi**

Periton heterojen yarı geçirgen bir membrandır. Bu membrandan solut maddelerin geçişinde direnç gösteren bazı faktörler vardır. Bunlar kapillerlerden periton boşluğuna doğru sırasıyla kapiller endoteli, endotel bazal membranı, interstisyum tabakası ve mezotel hücrelidir. Üç por modeline göre geçişte asıl direnci gösteren kapiller endoteli ve endotel bazal membrandır. Solut maddelerin ve suyun periton zarı-kapillerler arası geçişi üç farklı yol ile olur. Birincisi 100-200 Angström (A) çapında olan ve geniş por olarak adlandırılan transport kanalları olup tüm gözeneklerin % 0.1 den azını oluşturur. Bunlar endotel hücreleri arasında bulunurlar ve makromoleküllerin taşınmasında görev alırlar. İkincisi 40-50 A çapında olan ve küçük por olarak da adlandırılan daha fazla sayıda olan küçük solutlerin ve suyun taşınmasında görev alır. Sonuncusu da ultra-küçük ya da transsellüler por olarak da adlandırılan aquaporinlerdir. AQP-1 periton kapiller endotel hücresinde



bulunur ve sadece suyun geçişini sağlarken AQP-3'te üre ve gliserolün geçişini sağlamaktadır (25, 26, 28) (Şekil 3).



Şekil 3. Kapiller Endotel - Periton Arası Geçiş

Periton, karın duvarı ile karın içi organlar arasında düzgün bir temas yüzeyi oluşturur (29). Sağlıklı bir kişide periton boşluğu içerisinde az miktarda sıvı bulunur. Sıvı döngüsü sağlıklı bir erişkinde günde ortalama 1 litre kadardır. Buradaki filtrasyon ve emilim sabit ve eşit hızda olmaktadır (30).

Periton içerisine verilen solusyonların emilim hızı, kullanılan mevcut solusyon içerisindeki osmotik basınca göre değişkenlik göstermektedir (31). Solut maddeler için transport, konsantrasyonun fazla olduğu taraftan düşük olan tarafa doğrudur. Sonuçta her iki tarafta mevcut solut maddeler konsantrasyonu eşitlenince transport işlemi durur. Buna eşitlenme (denge) denir. Solusyon osmolalitesi yükseldikçe eşitlenme süresi de uzamaktadır.

## 2.2 PERİTON DİYALİZİ

### 2.2.1. Periton Diyalizi Tarihçesi

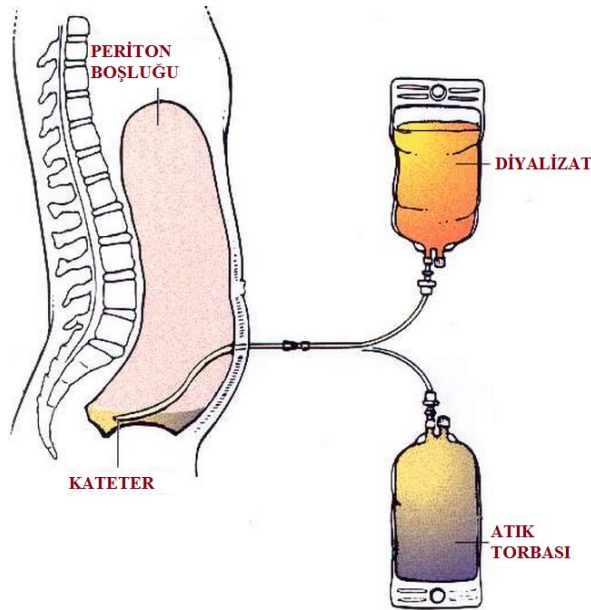
Periton kelimesi Yunanca etrafını sarmak anlamına gelen “peritonaion” dan gelmektedir. Tarihe bakıldığında mevcut bilgiler milattan önce 1500’lü yıllara dayanır. Ancak hem makroskopik hem de mikroskopik olarak tanımlanması 1862’de Van Recklinghausen tarafından olmuştur. Yine Wegner (32) periton içerisine verilen sıvının

sıcaklığı ile vücut sıcaklığının, içerdiği glukoz konsantrasyonu ile de peritondan alınan sıvı miktarının değiştiğini göstermiştir. Böylece peritonda bir osmotik ultrafiltrasyon olduğu vurgulanmıştır. Putnam (33) tarafından 1922’de periton sıvısı - plazma arasında aktif transporta göre pasif transportun daha etkin olduğu bir osmotik dengenin varlığı öne sürülmüştür.

Tarihte ağızdan alımın mümkün olmadığı ağır dehidratasyonlu olgularda intraperitoneal yolla sıvı verilmesi ileriki dönemde intraperitoneal yolla tedavi yapılabileceğini akla getirmiştir. Ganter (32) renal yetmezlikli hastaların periton içerisine sıvı alıp verme ile tedavi edilebileceğini öngörmüş ve ilk olarak obstrüktif üropatili bir olgunun tedavisinde bu işlemi uygulamıştır. Yine Grollman (34, 35) böbrek fonksiyon testleri bozuk olgularda periton diyalizinin kullanılabileceğini göstermiştir. Bunu takiben 1960’ lı yıllarda kalıcı kateterlerin üretilmesi ve ilerleyen yıllarda otomatik periton diyaliz makinalarının kullanılmaya başlanmasıyla periton diyalizine olan ilgi artmıştır (32).

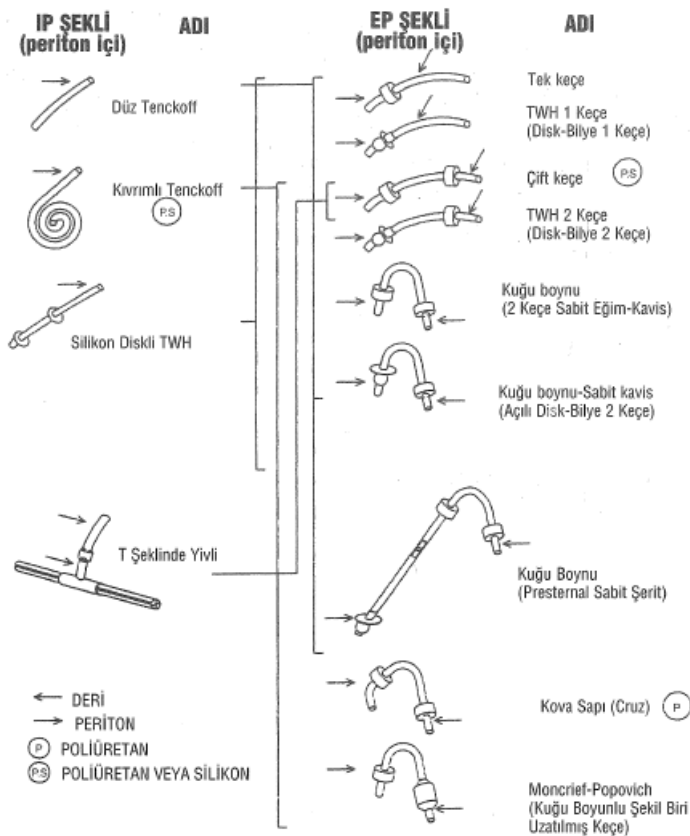
### 2.2.2. Kullanımı

Böbrek yetmezliği olan olgularda RRT’de periton diyalizi kullanılmaktadır. Bu yöntemin üç ana bileşeni bulunmaktadır. Bunlar solusyon, periton kateteri, transfer setten oluşmaktadır (36). Periton diyalizi sağlam bir böbreğin bazı görevlerini taklit eder. Bu işlem için diyalizat, periton zarı ve periton boşluğu kullanılmaktadır (Şekil 4).

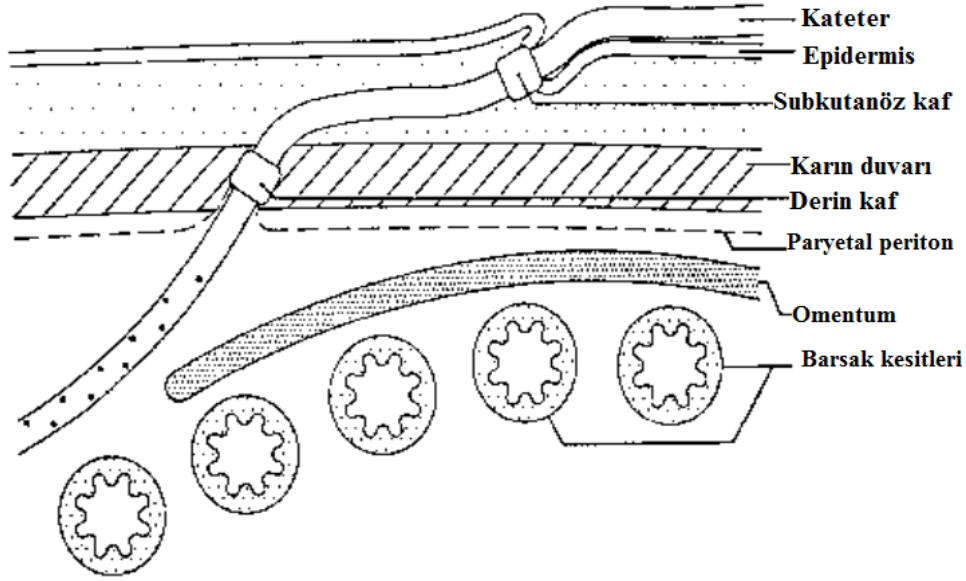


Şekil 4. Periton Diyalizinin Şematik Anlatımı

Kalıcı periton diyalizi kateterleri; kullanılan materyale, kateterin intraperitoneal ve ekstraperitoneal yapısına, içerdikleri keçe sayısına göre isimlendirilir. Bunların ortak özelliklerine bakıldığında tüm kateterler yumuşak olup intraperitoneal kısımda 1 mm'lik birden çok delik vardır ve kalıcı tüm kateterler "Dacron kaf" adı verilen keçe içermektedir. Keçelerin konulma amacı kateteri sabitlemektir. Bu keçeler aynı zamanda fibroblast proliferasyonuna neden olurlar ve böylece mikroorganizmalar için bir bariyer oluştururlar. Kateterler intraperitoneal yapısına göre düz Tenckhoff ve kıvrımlı (curled) Tenckhoff kateter olarak isimlendirilir. Düz Tenckhoff kateterlerinde sıvı akışı daha iyi olmaktadır. Ancak erken dönemde omentumun kateteri rahatça çevrelemesi ile direnaj yetersiz olabilmektedir. Bu nedenle intraperitoneal kısmı helezon yapıda olan kıvrımlı (curled) Tenckhoff kateterler kullanıma girmiştir. Bu kateter tipinde de direnaj hızı kıvrımlı olması nedeniyle daha yavaş olmaktadır. Yine kateterler ekstraperitoneal duruş şekline göre düz ve kuğu boynu (Swan-Neck) olarak ikiye ayrılır. Kuğu boynu (Swan-Neck) kateterin cilt altı dokuda bulunan iki keçesi arasında oluşturulmuş 150 ° lik bir açı bulunur. Böylece kateter bükük durmaktadır (Şekil 5). Kateterin ucu aşağı ve laterale doğru olur (37). Peritona kateter yerleştirilirken yeterli drenajın sağlanması için kateter ucunun pelvise yerleştirilmesi önerilmektedir (Şekil 6).



Şekil 5. Kateter Çeşitleri



**Şekil 6.** Kateterin Yerleştirilmesi

Diyalizat verildikten sonra kan içerisinde mevcut olan üremik toksinler diyalizat yönünde hareket eder ve kan ile diyalizat arasında toksinlerin yoğunluğu eşitlendiği zaman bu difüzyon sona erer. Bu işlem sırasında kullanılan diyalizatın glukoz yüzdesi ne kadar yüksek olursa o kadar sıvı diyalizat kısma geçer. Sonuç olarak ultrafiltrasyon sağlanmış olur. Ultrafiltrasyon diyalizin başlangıç döneminde daha hızlı olur. Zamanla bu hız osmotik farkın azalması nedeniyle düşer (38).

### 2.2.3. Sürekli Periton Diyalizi

Sürekli periton diyalizi iki şekilde yapılmaktadır. Birincisi sürekli ayakta periton diyalizi (SAPD), ikincisi ise aletli periton diyalizi (APD) dir.

#### 2.2.3.1. Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi

Sürekli ayakta periton diyalizi ilk olarak 1976 yılında Popovich ve arkadaşları (4) tarafından geliştirilmiştir. Bu modelde karın içerisinde devamlı diyalizat bulunmaktadır. Diyalizat ve kan arası dengelenme mevcut solutlerin molekül ağırlığına göre değişir. Molekül ağırlığı daha büyük olan solutün transperitoneal eşitlenmesi daha uzun sürede olur. Gündelik yaşamda kronik böbrek yetmezliği hastalarının SAPD'yi kullanmasının hemodiyalize göre avantajları olabildiği gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Sürekli Ayaktan Periton Diyalizinin Hemodiyalize Göre Avantajları-Dezavantajları

<b>Avantajları</b>	<b>Dezavantajları</b>
Sıvı yüklenmesi az	Enfeksiyon riski
Kan basıncı kontrolü iyi	Hergün uygulamanın yıldırıcılığı
Hasta tarafından işlem gerçekleştirilebilmekte	Protein kaybı
Diyet ve sıvı kısıtlaması hemodiyalize göre daha az	Herni gelişimi
Hemodiyalize kıyasla daha az anemi	

Periton diyalizinin dezavantajları arasında enfeksiyon riski en ön plandadır. Bu nedenle enfeksiyon riskini azaltmak amacıyla diyalizat-kateter-atık torbası arasında “Y tipi” olarak adlandırılan bağlantı kullanılmaktadır. Hastalar diyaliz işlemi sırasında öncelikle karın içerisindeki sıvıyı boşalttıktan sonra atık torbası ile kateter arasındaki bağlantıyı klempler ve yeni diyalizat ile periton boşluğunu doldurma işlemine geçerler. Böylece yeni diyalizat ile karından boşaltılan diyalizat arasındaki ilişki kesilmiş olur. Bu şekilde yapılan çalışmalarda düz bağlantılı, çift torbalı periton diyalizine göre yıllık peritonit riskinin azaldığı görülmüştür (39).

Sürekli ayaktan periton diyalizinin tekniği üç basamaktan oluşur. Birinci basamak dolum basamağıdır. Burada 30-50 ml/kg olacak şekilde karın içi boşluk diyaliz sıvısı ile doldurulur. İkinci basamak bekletmedir. Verilen sıvının karın içerisinde yaklaşık 4-6 saat bekletilir. Son basamak ise direnajaştır. Mevcut periton içerisindeki sıvı yaklaşık 15-20 dakikada boşaltılır.

### **2.2.3.2. Aletli Periton Diyalizi**

Aletli periton diyalizi SAPD’de hastanın aktif olduğu gündüz saatlerinde çok değişim yapılması (günde 4 kez), her değişimde yeniden bağlantı kurulması ve yüksek peritonit oranları nedeniyle ilk olarak Boen ve arkadaşları (40) tarafından 1960’lı yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. APD’de hastanın istirahat döneminde periton içi sıvı değişimleri yapılmaktadır. Hasta istirahat saatlerinde APD cihazına bağlanır ve sabah cihazdan ayrılır. Hastanın gün boyu rahat hareket etmesine olanak sağlar (41). SAPD’ye göre daha fazla miktarda diyalizat kullanılır. APD’nin sürekli siklik (CCPD), nokturnal

aralıklı (NPD), tidal (TPD), sürekli akımlı (CFPD) olmak üzere birden çok çeşidi bulunmaktadır (42).

Sürekli siklik periton diyalizi; belirli aralıklarla periton boşluğundaki sıvı değiştirilerek periton diyalizi yapılır. On saat içerisinde toplam 3-5 kez işlem tekrarlanır. Gündüz karın dolu kalır. NPD sadece gece yapılır. Gündüz karın boş kalır. Değişim daha sık aralıklarla yapılır. İşlem 20-60 dakikada bir yapılmaktadır. TPD, NPD'ye çok benzer. Periton içerisindeki sıvının yarısı etkinliği artırmak amacıyla peritonda kalır. CFPD ise aynı anda periton boşluğuna sıvı verilir ve alınır (43).

Aletli periton diyalizi ile SAPD arasında peritonit sıklığı açısından karşılaştırıldığında bazı çalışmalarda SAPD' de risk daha fazla iken bazı çalışmalarda riskin hemen hemen eşit olduğu saptanmıştır (32).

#### 2.2.4. Periton Diyalizi Solusyonları

Periton diyaliz solusyonları ilk olarak 1744 yılında Warrick (32) tarafından asit tedavisinde uygulanmıştır. Sonraki yıllarda sıvı içeriği olarak serum fizyolojik denenmiş olup Heusser tarafından verilen sıvının içerisine dekstroz katılması ile ultrafiltrasyonun gerçekleştirilebileceği ortaya konulmuştur (44). Tablo 3'de, günümüzde periton diyalizi solusyonlarının içerdiği bileşimler ve özellikleri verilmiştir.

**Tablo 3.** Periton Diyaliz Solusyonun İçerdiği Bileşimler ve Özellikleri

İçerik	Miktar
Glukoz	%1.36- 4.25
Sodyum	131-141 mEq/L
Potasyum	0
Magnezyum	0.5- 1.5 mEq/L
Kalsiyum	5-8 mmol/L
Laktat	35-40 mEq/L
Bikarbonat	34-39 mEq /L
Osmolarite	340- 512 mOsm/kg
pH	5.5

Periton yüzey alanı çocuklarda erişkinlere oranla daha büyüktür (27). Diyaliz sırasında değişim hacmi 30-50 ml/kg ya da 800-1400 ml/m<sup>2</sup> şeklinde hesaplanarak verilir (45). Değişim hacmi ne kadar yüksek olursa diyaliz o kadar etkin ancak karın içi basınç da o kadar yüksek olmaktadır. Bu durumda solunum sıkıntısı, karın ağrısı, herni, gastroözefajiyal reflü, hidrotoraks, artmış lenfatik direnç ve buna bağlı azalmış ultrafiltrasyon meydana gelebilir. Karın ağrısı özellikle değişim hacmi 1400 ml/m<sup>2</sup> 'nin üzerine çıkarsa ortaya çıkabilmektedir (46). Bu nedenle diyaliz sırasında değişim hacminin 1400 ml/m<sup>2</sup> 'nin üzerine çıkması önerilmemektedir.

Diyaliz solusyonunun içerdiği glukoz konsantrasyonuna göre ultrafiltrasyonda değişkenlik görülmektedir. Örneğin 1,36'lık diyaliz solusyonunda ultrafiltrasyon 1.0- 1.2 ml/dk iken 3,86'lık diyaliz solusyonunda bu değer 3.0- 3.5 ml/dk'ya çıkmaktadır.

Periton diyaliz solusyonları periton için irritandır. Zamanla mezotel hücrelerini uyararak vasküler endotelial growth faktör (VEGF) ve transforming growth faktör-beta1 (TGF-  $\beta$ 1) düzeyini artırır (47, 48). Bu sitokinler de peritonda mikrovaskülarizasyona ve periton membranında kalınlaşmaya neden olur (49). Bu da peritoneal fonksiyonlarda kayıp ve ultrafiltrasyon yetmezliği ile sonuçlanır. Bunun nedeni uzun dönem yüksek glukoz konsantrasyonlu diyalizatlarla periton diyalizi yapılması sonucunda glukoz yıkım ürünleri (glucose degradation products- GDPs) oluşması ve bunun periton üzerinde birikip toksik etki meydana getirmesidir. Bu etki ile ileri glikolizasyon ürünleri (advanced glycation products- AGEs) artar. Diyalizatın sterilizasyonu sırasında da AGE oluşumu hızlanır. Diyalizat içerisine katılan bikarbonat AGE oluşumunu azaltmaktadır. Bikarbonat yerine kullanılan laktat makrofaj fonksiyonlarını bozar. Bu durum ise periton fonksiyonlarının bozulmasına neden olur. Ultrafiltrasyonda yetersizlik meydana gelir. Bu nedenle nötral pH'lı solusyonlar kullanılmaya başlanmıştır. Bu solusyonların ortamdaki AGE miktarını düşürdüğü, sonuçta peritoneal fibrozisi azalttığı gösterilmiştir (50).

