

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DİYABETİK RATLARDA İNTRAPERİTONEAL VE SUBKUTAN İNSÜLİN
TEDAVİLERİNİN PERİTONEAL MEMBRANIN YAPI VE FONKSİYONLARI
ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. GÖKSEL ÖZALP
UZMANLIK TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç.Dr. ALİ İHSAN GÜNAL

ELAZIĞ-2005

Bu tez; Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) yönetim birimi başkanlığı tarafından 1120 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Başta bu tezin hazırlanmasına büyük katkı sağlayan Doç. Dr. Ali İhsan GÜNAL, Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER ve Doç. Dr. Ayhan DOĞUKAN olmak üzere, desteklerini esirgemeyen; Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Nusret AKPOLAT ve Patoloji Laboratuvarı çalışanlarına, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Necip İLHAN, Doç. Dr. Nevin İLHAN ve Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına, Deney hayvanlarının temininde ve bakımlarında yardımcı olan Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Bayram YILMAZ ve Fırat Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına, eğitime katkılarından dolayı başta İç Hastalıkları ABD Başkanı Prof. Dr. Emir DÖNDER olmak üzere tüm öğretim üyelerine ve tezimin çeşitli aşamalarında yardımcı olan Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalından çalışma arkadaşlarım Dr. M. Sait DAĞ, Dr. Süleyman S. KOCA, Dr. Hüseyin ŞİMŞEKLİ, Dr. Nusret SIRMA ve Elif KILIÇ KAN'a şükran ve minnet duygularımı sunarım.

Dr. Göksel ÖZALP

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

ŞEKİLLER LİSTESİ.....	
TABLolar LİSTESİ.....	
KISALTMALAR.....	
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. GİRİŞ.....	5
4. GENEL BİLGİLER.....	7
4.1. Peritoneal Membranın Anatomisi.....	7
4.2. Peritoneal Membranın Fizyolojisi.....	8
4.2.1. Mezotel:.....	8
4.2.1.1. Lubrifikasyon:	8
4.2.1.2.Peritoneal Mikrosirkülasyonun Düzenlenmesi:.....	8
4.2.1.3 Solüt Ve Sıvı Transportu:.....	8
4.2.1.4. İntraperitoneal Fibrinolizisin Düzenlenmesi:.....	8
4.2.1.5. Prokoagülan Aktivite:.....	9
4.2.1.6. Ekstraselüler Matriksin Yapımı Ve Remodelingi:.....	9
4.2.1.7. Peritonun Savunmasında Mezotelyum:.....	9
4.2.2.Bazal Membran:.....	10
4.2.3.Ekstrasellüler Matriks Hücreleri (ESM):.....	10
4.2.3.1.Fibroblastlar:.....	10
4.2.3.2.Doku Makrofajları:.....	10
4.2.3.3.Mast Hücreleri:.....	10
4.2.4.Kan Damarları:.....	11
4.3.Peritoneal Membranın Transport Özellikleri:.....	11
4.3.1.Üç-por Modeli:.....	11
4.3.2.Solüt Transportu:.....	12
4.3.3.Sıvı Transportu:.....	13
4.3.4.Sodyumun Eleklenmesi:.....	13
4.4.Ultrafiltrasyon Yetersizliği:.....	14
4.4.1.Tip I UF Yetersizliği:.....	14
4.4.2.Tip II UF Yetersizliği:.....	15

4.4.3. Tip III UF Yetersizliği:.....	15
4.5. Peritoneal Fibrozis:.....	15
4.5.1. Peritoneal Fibrozis Gelişiminde TGF- β 1'in Rolü:.....	17
4.5.2. Peritoneal Fibroziste İleri Glikoz Yıkım Ürünlerinin Rolu:.....	18
4.5.3. Neovaskülarizasyonda VEGF'in Rolü:.....	18
4.6. Diyabetik Periton Diyalizi Hastalarında İnsülin Tedavisi:.....	18
4.7. Peritoneal Fibrozis Gelişiminde ve Neovaskülarizasyonda İnsülinin Etkisi:.....	19
5. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	21
5.1. Deneklerin Seçimi:.....	21
5.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar:..	21
5.3. PET Testi Yapılması ve Örneklerin Alınması:.....	22
5.4. Kan ve Diyalizat Örneklerinin Çalışılması:.....	22
5.5. Doku Örneklerinin Histopatolojik İncelenmesi:.....	22
5.6. İstatistiksel Analiz:.....	23
6. SONUÇLAR:.....	24
6.1. Deneysel diyabet ve uygulanan farklı tedavi stratejilerinin peritoneal membran fonksiyonları üzerine etkileri:.....	24
6.2. Deneysel diyabet ve uygulanan farklı tedavi stratejilerinin peritoneal membranın histolojik yapısı üzerine etkileri:.....	27
7. TARTIŞMA:.....	31
8. KAYNAKLAR:.....	38
9. ÖZGEÇMİŞ:.....	51

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No:

Şekil-1: Periton diyalizinde zamanla meydana gelen fonksiyonel değişiklikler.	15
Şekil-2: Periton diyalizinde zamanla ortaya çıkan yapısal değişiklikler ve UF yetersizliği.....	16
Şekil-3: Deney gruplarının ortalama açlık plazma glikoz seviyeleri, UF miktarları, D1/D0 glikoz ve D/P üre değerleri.....	26
Şekil-4: Deney gruplarında, diyabet ve insülin uygulama yollarının peritoneal membran kalınlaşması, inflamasyon, fibrozis ve yeni damar oluşumuna etkisi.....	28
Şekil-5: Grupların peritoneal membranlarının histopatolojik yapısı:.....	29
Şekil-6: Grupların peritoneal membranlarının immünohistokimyasal VEGF ile boyanmasıyla görülen yeni damar oluşumları:.....	30