### **2.2.5. Periton Diyalizinin Uygulanmaması Gereken Durumlar**

Renal replasman tedavisi olarak periton diyalizi önerilmekle birlikte bazı durumlarda yapılması kontrendikedir (51). Bu durumlar Tablo 4'te belirtilmiştir.

**Tablo 4.** Periton Diyalizinin Kontrendike Olduğu Durumlar

<b>Kesin</b>	<b>Kısmi</b>
Omfalozel	Diyaliz için uygun olmayan yaşam
Gastroşizis	Uygun bakımı verebilecek ebeveynin olmaması
Mesane ekstrofisi	6 ay içerisinde geçirmiş karın içi operasyon
Diyafragma hernisi	6 ay içerisinde böbrek tranplantasyonu planlanan vakalar
Periton zarı yetmezliği	
İnflamatuvar barsak hastalığı	
Yetersiz abdominal boşluk	

### 2.2.6. Çocuklarda Periton Diyalizi

Çocuklarda sürekli ayaktan periton diyalizi ilk olarak 1978 yılında Toronto’da uygulanmıştır (52). PD’ nin kullanım alanlarına bakıldığında akut böbrek yetmezliği, semptomatik tedaviye yanıt alınamayan hipervolemi, elektrolit dengesizliği, asit-baz dengesi bozukluğu, metabolik hastalıklar ve son dönem böbrek yetmezliği sayılabilir (53). Son dönem böbrek yetmezlikli çocuklarda kreatinin klerensi 10 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> ’nin altında büyüme gelişmenin sağlanması için RRT’ye başlanır (53).

Renal replasman tedavisi yöntemleri hemodiyaliz, periton diyalizi ve renal transplantasyondur. Türk Nefroloji Derneğinin 2012 verilerine göre Türkiye’deki prevalansa bakıldığında tüm nüfusta toplam 61677 hastaya RRT uygulanmaktadır. Bunların 48900’ü (%79.28) hemodiyaliz, 4777’si (%7.75) periton diyalizi programında olup, 8000’ine (%12.97) renal transplantasyon uygulanmıştır. Pediatrik grup değerlendirildiğinde ise periton diyalizi hemodiyalize göre daha fazla yapılmaktadır. Türkiye’de 2012 yılı sonu itibariyle toplam 569 çocuk kronik hemodiyaliz programında iken aynı yıl içinde 1466 çocuk kronik periton diyalizi programında olup toplam 62 hastaya da renal transplantasyon uygulanmıştır (54). Türkiye’de 2012 yılı verilerine göre kronik periton diyalizi uygulanan pediatrik hastaların 136’sı (%47.06) SAPD yaparken, 153’ü (%52.94) APD yapmaktadır. Tablo 5’te son verilere göre Türkiye’de kronik PD hastaların yaş ve cinsiyet dağılımı verilmiştir (54).



**Tablo 5.** Ülkemizde 2012 Yılı İçinde Kronik PD Programına Başlanan Pediatrik Hastaların Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

<b>Yaş aralığı</b>	<b>Erkek n (%)</b>	<b>Kız n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
0-2 yaş	12 (4.67)	2 (0.78)	14 (5.45)
2-6 yaş	17 (6.61)	15 (5.84)	32 (12.45)
6-10 yaş	32 (12.45)	16 (6.23)	48 (18.68)
10-15 yaş	53 (20.62)	43 (16.73)	96 (37.35)
15-18 yaş	39 (15.17)	18 (7.00)	57 (22.18)
>18	5 (1.95)	5 (1.95)	10 (3.89)
<b>Toplam</b>	<b>158 (61.47)</b>	<b>99 (38.53)</b>	<b>257 (100.00)</b>

Türkiye’de 2012 verilerine göre kronik PD programında olan hastaların etyolojik nedenlerine bakıldığında %14.67 ile birinci sırada glomerulonefrit gelmektedir (54) (Tablo 6).

**Tablo 6.** 2012 Yılı Sonu Verilerine Göre Kronik PD Programında Olan Pediatrik Hastaların Etiyolojik Nedenlere Göre Dağılımı

<b>Etiyoloji</b>	<b>%</b>
Glomerulonefrit	14.67
Polikistik böbrek hastalığı	3.86
Hipertansiyon	1.54
Amiloidoz	1.54
Tübülointerstisyel nefrit	0.67
Renovasküler hastalık	0.39
Diğer	68.73
Etiyolojisi bilinmeyen	8.49
<b>Toplam</b>	<b>100.00</b>

Çocuklarda peritonun fonksiyonel etkinliği yaş küçüldükçe artmakta olup yetişkinlere göre peritonun solüt yük ve protein geçirgenliği daha fazladır (55).

### 2.2.7. Sürekli Periton Diyalizi Yapan Hastalarda Peritoneal Geçirgenliğin Değerlendirilmesi

Periton diyalizi yapan bir kişide mortaliteyi etkileyen en önemli faktör yetersiz diyalizdir. Peritoneal eşitleme testi (PET), yapılan diyalizin etkili bir şekilde yapıp yapılmadığını göstermekte kullanılan etkin bir metoddur. İlk olarak Twardowski ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (56). Burada amaç solut maddenin klirensini ve ultrafiltrasyonu değerlendirmektir. Membran geçirgenliği ne kadar fazla ise o kadar az miktarda ultrafiltrasyon yapılırken o kadar fazla solut madde klirensi sağlanır. Geçirgenlik azaldıkça ultrafiltrasyon artar, solut madde klirensi ise azalır.

Peritoneal eşitleme testinde kreatinin ve glukoz primer solut maddelerdir. Klasik PET’te gece 12.00’de oturur pozisyonda karın içerisindeki sıvı boşaltıldıktan sonra yatar pozisyonda 2.27’lik diyalizat ile 10 dakikada karın boşluğu doldurulur. Sabah saat 09.00 0. saat kabul edilir. Karın içi sıvı boşaltılıp yerine 1,36’lık diyalizat ile doldurulur. Boşaltılan sıvıdan 10 ml kadar numune ayrılır (PET 1). İki saat sonra (saat 11.00) karın boşaltılmadan diyalizattan ikinci numune alınır (PET 2). Eş zamanlı kan alınarak serum ayrılır (PET KAN). Son olarak saat 13.00 te (4. saat) oturur pozisyonda 20 dakikada karın içi sıvı boşaltılıp 10 ml numune ayrılır (PET 3). Boşaltılan toplam sıvı miktarı (alınan numune miktarları dahil edilmek üzere) kaydedilir. Alınan üç tüp diyalizat ve serumdan (PET 1, PET 2, PET 3 ve PET KAN) kreatinin ve glukoz çalışılmak üzere laboratuvara gönderilir. Burada kreatinin için diyalizat/ plazma oranlarına bakılır (D/P kreatinin). Bu oran 0.40’ın altında kötü, 0.41-0.6’nın arası orta, 0.61-0.80 arası iyi, 0.81’ in üzerinde ise periton geçirgenliği için çok iyi denilmektedir (57). Diyalizattaki glukoz konsantrasyonu ise başlangıç diyalizat glukoz değerine oranlanarak değerlendirme yapılır (Dt/D0). Yüksek transport varsa (periton geçirgenliği çok iyi ise) bu hastalar iyi kreatinin kleresine sahiptirler. Ancak osmotik basınç diğerlerine göre daha çabuk bozulacağından ultrafiltrasyon yetersiz kalmaktadır. Bu da sık ve kısa süreli değişimi gerektirir. İyi periton geçirgenliğine sahip hastalarda rezidüel böbrek fonksiyonları kaybolsa bile orta dereceli glukoz konsantrasyonlu diyaliz solusyonları ile yeterli ultrafiltrasyonları sağlanmaktadır. Orta periton geçirgenliğine sahip hastaların etkin periton diyalizi yapabilmeleri için yüksek periton yüzey alanına ihtiyaçları bulunmaktadır. Bu hastalarda ultrafiltrasyon etkin olabilmektedir. Kötü bir periton geçirgenliğine sahip hastanın ise peritoneal kreatinin klirensi düşük olup etkin bir diyaliz yapılamamaktadır. Bu nedenle daha uzun ve sık

diyalize ihtiyaç duymaktadırlar. Membran geçirgenliği arttıkça diyalizattaki glukoz konsantrasyonu başlangıç konsantrasyonuna göre azalır. Yine plazma kreatinin düzeyi ise diyalizata geçer ve düşmüş olur. Dolayısıyla Dt/D0 glukoz oranı azalırken D/P kreatinin oranı artar. Ancak yüksek geçirgenlik olan peritondan dolaşıma geçecek sıvı miktarı daha kolay ve hızlı olacaktır. Bu da yetersiz bir ultrafiltrasyon demektir (Tablo 7) (58). Ultrafiltrasyon yetersizliğinde diyalizattaki glukoz emilimi hızlı olup diyalizat- plazma glukoz konsantrasyonları arasındaki farkın giderek azalması sonucu ortaya çıkmaktadır. Uzun süreli periton diyalizi yapan hastalarda ultrafiltrasyon yetersizliği sıklığı %14 ile %51 arasında değişiklik göstermektedir(59). Bu yetersizlik sonucunda da solut maddelerin atılması da azalır ve sonuçta yetersiz bir periton diyalizi meydana gelir. Bu durumda başka bir RRT'ye geçilmesi gerekir.

Mini PET' te ise işlem 1 saat gibi daha kısa sürüp yüksek glukoz konsantrasyonunda diyalizat kullanılmaktadır (57). Tek ölçüm yapılmakta ve işlem maliyeti düşük olmaktadır. Tek ölçüm yapılmaktadır. Aynı şekilde D/P kreatinin, D1/D0 glukoz oranları değerlendirilir (60). Yapılan çalışmalarda klasik PET ile mini PET arasında benzer sonuçlar olduğu gösterilmiştir (57).

**Tablo 7.** Periton Diyalizinde Membran Geçirgenliği ve Ultrafiltrasyon Arasındaki İlişki

Membran geçirgenliği	Diyaliz kapasitesi	Ultrafiltrasyon	Klinik sorunlar
Yüksek	Çok iyi	Yetersiz	Artmış glukoz emilimi
Yüksek- ortalama	İyi	İyi	Yok
Düşük- ortalama	İyi- yetersiz	İyi-mükemmel	Yok
Düşük	Yetersiz	Mükemmel	Rezidüel böbrek fonksiyon yokluğunda yetersiz diyaliz

Periton diyalizi uygulamaları ile peritonda interstisiyel ödem, mikrovillusların sayısında azalma ve submezotelyal kollagen depolanması meydana gelebilir (61). Yine peritonda skleroz oluşabilir. Burada normal hücrelerin yapısal kaybı söz konusudur. Plazminojen aktivitesi azalır. Prokollajen, propeptid 1 ve 3 seviyesi artar (62). Kullanılan hiperosmolar diyalizat ta bu duruma neden olabilir. Buna sebep olabilen önemli bir diğer durum da tekrarlayan peritonit ataklarıdır. Geçirilmiş abdominal cerrahi, beta bloker kullanımı da skleroza neden olabilecek diğer durumlardır (63).

### 2.3. PERİTONİT

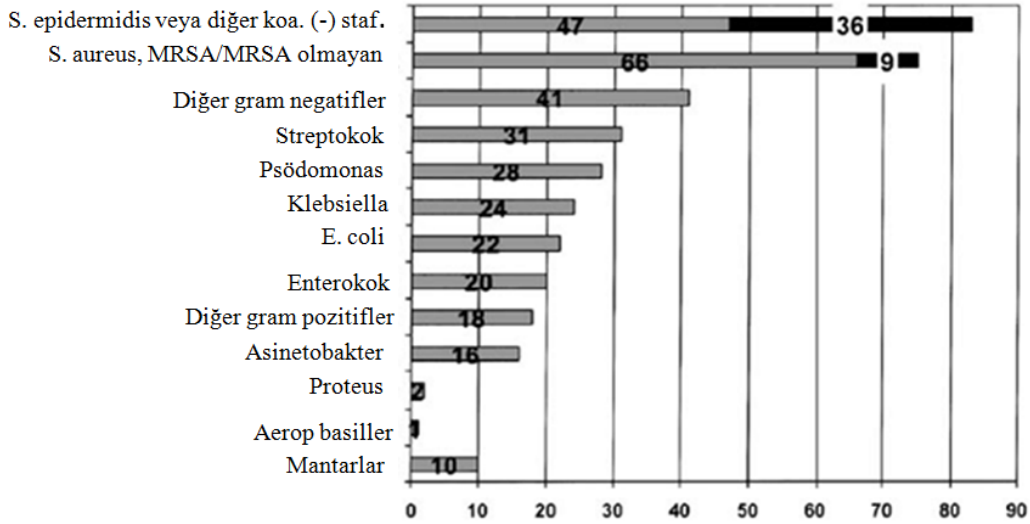
Peritonit, SPD hastalarında peritoneal sıvı içerisinde milimetreküpte 100' ün üzerinde beyaz küre bulunması ve bunun %50'den fazlasının polimorfonüveli lökosit olması şeklinde tanımlanır (2). Peritonit SPD hastalarında hastaneye yatışın en sık sebebi olup bu hastalarda hastaneye yatışın %34.3'ünü oluşturmaktadır (1). Türkiye'de 2012 yılı sonu verilerine göre SPD hastaları değerlendirildiğinde peritonit atak sayısına göre dağılım Tablo 8'de verilmiştir (54).

**Tablo 8.** 2012 Yılı Sonu Verilerine Göre Türkiye'deki SPD Hastalarının Geçirilen Peritonit Atağı Sayısına Göre Dağılımı

	n	%
Atak yok	137	68.50
1 atak	47	23.50
2 atak	12	6.00
3 atak	4	2.00
Toplam	200	100.00

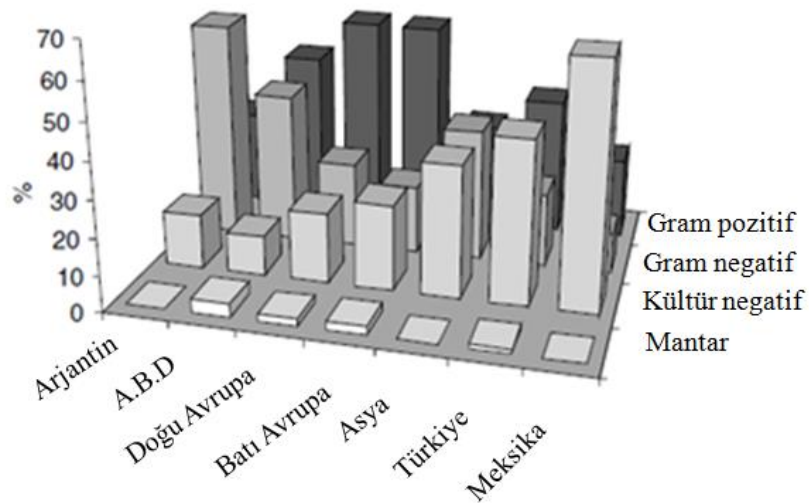
Türkiye'de 2012 yılı sonu verilerine göre SPD hastalarında peritonit sıklığı 0.49 atak/hasta/yıl olup SAPD hastalarında bu oran 0.37 atak /hasta /yıl iken , APD hastalarında 0.64 atak/hasta/yıl olmaktadır (54).

Peritonite neden olan mikroorganizmaların %50-60'ı gram pozitif bakteri iken %20-30'u gram negatif bakterilerdir. En sık etken koagülaz negatif stafilokoklardır (Şekil 7) (3).



Şekil 7. Peritonit Etkenleri

Yapılan bir çalışmada SPD tedavisi altında iken peritonit olan hastaların kültür sonuçlarında çoğunlukla gram pozitif ajanların saptandığı görülmüştür (Şekil 8) (64). Ancak yine aynı çalışmada peritonit olup kültür sonucu negatif vaka sayısı da yadsınmayacak şekilde fazladır. Kültür negatif peritonit vakalarında akla gelmesi gereken en önemli neden hastanın önceden almış olduğu antibiyotik tedavisidir. Diğer bir neden ise teknik sorunlardır. Örnek alınırken numune miktarının en az 5 ml olması gerekmektedir. Bazı çalışmalarda kültür negatif peritonitin engellenmesi amacıyla 50 ml diyalizati 3000 devirde 15 dakika santrifüj ettikten sonra altta kalan çökeltinin kan kültürü vasatına ekilmesi önerilmektedir. İdeal şartlarda ataklarda alınan kültür örneğinde kültür negatif peritonit oranı %10'dan az olmalıdır (65).



Şekil 8. Bölgelere Göre Peritonit Kültürlerinin Sonuçları

Sürekli ayaktan periton diyalizi olan hastalarda peritonit çoğunlukla transluminal olmakla birlikte periluminal, hematojen, enterik ve nadiren de olsa assenden yolla (vajenden) olabilmektedir (1). Koagülaz negatif stafilokoklar çoğunlukla transluminal yolla bulaşmaktadır (66). Bulaştan sonra 24-48 saat içerisinde inkübe olurlar. Bazen 6-12 saat gibi kısa sürede de inkübasyon tanımlanmıştır (1). Stafilokoklar kateter üzerinde oluşturdukları biyofilm tabakası ile tekrarlayan peritonit ataklarına neden olabilirler.

Stafilokokkus aureus gram pozitif Staphlococaceae familyasından bir bakteridir. Katalaz pozitifdir. 37 °C'de aerop ve fakültatif anaerop üretilir. Geniş yüzeylerde glikokaliks oluşturma özellikleri bulunmaktadır. Bu özellikleri ile periton kateteri üzerinde biyofilm tabakası oluşturup enfeksiyona neden olurlar (67). Nishina ve arkadaşlarının (68) yaptığı retrospektif bir çalışmada periton diyalizi yapan peritonit olmuş hastalar değerlendirilmiş kültür sonuçlarının %71.3'ünün gram pozitif mikroorganizma olduğu bunların da %25'i koagülaz negatif stafilokok, %13.2'si metisilin duyarlı stafilokokkus aureus, % 6.6'sı ise metisilin dirençli stafilokokkus aureus olduğu saptanmıştır. Ülkemizde Karagülle ve arkadaşlarının (69) yaptığı bir çalışmada SPD hastalarında peritonitin en sık izole edilen etkeni Stafilokokkus aureus olduğu saptanmıştır. Stafilokokkus aereus peritoniti koagülaz negatif stafilokoklara göre izlemde daha fazla oranda fibrozis ve vaskülarizasyona neden olmaktadır (70). Peritonite bağlı ölümlerin % 18 kadarı Stafilokokkus aereus peritonitine bağlıdır (71). Meydana gelen yapışıklıklar sonucu da etkin diyaliz yapılamamakta, alternatif bir RRT'ye daha fazla ihtiyaç olmaktadır.

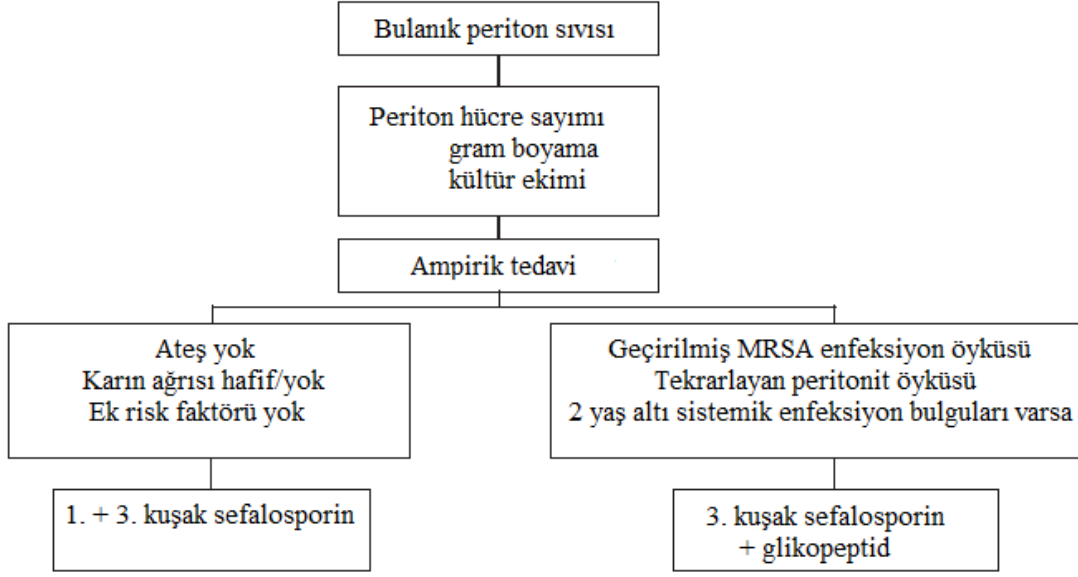
Peritonun enfeksiyonlara karşı korunmada savunma mekanizmalarında SPD çeşitli bozukluklar meydana getirmektedir. Periton sıvısında Ig ve C3 seviyeleri serumdakine göre daha düşüktür. Bu opsonizan faktörler nötrofillerin fonksiyonları için gerekmektedir olup meydana gelen peritonitlerle mevcut konsantrasyonları da giderek azalmaktadır. Bu da nötrofillerin fonksiyonlarını iyi yapamamasına neden olmaktadır. Mevcut diyaliz solusyonunun pH'sının düşük, osmolaritesinin yüksek olması nedeniyle periton üzerindeki nötrofillerin fonksiyonları bozulur.

Periton diyalizi hastalarında peritonit sıklığı çeşitli faktörlere bağlı olarak değişir. Altta yatan primer hastalık, kateter üzerindeki keçe sayısı, bağlantı sisteminin tipi, intraperitoneal ilaç uygulamaları, hastaya ve merkeze ait olan özellikler ön planda

sayılmaktadır. Örneğin diyabet öyküsü olan hastalarda enfeksiyonlara yatkınlık söz konusu olduğundan daha fazla peritonit olma riski vardır. Kateter üzerinde iki adet keçe kullanılması peritonit riskini azaltır. Y-tipi set kullanılması da aynı şekilde standart set kullananlara göre enfeksiyon riskini azaltmaktadır. Çamsan ve arkadaşlarının (72) yaptığı bir çalışmada standart set ile Y- tipi bağlantı seti ile diyaliz yapanlar peritonit atağı açısından kıyaslandığında standart set ile olanlar 5.6 hasta ayında bir, Y- tipi set ile olanlar 10.1 hasta ayında birdir.

Sürekli periton diyalizi hastalarında bulanık diyalizat, bulantı- kusma, karın ağrısı, distansiyon, gaz- gaita çıkışında azalma, değişim işlemi sırasında ağrının şiddetlenmesi peritoniti düşündürür. Bu hastalarda periton sıvısı değerlendirildikten sonra tedaviye hemen başlanmalıdır. Tedaviye öncelikle hem gram pozitif ve hem de gram negatif mikroorganizmalara etkin ampirik bir ajanla başlanmalıdır (1). Uluslararası periton diyaliz topluluğu (International Society For Peritoneal Dialysis- ISPD) tarafından ilk olarak birinci kuşak sefalosporin ile üçüncü kuşak sefalosporinin kombinasyonu ya da glikopeptid ile üçüncü kuşak bir sefalosporinin kombinasyonu önerilmektedir (Şekil 9) (73). Öncelikle tedavinin intraperitoneal yolla verilmesi önerilmektedir. Bu yol ile oluşan periton boşluğundaki antibiyotik düzeyi intravenöz verilen antibiyotik düzeyine göre daha yüksek olmaktadır. Tünel ve/veya kateter enfeksiyonu düşünülen olgularda oral antibiyotik verilebilir. Kültür sonuçları ve antibiyogramına göre uygun ajanla devam edilir. Tedavi süresi en az iki hafta olmalıdır. Tedavi sırasında fibroblastik aktiviteyi engellemek amacıyla her bir litre diyaliz solusyonuna 1000 ünite heparin konulması önerilmektedir. Antibiyotik tedavi şeması Tablo 9'de gösterilmiştir (73).

Meydana gelen peritonit atakları sonrasında SPD hastaları çeşitli komplikasyonlarla karşı karşıya kalmaktadır. Bunlarda en ciddi tedaviye rağmen apse oluşmasıdır. Enfeksiyonun düzelmeyip sistemik hal almasıyla hasta sepsise girebilir. Tekrarlayan peritonit atakları periton üzerinde çeşitli yapışıklıklara neden olabilir. Bu durumda en korkulan komplikasyon ise diyaliz etkinliğinin bozulmasıdır. Bu nedenle farklı bir RRT'ye geçilebilir.



Şekil 9. Peritonit tedavisinin başlanması



**Tablo 9.** Peritonit Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler ve Dozları

<b>Antibiyotik</b>	<b>Yükleme dozu</b>	<b>İdame dozu</b>	<b>Aralıklı tedavi</b>
<b>Glikopeptidler</b>			
Vankomisin	1000 mg/L	25 mg/L	30 mg/kg/g (5-7 g)
Teikoplanin	400 mg/L	20 mg/L	15 mg/kg/g (5-7 g)
<b>Sefalosporinler</b>			
Sefazolin/ Sefalotin	500 mg/L	125 mg/L	15 mg/kg/g
Sefuroksim	200 mg/L	125 mg/L	15 mg/kg/g
Sefotaksim	500 mg/L	250 mg/L	30 mg/kg/g
Seftazidim	250 mg/L	125 mg/L	15 mg/kg/g
Seftizoksim	250 mg/L	125 mg/L	-
<b>Antifungaller</b>			
Amphoterisin B	1 mg/kg	1 mg/kg/g IV	-
Flukanozol	-	-	3-6 mg/kg IP, IV ya da PO 24-48 saat (mak. 200 mg)
Flusitozin	50 mg/kg PO/IV(mak. 2 g)	25-37.5 mg/kg PO/ day (mak. 1 g)	-
<b>Aminoglikozidler</b>			
Amikasin	25 mg/L	12 mg/L	-
Gentamisin	8 mg/L	4 mg/L	-
Netilmisin	8 mg/L	4 mg/L	-
Tobramisin	8 mg/L	4 mg/L	-
<b>Penisilinler</b>			
Azlosilin	500 mg/L	250 mg/L	-
Piperasilin	-	250 mg/L	150 mg/kg IV
Ampisilin	-	125 mg/L	-
Oksasilin	-	125 mg/L	-
Nafsilin	-	125 mg/L	-
Amoksasilin	-	50 mg/L	-
<b>Kinolonlar</b>			
Siproflaksasin	50 mg/L	25 mg/L	-
<b>Kombinasyonlar</b>			
Ampisilin- sülbaktam	1000 mg/L	100 mg/L	-
İmipenem- silastatin	500 mg/L	200 mg/L	-
Trimetoprim- sülfometaksazol	320/1600 mg/L	80-400 mg/L	-
<b>Diğerleri</b>			
Klindamisin	300 mg/L	150 mg/L	-
Metranidazol	-	-	35-50 mg/kg/ g PO (3 dozda)
Rifampin	-	-	20 mg/kg/g PO (mak. 600 mg)
Aztreonam	1000 mg/L	250 mg/L	-

### 2.3.1. Peritonitte Ortaya Çıkan Sitokinler

Sitokinler çeşitli hücrelerden salgılanan; inflamasyon, hücre büyümesi ve iyileşmesinde görev alan hücreler arası iletişimi sağlayan polipeptid yapıda proteinlerdir. Önceleri sadece lenfositlerden salınıyor diye bilinip “lenfokin” olarak isimlendirilmiş olsa da zamanla diğer hücrelerden de salgılandığı gösterilmiş olup “sitokin” ismini almıştır (74).

Sitokinler bağışıklık yanıtının ve inflamatuvar yanıtların oluşmasında ve düzenlenmesinde görev alırlar. Salınımları kısa sürede olup depolanmazlar. Sentezlendiği an hücre içerisinden salınırlar. Birden fazla hücre grubuna etki edebilme özellikleri vardır. Yine aynı hücre grubunda birden fazla farklı etkisi bulunabilmektedir. Bir sitokin başka bir sitokinin salınımını etkileyebilir. Diğer bir sitokinin sentezlenmesini arttırabildiği gibi baskılayabilme özelliği de bulunmaktadır. Etki ettiği hücrenin membranı üzerindeki reseptörüne bağlanarak işlev göstermektedir (74).

#### 2.3.1.1. Tümör Nekrozis Faktör- Alfa

Tümör nekrozis faktör-alfa başlıca monosit ve aktive makrofajlardan sentezlenen 17 KD büyüklüğünde bir sitokindir (74). Düşük konsantrasyonda sentezlendiğinde sadece otokrin ve parakrin etkileri söz konusudur. Düşük konsantrasyonda adezyon molekülleri aracılığıyla (ICAM-1, NCAM-1, ELAM-1); endotel hücrelerinin nötrofillere karşı daha yapışkan hale gelmesine neden olurlar. Nötrofilleri aktive ederler. Sitokini sentezleyen hücre ile mononükleer fagositleri uyarırlar, ortamdaki TNF-  $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 konsantrasyonunu arttırırlar. Daha yüksek konsantrasyonda sistemik etkileri ortaya çıkmaktadır. Bunlardan en önemlisi IL-1 düzeyini arttırarak hipotalamustan prostoglandin-E2 sentezini sağlar. Bu da vücut ısısının yükselmesine neden olur. Yine yüksek konsantrasyonda hepatositleri uyararak serum amiloid A ve P proteini, kompleman 3 düzeyini, haptoglobulin ve C-reaktif protein gibi akut faz reaktanlarının sentezini arttırırlar. Damar endotelindeki prokoagülan- antikoagülan arasındaki dengeyi prokoagülan lehinde bozarlar. Kemik iliğini baskırlar. İştahı azaltır, kaşeksiye neden olabilirler. Çeşitli çalışmalarda fibroblastların aktivasyonunu arttırdığı da gösterilmiştir (74, 75).

### 2.3.1.2. Transforming Growth Faktör- Beta 1

Transforming growth faktör-beta (TGF- $\beta$ ) başlıca T lenfositleri, mononükleer fagositler tarafından sentezlenen 14 KD büyüklüğünde bir sitokindir. B lenfositlerin immunglobulin sentezini inhibe eder. Epitel ve endotel hücreleri, fibroblastlar, T ve B lenfositleri üzerine etkileri bulunmaktadır. Düşük konsantrasyonda bu hücrelerin çoğalmasına etki ederken yüksek konsantrasyonda hücrelerin büyümesini önler. TGF- $\beta$ 1 ise T hücreleri ve monositler tarafından sentez edilir (74). TGF-  $\beta$ 1 inflamasyon sırasında fibroblastları aktive eder. Bu da fibrozise neden olur (76).

### 2.3.1.3. İnterlökin- 6

İnterlökin-6 mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar, epitelium hücreleri, aktive T-lenfositleri tarafından sentezlenen 26 KD büyüklüğünde bir sitokindir (74). B-lenfositlerin büyüme faktörü olup immunglobulin sentezinde rol alırlar. Hepatositleri uyararak fibrinojen, hemopeksin,  $\alpha$ 1-antikimotripsin,  $\alpha$ -makroglobulin gibi proteinlerin salınımına neden olurlar (77). T-lenfositlerin ve timositlerin kostimulatörü olarak görev alırlar (78).

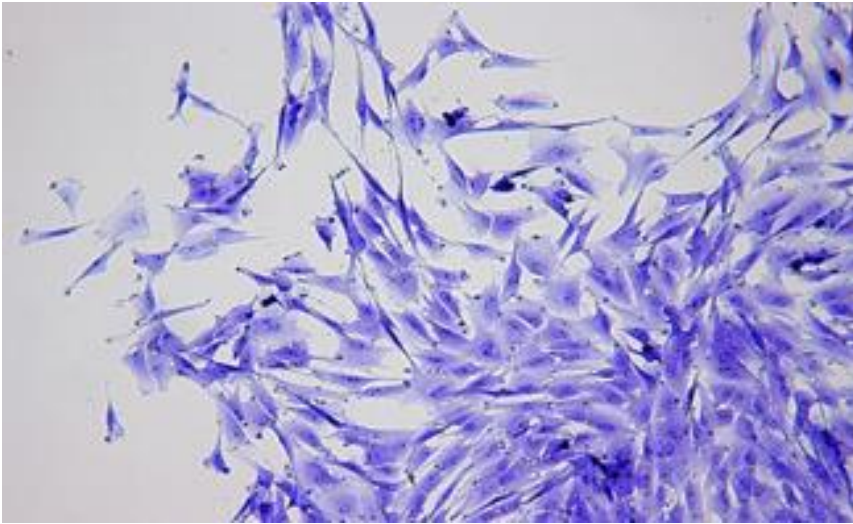
İnterlökin-6'nın hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar etkinliği söz konusudur. Sinyal düzenleyici ve transkripsiyon üç aktivatörünün (Signal transducer and activator of transcription-3, STAT-3) aktivasyonu ile epitel hücrelerinde proliferasyon ve apoptozisi inhibe ederek antiinflamatuvar etki ortaya çıkar. İmmun sistemi aktive ederek mononükleer hücreleri uyarır. T hücrelerindeki apoptozisi inhibe eder. T regülatuar hücrelerin differensiasyonunu inhibe eder. Böylece proinflamatuvar yanıt ortaya çıkar (79).

### 2.3.1.4. Vasküler Endotelyal Growth Faktör

Trombosit kaynaklı büyüme faktör ailesindedir. Endotele özgün olup 45 KD büyüklüğündedir (80). 1980'li yıllara tanımlanmıştır. Endotel hücreleri üzerinde mitojen özelliği söz konusudur. Yeni damar oluşumunda rol alır. Özellikle megakaryositlerde sentezlenip trombositlere depolanır. Vücudun bir çok hücresinden sentezlenebilir. Vasküler geçirgenliği artırır (81).

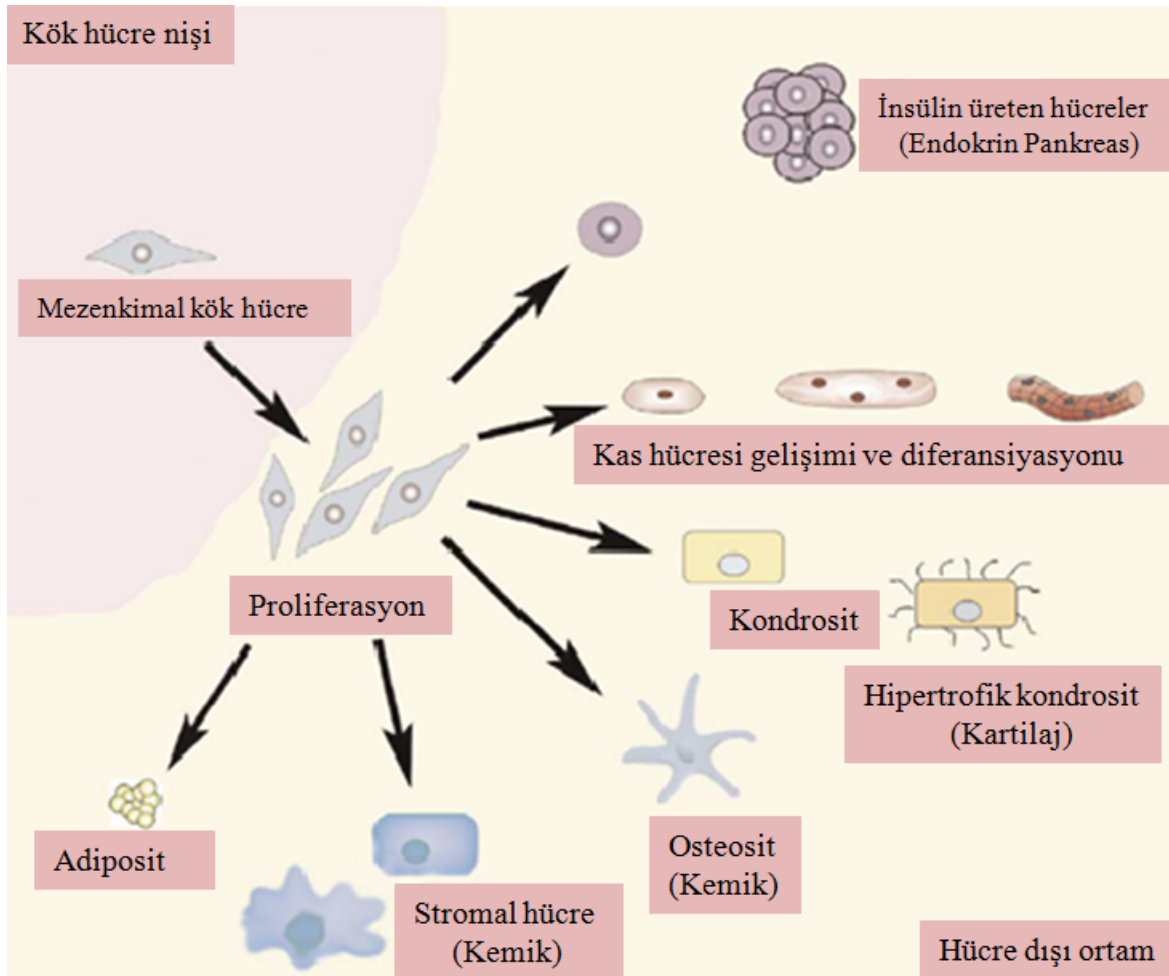
## 2.4. MEZENKİMAL KÖK HÜCRE

Kök hücre; kendini yenileyebilme ve organizmanın ihtiyacına göre farklı doku hücrelerine dönüşebilme özelliği olan hücrelerdir. Mezenkimal kök hücre (MKH); kemik, kas, kıkırdak, tendon ve yağ hücrelerine dönüşebilme özelliği olan, birçok dokuda bulunmakla birlikte özellikle kemik iliğinde bulunan ve hematopoetik hücrenin stromaya tutunmasını sağlayan hücredir (7). Embriyonel olmayan erişkin kök hücre grubundandır. Keşfi 1960'lı yıllara dayanmaktadır. Friedenstein (82) tarafından fetal buzağı serumu içerisindeki kemik iliği kültüründe fibroblastlara benzeyen kolonilerin bulunduğunu tespit edilmiştir (Şekil 7). Haynesworth ve arkadaşları (83) tarafından bu hücrelerin başka hücrelere farklılaşma özelliği olduğu saptanmıştır.



**Şekil 10.** Mezenkimal Kök Hücre

Mezenkimal kök hücre vücutta fetal doku, akciğer, sinoviya, amnion mayi, kan, dalak, plasenta gibi pek çok dokuda bulunmaktadır. Çeşitli salgısal faktörler salarak hematopoetik hücrelerin olgun hücreye farklılaşması veya inhibisyonu ile kök hücrenin G0 fazında kalarak kök hücre rezervi de oluşturabilmektedir. Aynı hücrenin yeniden hücre siklusuna girip kendini yenilemesi de söz konusudur. Bir başka özelliği de lüzum halinde buldukları nişlerden başka dokulara migrasyon ve mobilize olabilmeleridir (Şekil 11) (8, 9).



**Şekil- 11.** Mezenkimal Kök Hücrenin Diğer Hücelere Dönüşümü

İmmünojenitesi düşük olup sentezledikleri salgısal faktörler ile immünosupresif etkileri vardır. HLA-DR ve ko-stimulatör ekspresyonları olmaması nedeniyle farklı kişi ve deneklerde kullanılabilir (12). T-lenfosit aktivasyonu ve alloreaktif reaksiyonları önleme özellikleri vardır. Aktive B-lenfositleri inhibe eder. Böylece alloreaktif reaksiyonları önlerler. Enzim sentezleyebilme özellikleri olup kalıtsal enzim defektlerinde kullanılabilir (11).

Mezenkimal kök hücreler dental pulpa yapımında, ortopedide menisküs operasyonlarında, graft versus host hastalığında, akut miyokard infarktüsünde, akut spinal kord hasarında, otoimmün ensefalomyelitte, crohn hastalığı ve lupus gibi otoimmün hastalıklarda, kalıtsal metabolik hastalıklarda kullanılabileceğini gösteren ön çalışmalar vardır (10). Baştuğ ve arkadaşlarının (84) yaptığı bir çalışmada kronik periton diyaliz modelinde MKH'nin periton üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Soylu ve

arkadaşları (85) da deneysel piyelonefrit modelinde MKH'ın skar üzerine olumlu etkilerinin olduğunu göstermiştir.

Bu kök hücrelerin sentezledikleri salgısal faktörler dışında diğer kök hücreler gibi üzerlerinde bazı yüzey belirteçleri ihtiva ederler (86, 87). Bunlar Tablo 10'de belirtilmiştir.

**Tablo 10.** MKH'lerin eksprese ettikleri ve etmedikleri yüzey belirteçleri

Pozitif	Negatif
CD105	CD34
CD73	CD45
CD90	MHC klas 2
STRO-1	CD3, CD4, CD11c, CD15, CD16, CD19
MHC klas 1	CD31, CD33, CD38, CD56, CD62P
CD166, CD44, CD13, CD29 ,CD58	CD104, CD 144, CD14
CD71, CD106, CD120a, CD124	

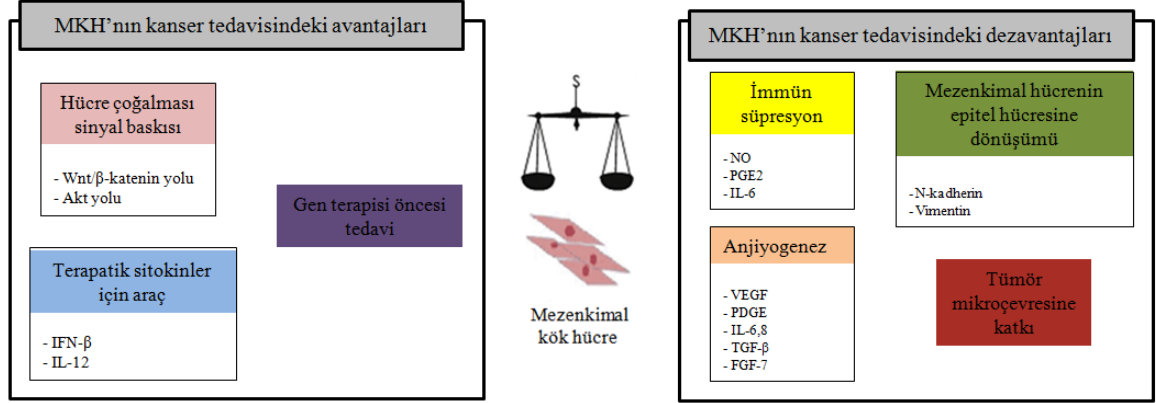
Kullanımları intravenöz, intraperitoneal veya lezyon alanına implantasyon şeklinde olmaktadır. Erişkinde dozu  $100-150 \times 10^6$  iken pediatrik grupta  $1-2 \times 10^6/\text{kg}$ 'dır. Çocuklarda bu bir avantaj sayılmaktadır. Çünkü MKH'ın pasajlanması erişkin bir bireye göre daha kısa sürede olmaktadır. Daha az miktarda hücre gerektiği için daha az miktarda kültür yeterli olacaktır (88).

#### 2.4.1. Mezenkimal Kök Hücre Kullanımı ve Sitokin Salınımı

Mezenkimal kök hücrelerin antiinflamatuvar etkinliği söz konusudur. Ortamdaki inflamasyonu baskırlar. Bu işi mevcut inflamasyonda IL- 10 ve IL-4 sekresyonunu artırıp, TNF- $\alpha$  ve IFN-  $\gamma$  sekresyonunu azaltarak yapmaktadır (89). Mezenkimal kök hücrelerin parakrin etkileri ile ortama VEGF ve IL-6 da salınımı da olmaktadır. Bu durumda ortamdaki VEGF ve IL-6 seviyeleri yüksek olabilmektedir (90). Yapılan çalışmalarda mezenkimal kök hücrenin bu özelliği ile T hücrelerin proliferasyonunu baskılamış olduğu gösterilmiştir (91).

Kanser tedavisinde MKH kullanımı amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak bu tedavide MKH kullanımının olumlu ve olumsuz etkileri olduğu görülmüştür.

MKH, tümör hücrelerinin canlılığının devamını engeller. Kanserin gen terapisi ile baskılanmasını sağlar. Bu iki etki MKH'nın olumlu etkileridir. Yine bazı immunmodulator faktörler salarak immunsupresyona neden olmaktadır. Ancak diğer yapılan çalışmalarda tümör hücrelerinin mikro çevreye yayılımının artışına neden olduğu saptanmıştır. Diğer bir etkide salgıladıkları VEGF, IL-6, IL-8, anjiopoetin, prostoglandin E, TGF- $\beta$  ile anjiogenez artırıp kanser dokusunun yayılımına neden olabilmeleridirler (Şekil-12) (92).



**Şekil 12.** Kanser Tedavisinde MKH'nin Olumlu ve Olumsuz Etkileri

Diyabetes mellitusta mezenkimal kök hücre tedavisi için ön çalışmalar yapılmaktadır. Mezenkimal kök hücrenin parakrin olarak salgılamış olduğu VEGF ile iyileştirmeyi salgıladığı düşünülerek fareler üzerinde diyabetik ayak tedavisinde çalışmalar yapılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada deneysel diyabetik ayak yapılan farelerde mezenkimal kök hücre verilmesi ile artan epitelyal büyüme faktör sonucu vaskularizasyon artmış, yeniden kanlanma sağlanmış ve iyileşme hızlanmıştır (93).

### 3. MATERYAL VE METOD

Çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış olup (Etik Kurul Onam No: 2012/29) Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje kodu: 9688).

#### 3.1. Deney Hayvanları ve Bakım

Çalışmada 198-357 g ağırlığında Sprague Dawley ırkından erkek cinsiyette 8-10 haftalık toplam 64 adet rat kullanıldı. Ratlar uygun laboratuvar şartlarında standart sıçan yemi ile beslenip su kısıtlaması yapılmadan bakıldı.

#### 3.2. Çalışma Basamakları

Çalışmada 64 rat rastgele dört eşit gruba ayrıldı. Gruplar sağlam grup (S), peritonit olup sadece antibiyotik alan grup (P1), peritonit olup antibiyotik ve MKH alan grup (P2) ve peritonit olup sadece MKH alan grup (P3) şeklinde düzenlendi. Sağlam grup (S) kendi içerisinde ikiye ayrıldı. S1 grubu herhangi bir işlem yapılmayan, S2 ise enfekte edilmeyip 14 gün boyunca antibiyotik alan grup olarak düzenlendi (Tablo 11).

**Tablo 11.** Çalışma Grupları

	N
Grup-P1 (peritonit olup sadece antibiyotik tedavisi verilen grup)	16
Grup-P2 (peritonit olup antibiyotik + MKH tedavisi verilen grup)	16
Grup-P3 (peritonit olup MKH tedavisi verilen grup)	16
Grup-S1 (sağlam ve işlem yapılmayan grup)	8
Grup-S2 (sağlam ve antibiyotik verilen grup)	8

Peritonit için etken mikroorganizma olarak *S. aureus* kullanıldı. Mikroorganizma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edildi. Çalışmanın başlangıcında P1, P2 ve P3 grubuna intraperitoneal  $1.5 \times 10^8$  CFU *S. aureus* enjekte edildi.



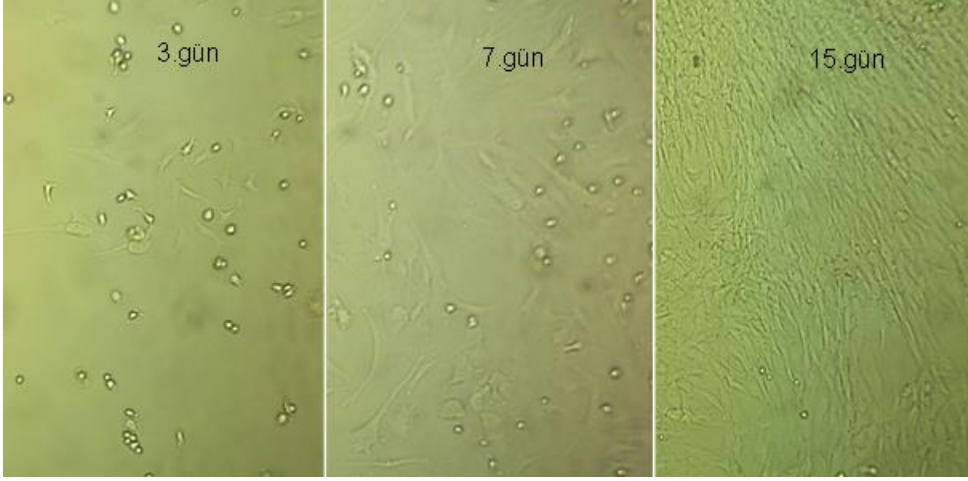
Antibiyotik tedavisine, enfekte edilen denekler için denekler enfekte edildikten 24 saat sonra başlandı. Sağlam olup antibiyotik alan grupta ise antibiyotik tedavisi birinci gün başlandı. Antibiyotik olarak Vankomisin (Edicin®) intraperitoneal, 30 mg/kg dozunda, 14 gün boyunca her gün aynı saatte günde tek doz olacak şekilde uygulandı (1-14. gün). Antibiyotik sulandırılıktan sonra her bir rat için vücut ısısında %1.36'lık diyaliz solusyonu ile 5 ml'ye tamamlanarak ayrı enjektörlerle verildi.

### 3.3. MKH'nin Hazırlanışı

Rat kemik iliği mezenkimal kök hücre üretimi, Trabzon Teknokent kuruluşu ANTİMİKROP Test Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Bu amaçla iki adet dişi Wistar rat Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Merkez veteriner hekimi tarafından yüksek doz Ketalar (Pfizer) ile anestezi yapılan ratlar teslim alındıktan sonra hemen laboratuvara getirilip femur ve tibiaları steril olarak çıkartıldı ve Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik (FT-SF) içeren steril bir tüpe aktarıldı. Kaslar steril makas ve bisturi yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra kemikler iki uç kısmından kesildi. Kemik iliği 21-gauge iğne takılı ve penisilin (100 U/ml) ve streptomisin (100 µg/ml) katkılı Dulbecco's Minimum Essential Medium (DMEM, Lonza) içeren şırınga yardımıyla steril bir petriye boşaltıldı. Parçalar halinde dışarıya çıkan ilik dokusu pastör pipeti yardımıyla süspansiyon haline getirildi ve 70 µm filtreden geçirildikten sonra 200 g + 4<sup>0</sup>C'de 5 dakika santrifüj edildi. % 20'lik Fetal Dana Serum (FDS) içeren düşük glikozlu DMEM (LG-DMEM) üretme vasatı ile süspansiyon edilen hücreler 25 cm<sup>2</sup> plastik hücre kültür kaplarına (Greiner, Germany) aktarıldı ve 37 <sup>0</sup>C'de % 5 CO<sub>2</sub> inkübatörde üç gün bekletildi.

Kültür kabına yapışmayan hücreler uzaklaştırıldıktan sonra taze vasat ilave edilerek kültüre devam edildi. Üç günde bir vasat yenilemesi yapılan kültürler invert mikroskopla takip edilerek hücrelerin koloni oluşturmaları ve fibroblast görünümü mezenkimal kök hücrelerin çoğalmaları gözlemlendi. İki hafta içerisinde hücre üremesinin kültür kabının yaklaşık % 70-80'ini kapladığı görüldüğünde kültür kabı içeriği boşaltılıp hücreler FT-SF ile üç kez yıkandı. % 0.25 tripsin ve % 0.05 EDTA içeren Ca ve Mg'siz FT-SF ilave edilip 3-5 dakika içerisinde kültür kabı tabanına yapışık hücrelerin süspansiyon haline gelmesi sağlandı. Hücre süspansiyonu 200 devirde beş dakika santrifüj edildikten sonra LG-DMEM üretme vasatı ile süspansiyon edildi. Thoma ile hücre sayımı yapıldıktan sonra bu pasaj 0 (P0) hücreler santimetre kareye 6000 hücre olacak şekilde 75

cm<sup>2</sup> plastik hücre kültür kaplarına (Greiner, Germany) ekildi. Üç günde bir vasat yenilemesi yapılan kültürler % 70-80 oranında ürediğinde (Şekil 13) yukarıda tarif edildiği gibi kaldırılıp tekrar P6'ya kadar pasajlandı.



**Şekil 13.** Rat Mezenkimal Kök Hücrelerin Kültür Kabında 3, 7 Ve 15. Günlerdeki Mikroskopik Görünümü

Pasajlar sırasında bir kısım hücreler %10 dimetil sülfoksit ve % 20 FDS içeren vasat ile süspanse edilip kriyovialler içerisinde -196 °C sıvı nitrojen ortamında dondurularak saklandı. Deneklerde kullanılacağı zaman P4 hücreleri sıvı nitrojen tankından çıkartılıp 37 °C su banyosunda çözündürüldükten sonra LG-DMEM üretme vasatı eklenerek santrifüj edildi. Elde edilen pelet FT-SF ile süspanse edilip canlı hücre sayımı tripan blue boyası ile yapıldı. Hazırlanan numunede ml'de 1x 10<sup>6</sup> hücre olacak şekilde hazırlandı. Ratlar enfekte edildikten 24 saat sonra 1.5 milyon/kg/ doz olacak şekilde intraperitoneal insülin enjektörü ile bir kez uygulandı.

### 3.4. Gruplar

Sağlam grup kendi içerisinde ikiye ayrıldı (S1 ve S2). S1 grubu; hiçbir işlem yapılmadan rutin laboratuvar şartlarında bakıldı. Vankomisin periton mezotel hücrelerine olumsuz etkisinin olup olmayacağını değerlendirmek üzere S2 grubuna 14 gün süreyle antibiyotik tedavisi verildi. Her iki grup sekizinci haftanın sonunda sakrifiye edildi.

Peritonit olup sadece antibiyotik alan grup kendi içerisinde ikiye ayrıldı (P1a ve P1b). P1a antibiyotik tedavisinin bitimine yakın dönemde varolan inflamasyonu göstermek

amacıyla (14. gün sonunda), P1b ise zaman içinde olası fibrozis gelişimini gözlemlemek amacıyla sekiz haftanın sonunda sakrifiye edildi.

Peritonit olup antibiyotik ve MKH alan grup da kendi içerisinde iki eşit gruba ayrıldı (P2a ve P2b). P2a antibiyotik tedavisinin bitiminde (14. gün sonunda), P2b de aynı P1b grubu gibi sekizinci haftanın sonunda sakrifiye edildi. P3 grubu MKH injeksiyonundan 14 gün sonra sakrifiye edildi (Tablo 12).

**Tablo 12-** Gruplara Göre İşlemin Sonlandırıldığı Gün

Gruplar	İşlemlerin Sonlandırıldığı Gün
S1	56
S2	56
P1a	14
P1b	56
P2a	14
P2b	56
P3	14

### 3.5. Peritoneal Eşitleme Testi- Peritonun Alınması

Tüm deneklere bakımlarının son günü (P1a, P2a, P3 14.gün; S1, S2, P1b, P2b 56.gün sonunda) bir saatlik La Milia ve arkadaşlarının (57) tarif ettiği gibi mini PET uygulandı. Her bir rata 20 ml %3.86'lık (Baxter®) diyaliz solusyonu intraperitoneal verildi (Resim 1). Bir saat beklendikten sonra deneklere 0.1 mg/kg ketamin (Ketalar®), 70 mg/kg ksilazin (Rompun®) intramuskuler uygulanarak anestezi sağlandı. Her bir rat çalışma tahtasına sabitlendi. 18 gauge iğne ile periton içerisine girildi ve periton içi sıvı boşaltıldı (Resim 2). Her bir rat için boşatılan sıvı miktarı kaydedildi. Periton sıvısından glukoz ve kreatinin miktarının ölçümü için numune ayrıldı. Eş zamanlı serum kreatinin düzeyi için kan örneği alındı.

Biyokimyasal parametreler Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında çalışıldı. Kreatinin kinetik renk testi (Jaffe yöntemi) ile, glukoz enzimatik UV testi (Hekzokinaz yöntemi) ile Beckman Coulter AU2700 otoanalizöründe orijinal kitleleriyle çalışıldı. D1/D0 glukoz, D/P kreatinin oranları

hesaplandı. Karın ön duvarından periton dokusu formol solusyonu içerisine alındıktan sonra intrakardiyak kansızlaştırma işlemi ile ötenazi uygulandı (Resim 3, 4).

Peritoneal geçirgenlik skorlaması D1/P kreatinin oranı ile değerlendirildi. D1/P kreatinin oranı ile geçirgenliğin değerlendirilmesi Tablo 13'te gösterilmiştir (57).

**Tablo 13-** Peritoneal Geçirgenlik Skorlaması

Peritoneal Geçirgenlik	Çok iyi	İyi	Orta	Kötü
D1/P kreatinin oranı	0.81 ve üzeri	0.61- 0.80	0.41-0.60	0.40 ve altı

Diyalizattaki glukoz konsantrasyonu ise başlangıç diyalizat glukoz değerine oranlanarak değerlendirme yapıldı (Dt/D0). Dt glukoz değeri ve Dt/D0 glukoz oranı ne kadar düşük saptanırsa membran geçirgenliği de o kadar fazla şeklinde kabul edildi (58).

Çalışmaya başlamadan önce dört rat ile ön çalışma yapıldı. İkisine intraperitoneal  $1.5 \times 10^8$  CFU S. aureus enjekte edildi. Yirmidört saat sonra her ikisinden periton sıvısı numuneleri alındı. Birinci ratın periton sıvısı hücre sayımında milimetreküpte 8.600, ikincisinde de 13.400 beyaz küre saptandı. Bunu verilen mikroorganizma miktarı ile denekleri enfekte edip edemeyeceğimizi görmek için yaptık.

Çalışmaya dahil edilmeyen rutin laboratuvar şartlarında izlenen iki adet rata da PET yapıldı. Sonuçlarına bakıldığında;

Denek 1:

D kreatinin 0.6 mg/dl, P kreatinin 0.53mg/dl, D/P kreatinin: 1.13, D1 glukoz: 1389 mg/dl, D1/D0 glukoz: 0.36

Denek 2:

D kreatinin: 0.6 mg/dl , P kreatinin 0.45 mg/dl , D/P kreatinin: 1.33, Dglukoz: 1340.6 mg/dl, D0/D1 glukoz: 0.35

olarak saptandı. Her iki sağlam rat'ın da "yüksek geçirgen" bir peritona sahip olduğu görüldü.



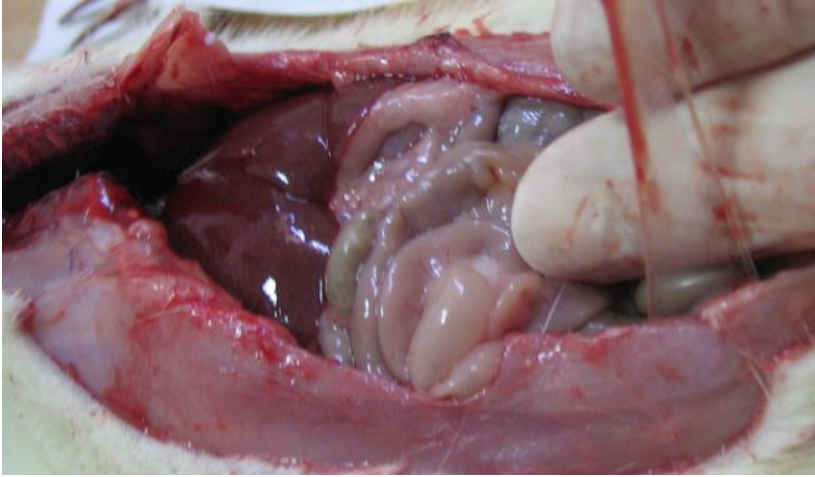
**Resim 1.** İnterperitoneal Diyaliz Solusyonu Verilmesi



**Resim 2.** PET Sırasında Diyaliz Solusyonunun Boşaltılması



**Resim 3.** Periton Dokusunun Ayrılması



**Resim 4-** Makroskopik Olarak Periton Dokusu

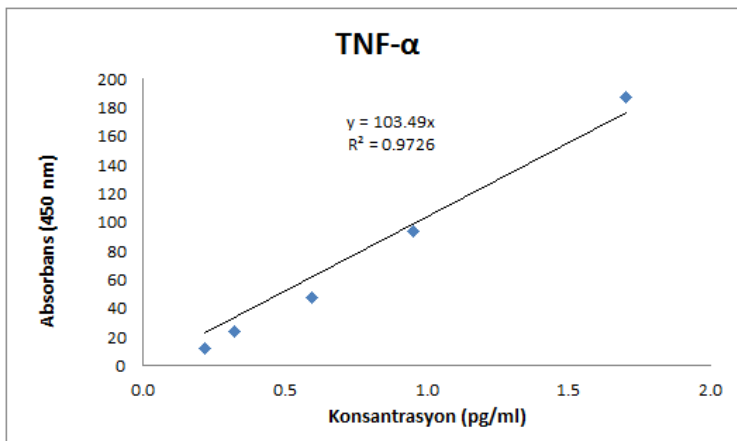
### **3.6. Sitokinlerin Değerlendirilmesi**

Tüm deneklerin sitokin seviyeleri için periton sıvısı PET işlemi sonrası ayrıldı.

#### **3.6.1. Rat TNF- $\alpha$ Seviyelerinin Ölçülmesi**

Rat TNF- $\alpha$  düzeyleri ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile ticari kit kullanılarak firmanın talimatları doğrultusunda ölçüldü (Invitrogen Katalog: KRC3011 Lot: 1290859B).

Çalışmaya numunelerin standart diluent tampon ile 1:2 oranında seyreltilmesiyle başlandı. Sonrasında 100 µL standart, kontrol ve 1:2 oranında seyreltilmiş rat periton sıvısı numuneleri pleyt üzerinde belirlenen kuyucuklara yüklendi. Pleyt kaplanarak iki saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon bitiminde pleyt dört kez yıkama tamponuyla yıkandı. Ardından 100 µL biotinlenmiş Rt TNF- $\alpha$  Biotin Konjugat çözeltisi ilavesinin ardından bir saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından pleyt dört kez yıkama tamponuyla yıkandı ve pleytin her bir kuyucuğuna 100 µL Streptavidin-HRP Working çözeltisi ilave edildi. Pleyt kaplanarak 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı ve ardından 4 kez yıkama tamponuyla yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µL Stabilenmiş Kromojen çözeltisi ilave edilerek, 30 dakika boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edildi. Son olarak reaksiyonun durdurulması için Stop çözeltisinden 100 µL eklenerek örnek absorbansları 450 nm’ de VERSA (Designed by molecular Devices in California, USA) mikropleyt okuyucu ile ölçüldü. Hasta ve kontrol örneklerine ait rat periton sıvısı TNF- $\alpha$  konsantrasyonları aşağıdaki standart grafiği yardımı ile hesaplandı ve sonuçlar pg/ml cinsinden verildi (Grafik 1).



**Grafik 1.** Periton Sıvısında TNF- $\alpha$  Değerlendirilmesi

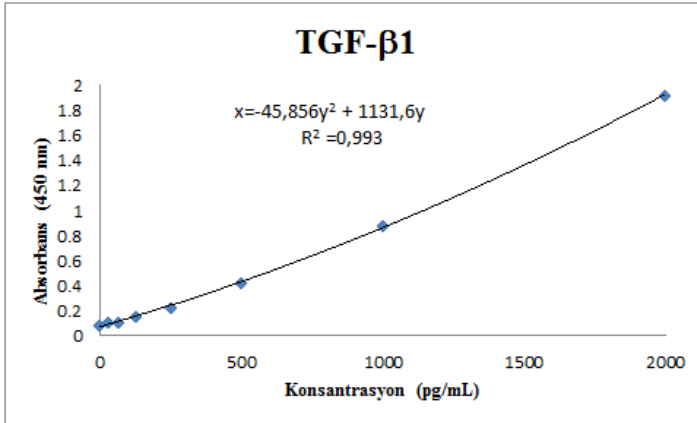
### 3.6.2. Rat TGF- $\beta$ 1 Seviyelerinin Ölçümü

Rat TGF- $\beta$ 1 düzeyleri ELISA yöntemi ile ticari kit kullanılarak firmanın talimatları doğrultusunda ölçüldü (eBioscience Katalog: BMS623/3 Lot: 82552002).

Çalışmaya numunelere ön işlem uygulanarak başlandı. Ön işlem için, 20 mL numunenin üzerine 920 mL deney tamponu ve 30 mL 1N HCl eklenerek bir saat



inkübasyona bırakıldı. Akabinde 30 mL 1N NaOH eklenerek numuneler nötrale edildi. Pleyt iki kez yıkama tamponu ile yıkanarak aktifleştirildi. Sonrasında 100 µL standart, kontrol ve rat periton sıvısı numuneleri pleyt üzerinde belirlenen kuyucuklara yüklendi. Pleyt kaplanarak iki saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıcıda inkübe edildi. İnkübasyon bitiminde pleyt beş kez yıkama tamponuyla yıkandı. Sonrasında 100 µL Rt TGF- β1 Biotin-Konjugat çözeltisi ilavesinin ardından bir saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından pleyt beş kez yıkama tamponuyla yıkandı ve pleytin her bir kuyucuğuna 100 µL Streptavidin-HRP Working çözeltisi ilave edildi. Pleyt kaplanarak 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı ve ardından beş kez yıkama tamponuyla yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µL Stabilenmiş Kromojen çözeltisi ilave edilerek, 30 dakika boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edildi. Son olarak reaksiyonun durdurulması için Stop çözeltisinden 100 µL eklenerek örnek absorbansları 450 nm’de VERSA mikropleyt okuyucu ile ölçüldü. Hasta ve kontrol örneklerine ait rat periton sıvısı TGF- β1 konsantrasyonları aşağıdaki standart grafiği yardımı ile hesaplandı ve sonuçlar pg/mL cinsinden verildi (Grafik 2).



**Grafik 2.** Periton Sıvısında TGF- β1 Değerlendirilmesi

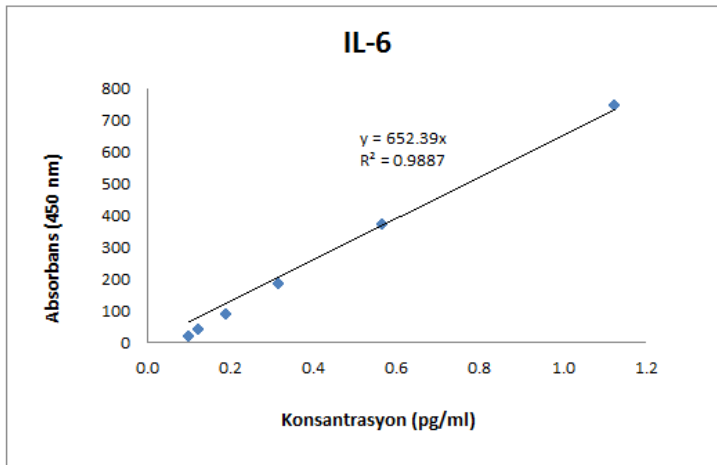
### 3.6.3. Rat İnterlökin-6 Seviyelerinin Ölçümü

Rat IL-6 düzeyleri ELISA yöntemi ile ticari kit kullanılarak firmanın talimatları doğrultusunda ölçüldü (Invitrogen Katalog: KRC0061 Lot: 10993914A).

Çalışmaya pleyt üzerindeki her bir kuyucuğa 50 µL inkübasyon tamponu eklenerek başlandı. Sonrasında 100 µL standart, kontrol ve rat periton sıvısı numuneleri pleyt üzerinde belirlenen kuyucuklara yüklendi. Pleyt kaplanarak 2 saat boyunca 37 °C’ de



inkübe edildi. İnkübasyon bitiminde pleyt 4 kez yıkama tamponuyla yıkandı. Sonrasında 100 µL biotinlenmiş Rat IL-6 Biotin Konjugat çözeltisi ilavesinin ardından 1,5 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından pleyt 4 kez yıkama tamponuyla yıkandı ve pleytin her bir kuyucuğuna 100 µL Streptavidin-HRP Working çözeltisi ilave edildi. Pleyt kaplanarak 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı ve ardından 4 kez yıkama tamponuyla yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µL Stabilenmiş Kromojen çözeltisi ilave edilerek, 30 dakika boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edildi. Son olarak reaksiyonun durdurulması için Stop çözeltisinden 100 µL eklenerek örnek absorbansları 450 nm'de VERSA mikropleyt okuyucu ile ölçüldü. Hasta ve kontrol örneklerine ait rat periton sıvısı IL-6 konsantrasyonları aşağıdaki standart grafiği yardımı ile hesaplandı ve sonuçlar pg/ml cinsinden verildi (Grafik 3).



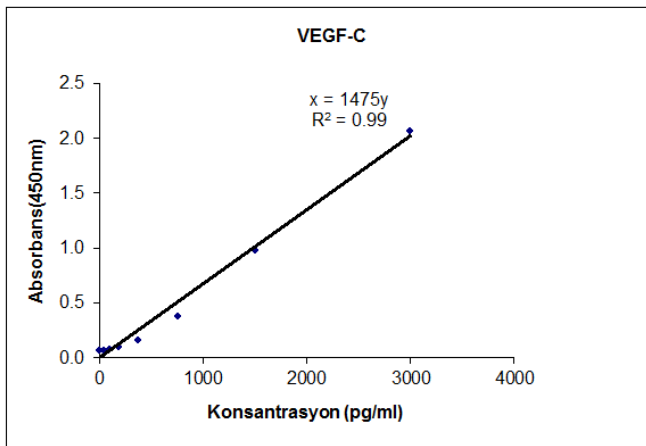
**Grafik 3.** Periton Sıvısında IL- 6 Değerlendirilmesi

#### 3.6.4. Rat VEGF Seviyelerinin Ölçümü

Rat VEGF düzeyleri ELISA yöntemi ile ticari kit kullanılarak firmanın talimatları doğrultusunda ölçüldü (eBioscience Katalog: BMS626/2 Lot: 83335007).

Çalışmaya başlamadan önce pleyt iki kez yıkama tamponuyla yıkandı. Pleyt üzerinde belirlenen standart kuyucuklarına 100 µL, numune kuyucuklarına 50 µL olacak şekilde dilüsyon tamponu eklendi. Sonrasında 100 µL standart, kontrol ve 50 µL rat periton sıvısı numuneleri olacak şekilde pleyt üzerinde belirlenen kuyucuklara yüklendi. Sonrasında 50 µL Rat VEGF Biotin Konjugat çözeltisi ilavesinin ardından pleyt kaplanarak iki saat boyunca 37 °C' de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından pleyt altı kez

yıkama tamponuyla yıkandı ve pleytin her bir kuyucuğuna 100 µL Streptavidin-HRP Working çözeltisi ilave edildi. Pleyt kaplanarak bir saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı ve ardından altı kez yıkama tamponuyla yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µL Stabillenmiş Kromojen çözeltisi ilave edilerek, 30 dakika boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edildi. Son olarak reaksiyonun durdurulması için Stop çözeltisinden 100 µL eklenerek örnek absorbansları 450 nm’de VERSA mikrolept okuyucu ile ölçüldü. Hasta ve kontrol örneklerine ait rat periton sıvısı VEGF konsantrasyonları aşağıdaki standart grafiği yardımı ile hesaplandı ve sonuçlar pg/ml cinsinden verildi (Grafik 4).



**Grafik 4.** Periton Sıvısında VEGF Değerlendirilmesi

### 3.7. Dokunun Histopatolojik Değerlendirilmesi

Doku örnekleri % 10 formaldehit içinde 24 saat saklanarak tespit edildi. Alkol, ksilol ve parafin aşamalarını içeren rutin takip sonrası hazırlanan parafin bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesitler hemotoksilen eozin ile boyanarak Olympus BX- 51 model ışık mikroskopi kullanarak iki bağımsız patolog tarafından değerlendirildi. Periton zarındaki inflamasyon, fibrozis ve vaskülarizasyon 40’lık büyütmede sayılarak semikantitatif olarak derecelendirildi. İnflamasyon için mezotel hücrelerinin normal veya reaktif olması, fibrozis için ödem ve kollajen birikimi değerlendirildi. Her üç parametre için özellik yok: 0, hafif: 1, orta: 2, şiddetli: 3 olarak derecelendirme yapıldı.

### 3.8. İstatiksel Analizler

İstatiksel analiz için SPSS 13.0 paket program kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler, kategorik değişikler için sayı ve yüzdeler, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, minimum, maksimum ve ortanca olarak sunuldu. Bağımsız gruplarda kategorik değişkenlerin karşılaştırmaları için Ki- Kare testi, sayısal karşılaştırmalarda normal dağılım varsayımı sağlanan durumlarda One-Way ANOVA, normal dağılımı varsayımı sağlanamayan durumlarda Kruskal-Wallis Test, alt grup karşılaştırmalarında normal dağılım koşulu sağlanmayan durumlarda Bonferroni düzeltmesi ile Mann Whitney U testi ile anlamlıklarına bakıldı. İstatiksel anlamlılık olarak p değeri  $< 0.05$  olması kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışma 64 adet Spraque Dawley ırkı 8-10 haftalık erkek cinsiyetinde rat ile yapıldı. Çalışma sırasında P2a grubundan iki adet rat takip süreleri tamamlanmadan kaybedildi. Bu ratların sadece periton örnekleri alınabildi. Ratların gruplara göre dağılımı Tablo 14’de gösterilmiştir.

**Tablo 14.** Ratların Gruplara Göre Dağılımı

Gruplar	Rat sayısı	Vücut ağırlığı (g)	Yapılan işlem	Sonlandırıldığı gün
S1	8	271.50 ± 45.34	P(-)/ AB (-)/ MKH (-)	56
S2	8	306.25 ± 43.94	P(-)/ AB (+) / MKH (-)	56
P1a	8	308.25 ± 22.34	P(+)/ AB (+)/ MKH (-)	14
P1b	8	253.00 ± 11.92	P(+)/ AB (+)/ MKH (-)	56
P2a	8	243.00 ± 26.59	P(+)/ AB (+)/ MKH (+)	14
P2b	8	272.31 ± 59.12	P(+)/ AB (+)/ MKH (+)	56
P3	16	276.35 ± 30.18	P(+)/ AB (-)/ MKH (+)	14

(P: Peritonit, AB: antibiyotik, MKH: mezenkimal kök hücre)

Çalışmada vankomisin almayan sağlam grup (S1) ile vankomisin alan sağlam grup (S2) arasında yapılan değerlendirmede D1/D0 glukoz, D/P kreatinin, ultrafiltrasyon, sitokin seviyeleri ve histopatolojik değerlendirmede istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (p=1.000). Bu nedenle her iki grup sağlam grup olarak birleştirildi.

Toplam 62 rata PET uygulandı. Çalışma grupları arasında D kreatinin, P kreatinin, D/P kreatinin, peritoneal eşitlenme skoru Tablo 15’te gösterilmiştir. D/P kreatinin oranı açısından değerlendirmede peritonit olup sadece antibiyotik alan grup periton geçirgenlik skorlamasına göre iyi iken diğer gruplar ön çalışmadaki iki ratta olduğu gibi çok iyi idi. Peritoneal eşitlenme testi sonucunda peritoneal geçirgenlik skoruna göre sağlam grubun diğer gruplarla ikili karşılaştırmasında peritonit olup antibiyotik alan grubun istatistiksel olarak anlamlı bir düşüklüğü saptandı (p=0.001).

**Tablo 15.** Sağlam Gruba Göre D kreatinin, P kreatinin ve D/P Kreatinin Oranının Değerlendirilmesi

Gruplar	D kreatinin (mg/dl)	P kreatinin (mg/dl)	D/P kreatinin	Peritoneal Geçirgenlik skorlaması
<b>S</b>	0.31 ± 0.04	0.35 ± 0.14	0.96 ± 0.24	Çok iyi <sup>a</sup>
<b>P1</b>	0.22 ± 0.06	0.30 ± 0.07	0.74 ± 0.13	İyi <sup>b</sup>
<b>P2</b>	0.28 ± 0.05	0.30 ± 0.04	0.95 ± 0.14	Çok iyi
<b>P3</b>	0.28 ± 0.09	0.27 ± 0.08	1.12 ± 0.46	Çok iyi

p<sup>a-b</sup>=0.001

Diyalizat/plazma kreatinin oranı açısından gruplar arasında ikili karşılaştırmada peritonit olup sadece MKH alan grubun peritonit olup sadece antibiyotik alan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir yüksekliği saptandı (p<0.05). Peritonit olup antibiyotik ve MKH alan grubun ise peritonit olup sadece MKH alan grup gibi sağlam gruba benzer sonuçları olduğu görüldü. Peritonit olup sadece MKH alan grubun diğer gruplarla D/P kreatinin oranı açısından ikili karşılaştırması Tablo 16’da verilmiştir.

**Tablo 16.** Peritonit Olup Mezenkimal Kök Hücre Tedavisi Alan Grubun D/P Kreatinin Oranına Göre Diğer Gruplarla İkili Karşılaştırılması

	<b>S</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>
<b>D/P kreatinin</b>			
<b>P3 (1.12 ± 0.46)</b>	0.96 ± 0.24 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.13 <sup>b</sup>	0.95 ± 0.14

p<sup>a-b</sup>=0.002

Birinci saat diyalizat glukoz düzeyi, D1/D0 glukoz oranı, alınan volum ve ultrafiltrasyon Tablo 17’de gösterilmiştir. Sağlam gruba D1 glukoz değeri, D1/D0 glukoz oranı, alınan volum ve ultrafiltrasyon açısından gruplar arası değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Ancak sağlam gruba göre D1/D0 glukoz oranında peritonit olup sadece antibiyotik tedavisi alan grupta istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile daha düşük olduğu gözlemlendi (p=0.08).

**Tablo 17.** Sağlam Gruba Göre Peritoneal Eşitleme Testindeki D1 Glukoz- D1/D0 Glukoz Oranı- Volüm- Ultrafiltrasyon Değerlendirilmesi

Gruplar	D1 glukoz (mg/dl)	D1/D0 glukoz	Alınan volüm (ml)	Ultrafiltrasyon (ml)
S	1420 ±345	0.36±0.09	18.4 ± 5.3	-1.6 ± 5.3
P1	1080 ± 384	0.28 ± 0.10	18.0 ± 6.3	-2.1 ± 6.3
P2	1352 ± 369	0.35 ± 0.07	18.0 ± 7.3	-1.9 ± 7.3
P3	1207 ± 392	0.31 ± 0.10	14.65 ± 8.3	-5.34 ± 8.4

p&gt;0.05

Periton dokuları hemotoksilen eozin boyası ile boyandı. İnflamasyon, fibrozis ve vaskülarizasyon açısından değerlendirme yapıldı. İnflamasyon açısından yapılan değerlendirmede sağlam göre yüksek oranda inflamasyon peritonit olup sadece antibiyotik alan grupta olduğu gözlemlendi (p=0.001) (Tablo 18). Toplam sekiz ratta inflamasyon gözlemlendi. Yedi ratta periton dokusunda inflamasyon derecesi hafif olarak saptandı. Bir ratta ise inflamasyonun orta şiddette olduğu gözlemlendi.

**Tablo 18.** Sağlam Gruba Göre İnflamasyon Açısından Diğer Grupların Histopatolojik Değerlendirmesi

Gruplar	İnflamasyon, n(%)	
	Yok	Var
S	16 (100)	0 (0) <sup>a</sup>
P1	8 (50)	8 (50) <sup>b</sup>
P2	13 (81)	3 (19)
P3	16 (100)	0 (0)

p<sup>a-b</sup>=0.001

Sağlam gruba göre fibrozis açısından yapılan değerlendirme Tablo 19'da verilmiştir. Tüm deneklerde histopatolojik değerlendirmede fibrozis skoru hafif şiddette olduğu saptandı. Sağlam gruba göre yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı fibrozis peritonit olup antibiyotik tedavisi alan grupta (P1) saptandı (p= 0.018). Bu grupta toplam 6 ratta fibrozis gözlemlendi.

**Tablo 19.** Sağlam Gruba Göre Fibrozis Açısından Diğer Grupların Histopatolojik Değerlendirmesi

Gruplar	Fibrozis, n (%)	
	Yok	Var
S	16 (100)	0 (0) <sup>a</sup>
P1	10 (63)	6 (38) <sup>b</sup>
P2	15 (94)	1 (6)
P3	14 (88)	2 (13)

$p^{a-b}=0.018$

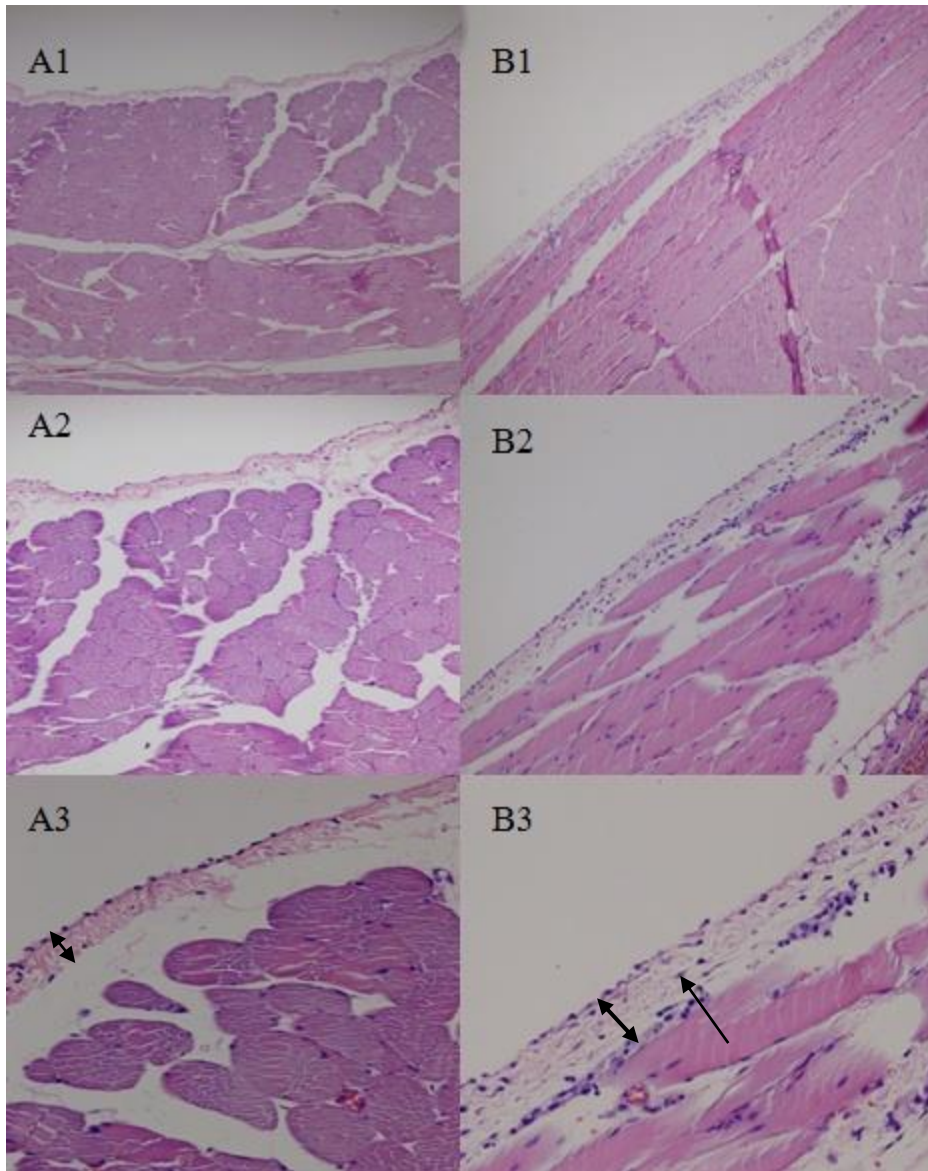
Histopatolojik açıdan sağlam gruba göre yapılan değerlendirmede vaskülarizasyon açısından yapılan karşılaştırma Tablo 20'de verilmiştir. Vaskülarizasyon gruplar arasında en çok peritonit olup sadece antibiyotik alan grupta fazla olduğu gözlemlendi. Sağlam gruba göre vaskülarizasyon açısından gruplar arası değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ( $p>0.05$ )

**Tablo 20.** Sağlam Gruba Göre Vaskülarizasyon Açısından Diğer Grupların Histopatolojik Değerlendirmesi

Gruplar	Vaskülarizasyon, n (%)	
	Yok	Var
S	16 (100)	0 (0)
P1	13 (81)	3 (19)
P2	15 (94)	1 (6)
P3	16 (100)	0 (0)

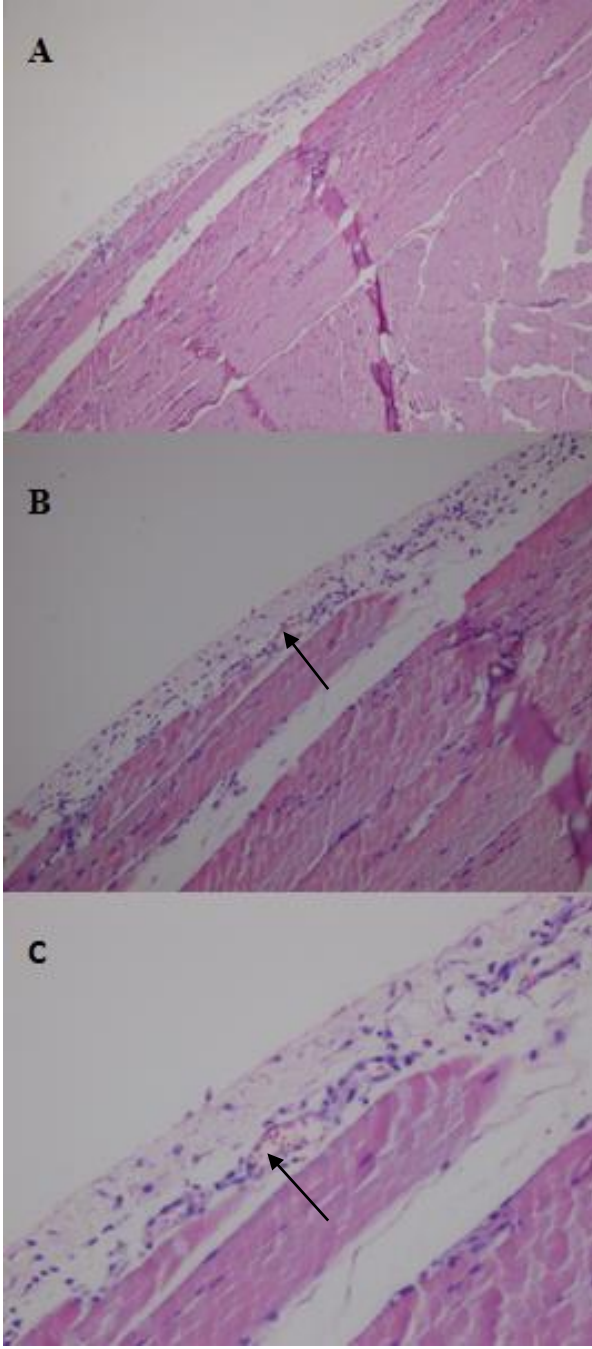
$p>0.05$

İnflamasyon ve fibrozis Resim 5'de, vaskülarizasyon Resim 6'da gösterilmiştir.



**Resim 5. A:** S1 , B: P1 Gruplarında Periton Dokusunun Histopatolojik Görünümü: S1 (Resim 5A1, 5A2, 5A3) grubunda normal periton dokusu, P1 (Resim 5B1, 5B2, 5B3) grubunda hafif derecede inflamasyon, submezotelial kalınlıkta artış ve fibrozis izlendi (A1, B1: x10; A2, B2: x20; A3, B3: x40).





**Resim 6.** Periton Dokusunda Vaskülarizasyon (A:x10, B:x20, C:x40) Patolojik preparatlarda periton üzerinde mezotel hücreleri arasında meydana gelen vaskülarizasyon izlenmektedir.

Gruplar arası TNF-  $\alpha$  açısından değerlendirme Tablo 21’de verilmiştir. TNF-  $\alpha$  açısından değerlendirmede sağlam gruba göre karşılaştırmada peritonit olup sadece antibiyotik tedavisi alan grup anlamlı olarak diğer gruplardan daha yüksek bir değere sahipti ( $p= 0.027$ ).

**Tablo 21.** Sağlam Gruba Göre TNF-  $\alpha$  Değerlendirilmesi

Gruplar	TNF- $\alpha$ (pg/ml)
S	59 $\pm$ 12 <sup>a</sup>
P1	422 $\pm$ 46 <sup>b</sup>
P2	64 $\pm$ 17
P3	114 $\pm$ 77

$p^{a-b} = 0.027$

TNF-  $\alpha$  değeri en yüksek peritonit olup sadece antibiyotik alan grupta mevcuttu. Peritonit olup sadece antibiyotik alan gruba göre ikili karşılaştırma Tablo 22’de verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde peritonit olup sadece antibiyotik tedavisi alan grubun TNF-  $\alpha$  değeri sağlam grup ile peritonit olup antibiyotik ve MKH alan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekliği olduğu görüldü.

**Tablo 22.** Peritonit Olup Vankomisin Tedavisi Alan Grubun Diğer Gruplarla TNF-  $\alpha$  Açısından İkili Karşılaştırılması

	P1	S	P2	P3
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	422 $\pm$ 46 <sup>a</sup>	59 $\pm$ 12 <sup>b</sup>	64 $\pm$ 17 <sup>c</sup>	114 $\pm$ 77

$p^{a-b} = 0.027, p^{a-c} = 0.031$

Gruplar arası TGF-  $\beta$ 1 açısından değerlendirme Tablo 23’te verilmiştir. TGF-  $\beta$ 1 açısından değerlendirmede gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 23.** Sağlam Gruba Göre TGF-  $\beta$ 1 Değerlendirilmesi

<b>Gruplar</b>	<b>TGF- <math>\beta</math>1 (pg/ml)</b>
<b>S</b>	224 $\pm$ 17
<b>P1</b>	227 $\pm$ 31
<b>P2</b>	215 $\pm$ 21
<b>P3</b>	237 $\pm$ 40

p>0.05

Gruplar arası IL-6 açısından değerlendirme Tablo 24’te verilmiştir. IL- 6 açısından değerlendirildiğinde peritonit olup sadece MKH alan grubun sağlam gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir yüksekliği varken diğer gruplarla istatistiksel bir anlamlılık saptanmadı ( p =0.003) (Tablo 25).

**Tablo 24.** Sağlam Gruba Göre IL-6 Değerlendirilmesi

<b>Gruplar</b>	<b>IL-6 (pg/ml)</b>
<b>S</b>	22637 $\pm$ 2150 <sup>a</sup>
<b>P1</b>	24895 $\pm$ 3079
<b>P2</b>	26469 $\pm$ 5450
<b>P3</b>	29320 $\pm$ 8260 <sup>b</sup>

p<sup>a-b</sup>= 0.003

**Tablo 25.** Peritonit Olup Mezenkimal Kök Hücre Tedavisi Alan Grubun Diğer Gruplarla IL-6 Açısından İkilî Karşılaştırılması

<b>P3</b>	<b>S</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>
<b>IL-6</b> (29320 $\pm$ 8260pg/ml)	22637 $\pm$ 2150	24895 $\pm$ 3079	26469 $\pm$ 5450
<b>p değeri</b>	<b>0.003</b>	0.160	1.000

VEGF açısından gruplar arası değerlendirme Tablo 26’da verilmiştir. VEGF ortalama düzeyi en yüksek değer peritonit olup MKH alan grupta idi.

**Tablo 26.** Sağlam Gruba Göre VEGF Değerlendirilmesi

<b>Gruplar</b>	<b>VEGF (pg/ml)</b>
<b>S</b>	11.5 ± 1.7 <sup>a</sup>
<b>P1</b>	14.7 ± 11.07
<b>P2</b>	17.9 ± 11.9 <sup>b</sup>
<b>P3</b>	21 ± 19.6 <sup>c</sup>

p<sup>a-b</sup>= 0.006, p<sup>a-c</sup>= 0.002

Sağlam gruba göre peritonit olup vankomisin ve MKH alan grup ile sadece MKH alan grubun diğer gruplarla ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi (p<0.05). Peritonit olup vankomisin ve MKH alan grup ile peritonit olup MKH alan grubun kendi aralarında ikili karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı (p=0.406). Tablo 27’de peritonit olup MKH alan grubun diğer gruplarla ikili karşılaştırması verilmiştir.

**Tablo 27.** Peritonit Olup MKH Alan Grubun Diğer Gruplarla İkili Karşılaştırması

<b>P3</b>	<b>S</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>
<b>VEGF</b>			
(21 ± 19.6 pg/ml)	11.5 ± 1.7	14.7 ± 11.07	17.9 ± 11.9
<b>p değeri</b>	<b>0.02</b>	<b>0.02</b>	0.40

## 5. TARTIŞMA

Rutin olarak periton diyalizi 1970'li yıllardan beri hemodiyalize alternatif yöntem olarak RRT'de kullanılmaktadır (4). SAPD hastalarında en sık karşılaşılan komplikasyon tekrarlayan peritonit ataklarıdır. Yine bu durum aynı hasta grubunda en sık hastaneye yatış nedenidir (1). Tekrarlayan peritonit atakları sonucunda etkin bir periton diyalizi yapılamamakta, RRT amacıyla hemodiyalize geçilen hasta sayısı yadsınmayacak şekilde fazla olmaktadır. Hasta grubu pediatrik yaş grubu olunca bu durum hem hekim hem de hasta ve ailesi açısından önemli bir sorun teşkil etmektedir.

İnsanlarda peritonit durumunda yapılan peritoneal eşitlenme testinde D/P kreatinin oranı artmaktadır. Bu da mevcut inflamasyon sonucu geçirgenliğin arttığını göstermektedir. Golembiewska ve arkadaşlarının (94) SAPD hastalarında yaptığı bir çalışmada peritonit atağı geçirmiş hastaların D/P kreatinin oranı peritonit olmayanlara göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır. Chen ve arkadaşlarının (95) yaptığı bir çalışmada da peritonit atağı sırasında yapılan PET sonuçları değerlendirildiğinde D/P kreatinin oranının yüksek ve D1/D0 glukoz oranının düşük olduğu saptanmıştır.

Baştuğ ve arkadaşlarının (84) yaptığı çalışmada deneysel periton diyaliz modelinde MKH kullanımının D/P kreatinin ve D/D0 glukoz oranları değerlendirilmiş kontrol grubuna göre MKH alan grupta D/P kreatinin oranının düşük, D/D0 glukoz oranının ise yüksek olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda D/P kreatinin oranı peritonit olup sadece antibiyotik alan grupta azalmış olduğu, diğer grupların ise S grubuna benzer sonuçlarının olduğu saptandı. Peritoneal geçirgenlik skorlamasına göre peritonit olup sadece antibiyotik alan grup iyi geçirgen iken diğer gruplar çok iyi geçirgen idi. Sağlam grupta tüm deneklerin peritoneal geçirgenlik skoru çok iyi idi. Ön çalışmamızda da aynı sonuçları aldık. D1/D0 glukoz oranında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu nedenle bizim çalışmamızda meydana gelen inflamasyon ile peritoneal geçirgenliğin azaldığı görüldü. Peritoneal eşitlenme testinde yapılan ultrafiltrasyon değerlendirmesinde gruplar arasında ultrafiltrasyon açısından anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

Periton diyalizinde etkin bir diyalizin yapılamamasının nedeni peritonit atağı sırasında oluşan inflamasyon ile meydana gelen fibroblastik aktivite ve bu aktivasyon sonucu oluşmuş fibrozisdir. Burada artmış bir koagülasyon ve azalmış bir fibrinoliz söz konusudur (96). Fibrozis; periton yaprakları arasında oluştuğunda bu yapraklar arasında yapışıklıklar meydana getirebilir ve etkin periton geçiş yüzey alanı ortadan kalkar. Periton diyalizi uygulanması sonucu peritonda meydana gelen histopatolojik değişiklikleri önlemek için yapılan bir çalışmada siklooksijenaz-2 inhibitörleri (COX-2 inhibitörü) kullanılmış, sonucunda COX-2 inhibitörü kullanılmayan gruba göre submezotelyal kalınlığın kontrol grubuna benzer olduğu, inflamatuvar hücrelerin daha az olduğu saptanmıştır (97).

Literatürde peritonit atakları sırasında açığa çıkan inflamasyonun baskılanması için bir çok ajan kullanılmıştır. Heparin; peritonit sırasında ortamdaki fazla trombinin antitrombin III (AT 3) ile bağlanmasını sağlar (98). Bu da fibroblastik aktivitenin azalmasına ve daha az fibrozise yol açmaktadır. Bu işlem AT 3' ün kendisi ile de gerçekleştirilebilir. Akman ve arkadaşlarının (5) yaptığı bir çalışmada deneysel peritonit modelinde AT 3 ve heparin uygulamaları değerlendirildiğinde AT 3 grubunda erken dönemde heparin grubuna göre daha az inflamasyon ve fibrozis olduğu gösterilmiştir. Hür ve arkadaşlarının (6) yaptığı başka bir çalışmada da bir sandostatin analogu olan oktreotidin antiproliferatif etkinliğinden yararlanarak peritonit grubunda proliferasyonun engellenip engellenmeyeceği açısından deneysel bir araştırma yapılmış, peritonit olup antibiyotik ve oktreotid alan grup, peritonit olup tedavi edilmeyen grup ve peritonit olup sadece antibiyotik alan grupla karşılaştırıldığında sağlam grup ile benzer sonuçlarının olduğu ve yine bu grupta sağlam grup gibi inflamasyonun olmadığı gösterilmiştir.

Mezenkimal kök hücreler kemik iliğinde bulunan hematopoetik hücrenin stromaya tutunmasını sağlayıp birden çok hücreye dönüşebilme özelliği olan hücrelerdir (7). Bölünme özelliğini durdurup G0 fazında kalır ve bu özelliği ile kök hücre rezervi de oluşturabilmektedir. Yine lüzum halinde buldukları nişlerden başka dokulara migrasyon yapabilirler (8, 9). İmmünojenitesinin düşük olması ve HLA-DR ekspresyonu yapmama özellikleri vardır (12). Enzim sentezleyebilirler. Böylece kalıtsal enzim defektlerinde kullanılabilirler (11). Parakrin olarak salgıladıkları IL-6 ve VEGF ile anjiogenezi indüklediği ve bu nedenle diyabetik ülserlerde kullanıldığı gösterilmiştir. Ancak bu etki tümör hücresinde invazyonu hızlandırıp metastazlara neden olabilmektedir (92, 93).

Tu ve arkadaşları (99) deneysel akut pankreatit oluşturulmuş ratlarda MKH'in inflamasyon üzerine etkinliğine baktıklarında MKH verilen grupta verilmeyen gruba göre histopatolojik olarak inflamasyonun az olduğu TNF- $\alpha$  ve serum amilaz seviyelerinin MKH verilmeyen gruba göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada ince barsak mukozadaki hasarlanmanın MKH alan grupta azalmış olduğu gösterilmiştir. Meng ve arkadaşları (100) da bu çalışmaya benzer şekilde deneysel akut pankreatit vakalarında MKH verilen grupta verilemeyene göre daha az miktarda inflamasyon olduğunu saptanmıştır. Humphreys ve arkadaşları (101) da akut böbrek hasarında MKH kullanımının inflamasyonu baskıladığını göstermiştir. Ringden ve arkadaşlarının (102) yaptığı bir çalışmada kemoradyoterapi alan hemorajik sistit gelişmiş on hastaya MKH verilmiş, izlemleri sırasında eritrosit, taze donmuş plazma ve trombosit süspansiyonu ihtiyaçlarının azaldığı görülmüştür. Kaybedilen hastalardan yapılan otopsilerde ise mesanedeki inflamasyonu azaldığı saptanmıştır. Guo ve arkadaşlarının (103) yaptığı deneysel akut miyokard enfarktüs modelinde uygulanan mezenkimal kök hücrenin dört hafta sonraki değerlendirmesinde inflamatuvar sitokin miktarında diğer gruba göre azalma olduğu, patolojik değerlendirmesinde de infarkt alanında azalma olduğu gösterilmiştir. Soylu ve arkadaşlarının (85) deneysel piyelonefrit modelinde MKH kullanımı ile interstisiyel ve intratübüler inflamasyonun azaldığı, tübüler atrofinin ve fibrozisin sadece antibiyotik alan gruba göre daha az olduğu saptanmıştır.

Biz de çalışmamızda MKH'nin antiinflamatuvar özelliğinin peritonitin oluşturduğu fibrozisi engelleyebileceğini, inflamasyon ve vaskülarizasyonu azaltabileceğini göstermeyi amaçladık. Bu nedenle çalışma sonunda yapılan değerlendirmede alınan periton dokularının histopatolojik incelemesinde MKH verilmiş olan grupların sağlam grup ile eşdeğer olduğu saptanırken peritonit olup sadece antibiyotik tedavisi alan grupta inflamasyon ve fibrozisin daha fazla olduğu gösterildi. Vaskülarizasyon açısından sağlam gruba göre yapılan değerlendirmede de peritonit olup antibiyotik alan grupta vaskülarizasyon daha yüksek olmakla birlikte, istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sağlam gruba göre peritonit olup sadece antibiyotik alan grubun istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Peritonit atağı sırasında ortamda bulunan makrofajlardan TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-1 gibi sitokinler salgılanmaktadır. Bu sitokinler fibroblastları aktive ederler. Aktive olmuş fibroblastlar ekstrasellüler matriks oluşumunu artırır. Bu olayda en çok TGF- $\beta$ 1

suçlanmaktadır. Artan ekstrasellüler matriks mezotelyal kök hücrelerin remezotelizasyonuna engel olur. Bu etkiyle zamanla peritoneal fibrozis meydana gelir (76). Szeto ve arkadaşlarının (70) yaptığı bir çalışmada SAPD hastalarında peritonit atağı sırasında TNF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$ 1 düzeylerinin yüksek olduğu görüldü. Cho ve arkadaşları (104) da aynı şekilde peritoneal inflamasyon sırasında bu sitokinlerin arttığını göstermiştir. Zemel ve arkadaşlarının (105) SAPD hastalarının peritonit atakları sırasında TNF- $\alpha$  ve prostoglandin seviyelerinde akut dönemde yükselme olduğu bu nedenle kapiller geçirgenlikteki artışa bağlı olarak ultrafiltrasyonda azalmanın olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da TNF- $\alpha$  düzeyi açısından yapılan değerlendirmede peritonit olup sadece antibiyotik alan grupta daha yüksek idi. TGF-  $\beta$ 1 açısından yapılan değerlendirmede ise istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı.

İnterlökin-6 inflamasyon sırasında mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar, epitelyum hücreleri, aktive T- lenfositleri tarafından sentezlenen bir sitokindir (74). Cho ve arkadaşlarının (104) SAPD hastalarında yaptığı bir çalışmada peritoneal inflamasyon sırasında alınan periton sıvısı örneklerinde IL-6 düzeyinde istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Hür ve arkadaşlarının (6) yaptığı deneysel peritonit modelinde de peritonit olup antibiyotik alan grupta IL-6 düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olabilecek bir yüksekliği vardı. MKH salgıladığı IL-6 düzeyi ile ortamdaki IL- 6 düzeyini arttırmaktadır (90). Bizde çalışmamızda IL-6 düzeyini MKH tedavisi alan grupta daha fazla olduğu gördük.

Szeto ve arkadaşlarının (70) yaptığı bir çalışmada ise SAPD hastalarının peritonit atağı sırasında birinci günlerinde alınan periton sıvısında VEGF seviyelerinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu saptanmıştır. VEGF'ye göre ters orantılı olarak istatistiksel olarak anlamlı ultrafiltrasyonda azalma olduğu görülmüştür. Bu durumun artmış VEGF ile kapiller geçirgenliğin artması nedeniyle olduğu düşünülmüştür. Verilen antibiyotik tedavisi sonrası hastalarda VEGF düzeyinin azaldığı ve ultrafiltrasyonun zamanla düzeldiği saptanmıştır (106). Peritonit atağı periton dokusu üzerinde vasküler değişikliklere neden olmaktadır. Bu durumda ortamdaki makrofajlar ve mezotel hücreleri tarafından VEGF salınımı olmaktadır (107). Artan VEGF ise nitrik oksit sentazı artırır. Böylece vasküler geçirgenlik artar. İnflamasyon başlar (108). Bu durumda artmış kapiller geçirgenlik ile yapılan periton diyalizinde ultrafiltrasyonda azalma saptanır (106). Aynı zamanda MKH parakrin olarak IL-6 gibi ortama VEGF' de salmaktadır. Bizim çalışmamızda gruplar



arasında VEGF açısından yapılan değerlendirmede sağlam gruba göre peritonit olup antibiyotik ve MKH alan grup ile peritonit olup sadece MKH alan grupta istatistiksel olarak yükseklik saptandı. Bu durum MKH'nın bizzat kendisinin VEGF sekrete etmesi ile açıklanabilir (93).

Son dönem böbrek yetmezliğinde RRT olarak periton diyalizi yüksek oranda kullanılmaktadır. Periton diyalizinin en sık görülen komplikasyonu ve bu nedenle en sık hastaneye yatış nedeni peritonittir. Tekrarlayan peritonit ataklarıyla periton zarında geçiş bozulur ve etkin bir diyaliz yapılamaz. Bu nedenle RRT olarak hemodiyalize geçilmek zorunda kalınmaktadır. Bu çalışmanın verilerine göre MKH uygulaması bu amacı gerçekleştirebilecek müdahaleler arasında görülebilir. Bu konuda daha net bir fikir sahibi olabilmek için daha büyük serileri içeren çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmanın bu amaçla yapılacak yeni çalışmalara nc olabileceği düşüncesindeyiz.

## 6. SONUÇ

Çalışmada vankomisin ile tedavi edilen stafilokokal peritonitli olmuş ratlarda mezenkimal kök hücre uygulamasının inflamasyon ve fibrozis üzerine etkinliği araştırıldı.

1. Sağlam gruba göre yapılan peritoneal eşitleme testinde peritonit olup sadece vankomisin tedavisi alan grup dışında tüm gruplar peritoneal geçirgenlik skorlamasına göre çok iyi geçirgen idi. Peritonit olup sadece antibiyotik alan grupta ise geçirgenlik azalmış ve iyi geçirgen düzeyine düşmüştü ( $p= 0.001$ ).
2. Sağlam gruba göre yapılan peritoneal eşitleme testinde gruplar arasında ultrafiltrasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi.
3. Sağlam gruba göre D1/D0 glukoz oranının diğer gruplarla karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).
4. Gruplar arasında TNF- $\alpha$  açısından değerlendirme yapıldığında peritonit olup vankomisin tedavisi alan grupta diğer gruplara kıyasla TNF- $\alpha$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı derecede yükseklik saptandı ( $p= 0.027$ ).
5. Gruplar arasında TGF- $\beta$ 1 düzeyi açısından yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).
6. Sağlam gruba göre IL-6 düzeyi açısından yapılan gruplar arası karşılaştırmada peritonit olup MKH alan grupta istatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptandı ( $p=0.003$ ). Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).
7. IL-6 düzeyinin peritonitli olup MKH uygulanan grupta yüksek olması mevcut sitokinin antiinflamatuvar yanıtta da görevli olması ile ya da MKH'ın kendisinin parakrin olarak bu sitokini sekrete etmesi ile açıklanabilir.
8. Sağlam gruba göre VEGF düzeyi açısından yapılan gruplar arası karşılaştırmada; peritonitli olup vankomisin ve MKH alan grup ile peritonitli olup sadece MKH alan

grupta istatistiksel olarak anlamlı VEGF yüksekliği saptandı (Sırası ile  $p=0.006$ ,  $p=0.002$ ).

9. Peritonit olup MKH alan grup ile peritonit olup vankomisin ve MKH alan grupta VEGF'nin yüksek olması MKH'ın kendisinin parakrin olarak bu sitokini sekrete etmesi ile açıklanabilir.
10. Vankomisin verilmeyen sağlam grupta inflamasyon ve fibrozis saptanmadı.
11. Vankomisin verilen sağlam grup, verilmeyen sağlam grupla kıyaslandığında ölçülen tüm parametreler benzer olup istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır. Bu durum intraperitoneal antibiyotik uygulamasının tek başına histopatolojik değişiklik, sitokin düzeyi ve peritoneal geçirgenlik üzerine etkisinin olmadığını düşündürmüştür.
12. Peritonit olup vankomisin alan grupta sağlam gruba göre inflamasyon oranı %50 ( $p=0.001$ ), fibrozis oranı ise % 37.5 ( $p=0.018$ ) olarak artış saptandı.
13. Peritonit olup vankomisin alan grupta sağlam gruba göre vaskülarizasyon oranı %18.7 olarak artış saptandı ( $p= 0.22$ ).
14. Peritonit olup vankomisin ve MKH alan grupta sağlam gruba göre inflamasyon oranı %19 ( $p=0.22$ ), fibrozis oranı %6 ( $p=1.000$ ) ve vaskülarizasyon oranı ise %6 ( $p=1.000$ ) olarak artış saptandı.
15. Peritonit olup sadece MKH alan grupta sağlam gruba göre inflamasyon ve vaskülarizasyonda artış yok iken fibrozis oranı %12.5 olarak artış saptandı ( $p= 0.48$ ).

## 7. ÖZET

### VANKOMİSİN İLE TEDAVİ EDİLEN DENEYSSEL STAFİLOKOKAL PERİTONİT MODELİNDE MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KULLANIMININ PERİTONEAL FONKSİYONLAR VE FİBROZİS ÜZERİNE ETKİSİ

**Amaç:** Sürekli periton diyalizi hastalarında peritonit; peritoneal sıvı içerisinde milimetreküpte 100' ün üzerinde beyaz küre ve bunun %50 den fazlasının polimorfonüveli lökosit olması şeklinde tanımlanır. Sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) uygulanan hastalarda hastaneye yatışın en sık sebebi peritonittir. Tekrarlayan peritonit atakları periton üzerinde yapışıklıklara neden olabilmektedir. Bu durumda etkin bir periton diyalizi yapılamamakta başak bir renal replasman tedavisine geçilmek zorunda kalılabilmektedir. Geçmişte peritonitte meydana gelen inflamasyon ve fibrozisin engellenmesine yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışma, mezenkimal kök hücrenin (MKH) peritonit tedavisinde gelişebilecek peritoneal fonksiyonları düzenleme ve fibrozisi engelleyip engellemeyeceğini göstermek amacı ile gerçekleştirildi.

**Materyal-Metod:** Çalışmada 198- 357 g ağırlığında Spraque Dawley ırkından 8-10 haftalık toplam 64 adet erkek cinsiyette ratlar kullanıldı. Çalışmada 64 rat rastgele dört eşit gruba ayrıldı. Gruplar sağlam grup (S), peritonit olup sadece antibiyotik alacak grup (P1), peritonitli olup antibiyotik ve MKH alacak grup (P2) ve peritonitli olup sadece MKH alacak grup (P3) şeklinde düzenlendi. Sağlam grup kendi içerisinde ikiye ayrılmış olup S1 grubuna herhangi bir işlem yapılmadı, S2 grubuna ise enfekte edilmeyip 14 gün boyunca antibiyotik verildi. Peritonit için etken mikroorganizma olarak S. aureus kullanıldı. 0. gün P1, P2 ve P3 grubuna intraperitoneal  $1.5 \times 10^8$  CFU S. aureus enjekte edildi. Antibiyotik (vankomisin) tedavisi P1 ve P2 için denekler enfekte edildikten 24 saat sonra ve S2 için ilk gün başlandı. Vankomisin (Edicin®) intraperitoneal 30 mg/kg 14 gün boyunca her gün aynı saatte günde tek doz olacak şekilde uygulandı. Antibiyotik sulandırılıktan sonra her bir rat için vücut ısısında %1.36'lık diyaliz solusyonu ile 5 ml'ye tamamlanarak ayrı enjektörlerle verildi. P2 ve P3 gruplarda MKH enfekte edildikten 24 saat sonra 1.5 milyon/kg/doz olacak şekilde intraperitoneal olarak insülin enjektörü ile bir kez uygulandı. Çalışmanın tamamlandığı gün deneklere mini PET testi yapıp, sitokin değerlendirmesi için periton sıvısı numunesi alındı. Ayrıca histopatolojik değerlendirme için doku örnekleri alındı.

**Bulgular:** MKH'in fonksiyonel etkinliğini değerlendirmek amacıyla yapılan peritoneal eşitlenme testinde gruplar arası değerlendirmede P1 grubunda D/P kreatinin oranının azaldığı ve peritoneal geğirgenliğin dūřtūęü gözlendi ( $p=0.001$ ). Gruplar arası TNF- $\alpha$  düzeyi ağısından değerlendirmede TNF-  $\alpha$  düzeyi P1 grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak yūksekti ( $p=0.027$ ). TGF- $\beta$ 1 düzeyi ise gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı. IL-6 düzeyi ağısından gruplar değerlendirildiğinde P3 grubunda istatistiksel olarak anlamlı yūksək saptandı ( $p=0.003$ ). VEGF düzeyi ise P2 ve P3 grubunda anlamlı derecede yūksək idi (Sırasıyla  $p=0.006$ ,  $p=0.002$ ). Bu sitokinlerdeki artışların MKH'in bu sitokinleri sekrete etmesinden kaynaklanmış olabileceği dūřünüldü. IL-6 ięin bu artışın ayrıca kendisinin antiinflamatuvar etkinliğinden kaynaklanmış olabileceğini de akla getirmektedir. İnflamasyon ve fibrozis P1 grubunda daha fazla idi (sırasıyla  $p= 0.001$ ,  $p=0.018$ ). Ancak inflamasyon ve fibrozisin gruplar arasındaki değerlendirmede P1 grubu istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken ( $p<0.05$ ), vaskūlarizasyon ağısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

**Sonuç:** Peritonit tedavisinde MKH kullanımı ile peritoneal geğirgenlik azalmış, inflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$  düzeyini baskılamış ve histopatolojik değerlendirmede inflamasyon, fibrozis ve vaskūlarizasyonun daha az olduğu gōsterilmiřtir.

## 8. SUMMARY

### THE EFFECT OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON THE PERITONEAL FUNCTIONS AND FIBROSIS IN THE EXPERIMENTAL STAPHYLOCOCCIC PERITONITIS MODEL TREATED WITH VANCOMYCIN

**Introduction and Objective:** Peritonitis defined as  $> 100 \text{ mm}^3$  white blood cell with  $> 50\%$  polymorphonuclear leukocytes in peritoneal fluid in CAPD patients. Peritonitis is most frequent hospitalization cause in CAPD patients. Most common agent is coagulase negative staphylococci. Recurrent peritonitis could cause adhesions on peritoneal surface. In that case effective peritoneal dialysis can not be done and obliged to change another renal replacement therapy. In past many studies have been done about preventing inflammation and fibrosis in peritonitis. Aim of this study is to observe the effects of mesenchymal stem cell on peritoneal fibrosis and effects of peritoneal functions in treatment of peritonitis.

**Method:** In this study 8-10 weeks age, 198-357 gr, Sprague Dawley race, 64 male rats were used. These 64 rats are randomly assigned to four different groups. Groups are: healthy group (S), peritonitis with only antibiotics (P1), peritonitis with antibiotics and MSC (P2) and peritonitis with only MSC (P3). Healthy group is assigned into two different subgroups as S1 with no treatment and S2 with 14 days of antibiotic treatment. *S. aureus* was used as peritonitis agent and injected  $1.5 \times 10^8$  CFU intraperitoneally in group P1, P2 and P3 on day 0. Antibiotic treatment was started after 24 hours of infection in groups P1 and P2 and first day in S2. Vancomycin (Edicin®) was administered 30mg/kg/day intraperitoneally in one dose, everyday 14 days. Antibiotic was administered to every single rat in body temperature by different injectors with supplemented with 1.36% dialysate solution. Mesenchymal stem cell was administered with insulin injector by intraperitoneally in 1.5 million/kg/dose, single dose in groups P2 and P3 after 24 hours of infection. The last day of study, subjects took in mini PET and peritoneal fluid was taken for cytokine evaluation. Tissue samples were collected for histopathologic evaluation.

**Results:** In Peritoneal equalization test for functional efficiency of MSC, groups were evaluated and only in peritonitis with only antibiotic treatment group (P1), decreased D/P

creatinine ratio and decreased peritoneal permeability were observed ( $p=0.001$ ). TNF- $\alpha$  value is statistically higher in group P1 than other groups ( $p=0.027$ ). TGF- $\beta$ 1 value showed no statistically significant difference between groups. When groups were evaluated for IL-6 values, group P3 were observed statistically higher ( $p=0.003$ ). Also VEGF values were higher in group P2 and P3 ( $p=0.006$ ,  $p=0.002$ ). This condition arised because of these cytokines can be secreted by MSC. This difference of IL-6 give rise to thought that anti-inflammatory activity of IL-6 itself could be the cause. Inflammation, fibrosis and vascularization were evaluated for histopathological effects of MSC and seen more in group P1 ( $p= 0.001$ ,  $p=0.018$ ). However despite inflammation and fibrosis, vascularization shows no statistically significant difference between groups.

**Conclusion:** Decreased peritoneal permeability and supressed inflamatory cytokine TNF- $\alpha$  levels were observed by adding mesencyhmal stem cell to peritonitis treatment. Histopatholog,cal evaluation showed that decreased inflamation,fibrosis and vascularization were observed.

## KAYNAKLAR

1. Chadha V, Schaefer FS, Warady BA: Dialysis-associated peritonitis in children. *Pediatric Nephrology*,25: 425-440, 2010.
2. Keane WF, Bailie GR, Boeschoten E, Gokal R, Golper TA, Holmes CJ, et al: Adult peritoneal dialysis-related peritonitis treatment recommendations: 2000 update. *Perit Dial Int*, 20: 396-411, 2000.
3. Warady BA, Feneberg R, Verrina E, Flynn JT, Muller-Wiefel DE, Besbas N, et al: Peritonitis in children who receive long-term peritoneal dialysis: a prospective evaluation of therapeutic guidelines. *J Am Soc Nephrol*, 18: 2172-2179, 2007.
4. Popovich RP, Moncrief JW, Nolph KD, Ghods AJ, Twardowski ZJ, Pyle WK: Continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol*, 10: 901-910, 1999.
5. Akman S, Koyun M, Gelen T, Coskun M: Comparison of intraperitoneal antithrombin III and heparin in experimental peritonitis. *Pediatric Nephrol*, 23: 1327-1330, 2008.
6. Hür E, Ertilav M, Bozkurt D, Arda B, Sözmen EY, Sen S, et al: Antibiyotik tedavisine ek olarak oktreotid uygulanması deneysel peritonit modelinde ultrafiltrasyon yetmezliğini engelleyebilir. *Ege Journal of Medicine*, 50:167-173, 2011.
7. Perasso L, Cogo CE, Giunti D, Gandolfo C, Ruggeri P, Uccelli A, et al: Systemic administration of mesenchymal stem cells increases neuron survival after global cerebral ischemia in vivo (2VO). *Neural Plast*, 2010: 1-5, 2010.
8. Wilson A, Trumpp A: Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nat Rev Immunol*, 6: 93-106, 2006.
9. Avecilla ST, Hattori K, Heissig B, Tejada R, Liao F, Shido K, et al: Chemokine-mediated interaction of hematopoietic progenitors with the bone marrow vascular niche is required for thrombopoiesis. *Nat Med*, 10: 64-71, 2004.
10. Uccelli A, Laroni A, Freedman MS: Mesenchymal stem cells for the treatment of multiple sclerosis and other neurological diseases. *Lancet Neurol*. 10: 649-656, 2011.
11. Roberts I: Mesenchymal stem cells. *Vox sanguinis*. Suppl 2: 38-41, 2004.
12. Devine SM, Bartholomew AM, Mahmud N, Nelson M, Patil S, Hardy W, et al: Mesenchymal stem cells are capable of homing to the bone marrow of non-human primates following systemic infusion. *Exp Hematol*, 29: 244-255, 2001.
13. Yıldırım M: İnsan Anatomisi. 178, 2001.
14. Healy JC, Reznick RH: The peritoneum, mesenteries and omenta: normal anatomy and pathological processes. *Eur Radiol* 8: 886-900, 1998.



15. Morison R: Remarks on some functions of the omentum. *Br Med J Lond.* 1:76-78, 1906.
16. Twardowski JZ: Physiology of Peritoneal Dialysis. *Clin Dial*, 357-384, 2009.
17. Dobbie JW: New concepts in molecular biology and ultrastructural pathology of the peritoneum: their significance for peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis.* 15: 97-109, 1990.
18. Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP, Agre P: Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *J Biol Chem*, 263: 15634-15642, 1988.
19. Huang HF, He RH, Sun CC, Zhang Y, Meng QX, Ma YY: Function of aquaporins in female and male reproductive systems. *Hum Reprod Update*, 12: 785-795, 2006.
20. Sales AD, Lobo CH, Carvalho AA, Moura AA, Rodrigues AP: Structure, function, and localization of aquaporins: Their possible implications on gamete cryopreservation. *Genet Mol Res*, 12: 6718-6732, 2013.
21. Yamaji Y, Valdez DM, Jr., Seki S, Yazawa K, Urakawa C, Jin B, et al: Cryoprotectant permeability of aquaporin-3 expressed in *Xenopus* oocytes. *Cryobiology*, 53: 258-267, 2006.
22. Saadoun S, Papadopoulos MC, Davies DC, Krishna S, Bell BA: Aquaporin-4 expression is increased in oedematous human brain tumours. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 72:262-265, 2002.
23. Verkman AS: More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins. *J Cell Sci*, 118: 3225-32, 2005.
24. Liu K, Kozono D, Kato Y, Agre P, Hazama A, Yasui M: Conversion of aquaporin 6 from an anion channel to a water-selective channel by a single amino acid substitution. *Proc Natl Acad Sci U S A*;102:2192-2197, 2005.
25. Lai KN, Leung JC, Chan LY, Tang S, Li FK, Lui SL, et al: Expression of aquaporin-3 in human peritoneal mesothelial cells and its up-regulation by glucose in vitro. *Kidney Int*, 62: 1431-1439, 2002.
26. Lai KN, Li FK, Lan HY, Tang S, Tsang AW, Chan DT, et al: Expression of aquaporin-1 in human peritoneal mesothelial cells and its upregulation by glucose in vitro. *J Am Soc Nephrol*, 12:1036-1045, 2001.
27. Esperanca M, Collins D: Peritoneal dialysis efficiency in relation to body weight. *J Pediatr Surg*, 1: 162-169, 1966.
28. Krediet RT, Lindholm B, Rippe B: Pathophysiology of peritoneal membrane failure. *Perit Dial Int*, 20:22-42, 2000.
29. Andrews PM, Porter KR: The ultrastructural morphology and possible functional significance of mesothelial microvilli. *Anat Rec*, 177: 409-426, 1973.

30. Courtice FC, Simmonds WJ: Physiological significance of lymph drainage of the serous cavities and lungs. *Physiol Rev*, 34: 419-448, 1954.
31. Clark A: Absorption from the peritoneal cavity. *J Pharmacol*, 415-433, 1921.
32. Diaz-Buxo JA: Clinical use of peritoneal dialysis. *Clin Dial*, 421-489, 2009.
33. Puntam T: The living peritoneum as a dialyzing membrane. *Am J Physiol*, 548-563, 1922.
34. Grollman A, Turner LB, Levitch M, Hill D: Hemodynamics of bilaterally nephrectomized dog subjected to intermittent peritoneal lavage. *Am J Physiol*, 165:167-72, 1951.
35. Grollman A, Turner LB, Mc LJ: Intermittent peritoneal lavage in nephrectomized dogs and its application to the human being. *AMA Arch Intern Med*, 87: 379-390, 1951.
36. Blake P, Burkart JM, Churchill DN, Daugirdas J, Depner T, Hamburger RJ, et al: Recommended clinical practices for maximizing peritoneal dialysis clearances. *Perit Dial Int*, 16:448- 456, 1996.
37. Watson AR, Gartland C: Guidelines by an Ad Hoc European Committee for Elective Chronic Peritoneal Dialysis in Pediatric Patients. *Perit Dial Int*, 21:240-244, 2001.
38. Boen ST: Peritoneal dialysis: a clinical study of factors governing its effectiveness. *Kidney Int Suppl*, 108: 5-17, 2008.
39. Buoncristiani U, Buoncristiani E, Bianchi P: Use of sodium hypochlorite in peritoneal dialysis: the genesis of the 'Y' set and beyond. *Contrib Nephrol*, 154:103-116, 2007.
40. Boen ST, Mion CM, Curtis FK, Shilipetar G: Periodic peritoneal dialysis using the repeated puncture technique and an automatic cycling machine. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 10: 409-414, 1964.
41. Diaz-Buxo JA, Walker PJ, Farmer CD, Chandler JT, Holt KL, Cox P: Continuous cyclic peritoneal dialysis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 27:51-54, 1981.
42. Diaz-Buxo JA: Continuous cyclic peritoneal dialysis. *Contrib Nephrol*, 84: 75-81, 1990.
43. Diaz-Buxo JA: Automated peritoneal dialysis, A therapy in evolution. *Contrib Nephrol*, 129:1-14, 1999.
44. Heusser H, Werder H: Untersuchungen über Peritoneal dialyse. *Bruns Beiträge z Klin Chir* 141, 1927.
45. Fischbach M, Terzic J, Menouer S, Haraldsson B: Optimal volume prescription for children on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*, 20:603-606, 2000.

46. Fischbach M, Terzic J, Menouer S, Bergere V, Ferjani L, Haraldsson B: Impact of fill volume changes on peritoneal dialysis tolerance and effectiveness in children. *Adv Perit Dial*, 16:321-323, 2000.
47. Ha H, Yu MR, Lee HB: High glucose-induced PKC activation mediates TGF-beta 1 and fibronectin synthesis by peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int*, 59:463-470, 2001.
48. De Vriese AS, Tilton RG, Stephan CC, Lameire NH: Vascular endothelial growth factor is essential for hyperglycemia-induced structural and functional alterations of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol*, 12: 1734-1741, 2001.
49. Mortier S, Faict D, Schalkwijk CG, Lameire NH, De Vriese AS: Long-term exposure to new peritoneal dialysis solutions: Effects on the peritoneal membrane. *Kidney Int*, 66:1257-1265, 2004.
50. Park MS, Kim JK, Holmes C, Weiss MF: Effects of bicarbonate/lactate solution on peritoneal advanced glycosylation end-product accumulation. *Perit Dial Int*, 20: 33-8, 2000.
51. Alexander SR, Salusky IB, Warady BA, Watkins SL: Peritoneal dialysis workshop: pediatrics recommendations. *Perit Dial Int*, 17: 25-7, 1997.
52. Blake PG: The loss of a giant in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*, 32: 371-372, 2012.
53. White CT, Gowrishankar M, Feber J, Yiu V: Clinical practice guidelines for pediatric peritoneal dialysis. *Pediatric Nephrol*, 21: 1059-1066, 2006.
54. Süleymanlar G, Altıparmak MR, Seyahi N, Trabulus S: Türkiye'de nefroloji- diyaliz ve transplantasyon. *Türk Nefroloji Derneği Yayınları*. 2013.
55. Ekim M, Bakkaloglu SA, Aksu N, Akman S, Noyan A, Sever L: Challenges in pediatric peritoneal dialysis in Turkey. *Int Urol Nephrol*, 40:1027-1033, 2008.
56. Twardowski ZJ: Clinical value of standardized equilibration tests in CAPD patients. *Blood Purif*, 7: 95-108, 1989.
57. La Milia V, Di Filippo S, Crepaldi M, Del Vecchio L, Dell'Oro C, Andrulli S, et al: Mini-peritoneal equilibration test: A simple and fast method to assess free water and small solute transport across the peritoneal membrane. *Kidney Intern*, 68: 840-846, 2005.
58. Twardowski ZJ: Pathophysiology of peritoneal transport. *Contrib Nephrol*, 150: 13-19, 2006.
59. De Vriese AS, Mortier S, Lameire NH: What happens to the peritoneal membrane in long-term peritoneal dialysis? *Perit Dial Int*, 21: 9-18, 2001.
60. Cano F, Rojo A, Azocar M, Ibacache MJ, Delucchi A, Ugarte F, et al: The mini-PET in pediatric peritoneal dialysis: a useful tool to predict volume overload? *Pediatric Nephrol*, 28:1121-1126, 2013.
61. Gokal R: Long term peritoneal dialysis--is it a reality? *J Nephrol*, 12: 362-370, 1990.

62. Bradley JA, McWhinnie DL, Hamilton DN, Starnes F, Macpherson SG, Seywright M, et al: Sclerosing obstructive peritonitis after continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Lancet*, 2: 113-114, 1983.
63. Brown P, Baddeley H, Read AE, Davies JD, McGarry J: Sclerosing peritonitis, an unusual reaction to a beta-adrenergic-blocking drug (practolol). *Lancet*, 2: 1477-1481, 1974.
64. Schaefer F, Feneberg R, Aksu N, Donmez O, Sadikoglu B, Alexander SR, et al: Worldwide variation of dialysis-associated peritonitis in children. *Kidney Intern*, 72: 1374-1379, 2007.
65. Li PK, Szeto CC, Piraino B, Bernardini J, Figueiredo AE, Gupta A, et al: Peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2010 update. *Perit Dial Int*, 30: 393-423, 2010.
66. Piraino B: Peritoneal infections. *Adv Ren Replace Ther*, 7: 280-288, 2000.
67. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA: *Klinik Mikrobiyoloji*, 390-411, 2009.
68. Nishina M, Yanagi H, Kakuta T, Endoh M, Fukagawa M, Takagi A: A 10-year retrospective cohort study on the risk factors for peritoneal dialysis-related peritonitis: a single-center study at Tokai University Hospital. *Clin Exp Nephrol*, 2013.
69. Karagulle IV, Kaynar K, Ulusoy S, Ozkan G, Cansiz M: Risk factors for peritonitis related to peritoneal dialysis. *Bratislava Medical Journal*. 114: 531-533, 2013.
70. Szeto CC, Chow KM, Kwan BC, Law MC, Chung KY, Yu S, et al: Staphylococcus aureus peritonitis complicates peritoneal dialysis: review of 245 consecutive cases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2: 245-251, 2007.
71. Bloembergen WE, Port FK: Epidemiological perspective on infections in chronic dialysis patients. *Adv Ren Replace Ther*, 3: 201-207, 1996.
72. Çamsan T, Çelik A, Sifil A, Çavdar C: Sürekli ayaktan periton diyalizi hastalarında peritonit sıklığı: Y- öncesi ve sonrası dönemi değerlendirilmesi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 34-36, 1996.
73. Warady BA, Schaefer F, Holloway M, Alexander S, Kandert M, Piraino B, et al: Consensus guidelines for the treatment of peritonitis in pediatric patients receiving peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 20: 610-624, 2000.
74. Noronha IL, Niemir Z, Stein H, Waldherr R: Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 10: 775-786, 1995.
75. Jaattela M: Biologic activities and mechanisms of action of tumor necrosis factor-alpha/cachectin. *Lab Invest*, 64: 724-742, 1991.
76. Dobbie JW: Pathogenesis of peritoneal fibrosing syndromes (sclerosing peritonitis) in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*, 12: 14-27, 1992.

77. Stahl RA: Chemoattractive cytokines (chemokines) and immune renal injury. *Nephrol Dial Transplant*, 10: 307-309, 1995.
78. Kishimoto T: The biology of interleukin-6. *Blood*, 74: 1-10, 1989.
79. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S: The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta*, 1813:878-888, 2011.
80. Bikfalvi A: Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochem Pharmacol*, 68:1017-1021, 2004.
81. Mattei MG, Borg JP, Rosnet O, Marme D, Birnbaum D: Assignment of vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PLGF) genes to human chromosome 6p12-p21 and 14q24-q31 regions, respectively. *Genomics*: 32:168-169, 1996.
82. Friedenstein AJ, Piatetzky S, II, Petrakova KV: Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol*, 16: 381-390, 1966.
83. Haynesworth SE, Goshima J, Goldberg VM, Caplan AI: Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. *Bone*, 13:81-88, 1992.
84. Bastug F, Gunduz Z, Tulpar S, Torun YA, Akgun H, Dorterler E, et al: Mesenchymal stem cell transplantation may provide a new therapy for ultrafiltration failure in chronic peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 28:2493-2501, 2013.
85. Soylu A, Demirci T, Firinci F, Bagriyanik A, Demir BK, Atmaca S, et al: Mesenchymal stem cells ameliorate postpyelonephritic renal scarring in rats. *Urology*, 80:7-12, 2012.
86. Ding DC, Shyu WC, Lin SZ: Mesenchymal stem cells. *Cell Transplant*, 20:5-14, 2011.
87. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al: Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy*, 8: 315-317, 2006.
88. Koc ON, Day J, Nieder M, Gerson SL, Lazarus HM, Krivit W: Allogeneic mesenchymal stem cell infusion for treatment of metachromatic leukodystrophy (MLD) and Hurler syndrome (MPS-IH). *Bone Marrow Transplant*, 30: 215-222, 2002.
89. Aggarwal S, Pittenger MF: Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*, 105:1815-1822, 2005.
90. Zimmermann JA, McDevitt TC: Pre-conditioning mesenchymal stromal cell spheroids for immunomodulatory paracrine factor secretion. *Cytotherapy*, 16: 331-345, 2014.
91. Djouad F, Charbonnier LM, Bouffi C, Louis-Pence P, Bony C, Apparailly F, et al: Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism. *Stem Cells*, 25:2025-2032, 2007.

92. Hong IS, Lee HY, Kang KS: Mesenchymal stem cells and cancer: Friends or enemies? *Mutat Res*, 2014.
93. Amin AH, Abd Elmageed ZY, Nair D, Partyka MI, Kadowitz PJ, Belmadani S, et al: Modified multipotent stromal cells with epidermal growth factor restore vasculogenesis and blood flow in ischemic hind-limb of type II diabetic mice. *Lab Invest*, 90: 985-996, 2010.
94. Golembiewska E, Safranow K, Kabat-Koperska J, Ciechanowski K, Romanowski M: Solute transport at the start of peritoneal dialysis and the risk of peritonitis. *Adv Clin Exp Med*, 22: 77-83, 2013.
95. Chen JB, Pan HH, Lee CH, Chien YS, Lee CT, Liu TT, et al: Longitudinal change in peritoneal membrane function with continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) after peritonitis episodes. *Chang Gung Med J*, 27: 29-34, 2004.
96. De Boer AW, Levi M, Reddingius RE, Willems JL, Van Den Bosch S, Schroder CH, et al: Intraperitoneal hypercoagulation and hypofibrinolysis is present in childhood peritonitis. *Pediatr Nephrol*, 13: 284-287, 1999.
97. Fabbrini P, Schilte MN, Zareie M, ter Wee PM, Keuning ED, Beelen RH, et al: Celecoxib treatment reduces peritoneal fibrosis and angiogenesis and prevents ultrafiltration failure in experimental peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 24: 3669-3676, 2009.
98. Gries E, Paar D, Graben N, Bock KD: Intraperitoneal fibrin-formation and its inhibition in CAPD. *Clin Nephrol*, 26: 209-212, 1986.
99. Tu XH, Song JX, Xue XJ, Guo XW, Ma YX, Chen ZY, et al: Role of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rat model of severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*, 18: 2270-2279, 2012.
100. Meng HB, Gong J, Zhou B, Hua J, Yao L, Song ZS: Therapeutic effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in rat severe acute pancreatitis. *Int J Clin Exp Pathol*, 6: 2703-2712, 2013.
101. Humphreys BD, Bonventre JV: Mesenchymal stem cells in acute kidney injury. *Annu Rev Med*, 59: 311-325, 2008.
102. Ringden O, Uzunel M, Sundberg B, Lonnie L, Nava S, Gustafsson J, et al: Tissue repair using allogeneic mesenchymal stem cells for hemorrhagic cystitis, pneumomediastinum and perforated colon. *Leukemia*, 21: 2271-2276, 2007.
103. Guo J, Lin GS, Bao CY, Hu ZM, Hu MY: Anti-inflammation role for mesenchymal stem cells transplantation in myocardial infarction. *Inflammation*, 30: 97-104, 2007.
104. Cho JH, Hur IK, Kim CD, Park SH, Ryu HM, Yook JM, et al: Impact of systemic and local peritoneal inflammation on peritoneal solute transport rate in new peritoneal dialysis patients: a 1-year prospective study. *Nephrol Dial Transplant*, 25:1964-1973, 2010.

105. Zemel D, Koomen GC, Hart AA, Ten Berge IJ, Struijk DG, Krediet RT: Relationship of TNF-alpha, interleukin-6 and prostaglandins to peritoneal permeability for macromolecules during longitudinal follow-up of peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Lab Clin Med*, 122:686-696, 1993.
106. Szeto CC, Wong TY, Lai KB, Chow KM, Li PK: The role of vascular endothelial growth factor in peritoneal hyperpermeability during CAPD-related peritonitis. *Perit Dial Int*, 22:265-267, 2002.
107. Wan J, Cai Q, Liu Y: Effect of different transplantations with bone-marrow derived mesenchymal stem cells on diabetic foot ulcers in rats. *Journal of Central South University Medical Sciences*. 38: 347-355, 2013.
108. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z: Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *Faseb J*, 13:9-22, 1999.