TABLolar LİSTESİ

Sayfa No:

Tablo-1: Peritoneal diyaliz sırasında oluşan basınç grediyentleri.....	13
Tablo-2: Grupların peritoneal membranının fonksiyonel bulguları.....	24
Tablo-3: Grupların peritoneal membranının histopatolojik bulguları.....	27

KISALTMALAR

TGF-β_1	:Transforming growth faktör beta-1
VEGF	:Vasküler endotelyal growth faktör
PET testi	:Peritoneal eşitlenme testi
D	:Diyalizat
P	:Plazma
SAPD	Sürekli ayaktan periton diyalizi
PD	:Periton diyalizi
UF	:Ultrafiltrasyon
İL-1	:İnterlökin-1
DM	:Diabetes mellitus
İP	:İntraperitoneal
SC	:Subkutan
t-PA	:Doku plazminojen aktivatör
u-PA	:Ürokinaz tip plazminojen aktivatör
PAI-1	:Tip 1 plazminojen aktivatör inhibitör
PAI-2	:Tip 2 plazminojen aktivatör inhibitör
TNF-α	:Tümör nekroz faktör-alfa
İL-6	:İnterlökin-6
İL-13	:İnterlökin-13
İL-8	:İnterlökin-8
EGF	:Endotelyal growth faktör
PDGF	:Platelet kökenli growth faktör
İL-1β	:İnterlökin 1- beta
İL-α	:İnterlökin alfa
MCP-1	:Makrofaj kemotaktik protein-1
RANTES	:Normal T lenfosit aktivatör
UFY	:Ultrafiltrasyon yetersizliği
AGE	:İleri glukoz yıkım ürünleri
İGF-1	:İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
RL	:Ringer laktat
eNOS	:Endotelyal nitrik oksit sentaz

ESM	:Ekstraselüler matriks
CRP	:c-reaktif protein
NO	:Nitrik oksit
HDL	:Yüksek yoğunluklu lipoprotein
LDL	:Düşük yoğunluklu lipoprotein

1. ÖZET

Kronik periton diyalizi, zamanla diyalitik etkinlikte ilerleyici azalmaya yol açan değişik derecelerde peritoneal değişikliklere neden olabilir. Bunun patogenezi tam olarak anlaşılamamakla birlikte, peritoneal değişikliklerin oluşmasında transforming growth faktör beta-1 (TGF- β_1) ve vasküler endotelyal growth faktör (VEGF) gibi büyüme faktörlerinin kilit rol oynadıklarına inanılmaktadır. Diyabetik periton diyalizi hastalarının insülin ihtiyaçları intraperitoneal ya da subkutan yoldan karşılanabilmektedir. İntraperitoneal insülin uygulanmasının, daha fizyolojik replasman tedavisi olduğu, daha düşük periferik insülin konsantrasyonuna yol açtığı ve subkutan insüline göre daha iyi veya eşit glisemik kontrol sağladığı kabul edilir. İnsülinin TGF- β_1 ve VEGF sentezini arttırdığı bilinmektedir. Biz bu deneysel çalışmada, intraperitoneal ve subkutan insülinin peritoneal membran üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

40 Wistar-Albino cinsi sıçan eşit olarak beş gruba ayrıldı. Birinci grup sağlıklı kontrol grubu olarak kullanıldı. Diğer hayvanlarda streptozosin ile diyabet oluşturuldu ve dört gruba ayrıldı. Birinci grup diyabetik kontrol grubu olarak kullanıldı ve herhangi bir tedavi uygulanmadı. İkinci gruba 20 ml/kg intraperitoneal ringer laktat solüsyonu, üçüncü gruba 20 ml/kg intraperitoneal ringer laktat solüsyonuyla birlikte 9Ü insülin, dördüncü gruba da 20 ml/kg intraperitoneal ringer laktat solüsyonu ve 3Ü subkutan insülin verildi. Tedaviler sekiz hafta süreyle günde iki kez uygulandı. Sekiz hafta sonra bir saatlik peritoneal eşitleme testi (PET testi) yapıldı. D/P üre, D₁/D₀ glikoz, diyalizat proteini ve ultrafiltrasyon miktarı bakıldı. Peritoneal membran histolojik olarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Peritoneal membran monoklonal anti-VEGF antikoru ile boyanarak yeni damar oluşumları incelendi.

Diyabetik kontrol grubu ve intraperitoneal ringer laktat verilen grupta ileri derecede ultrafiltrasyon kaybı gözlenirken, intraperitoneal veya subkutan insülin uygulanan gruplarda kısmen düzelme görüldü. Bu düzelme subkutan insülin grubunda daha belirgindi. Fakat glisemik kontrol intraperitoneal insülin grubunda daha iyiydi. Özellikle intraperitoneal grupta olmak üzere, yeni damar oluşumu ve peritoneal membran kalınlığı, insülin verilen gruplarda daha fazlaydı. İnflamasyon ve fibrozis gelişimi ise tedavi edilmeyen diyabetik gruplarda daha belirgindi.

Sonuç olarak, insülin diyabetin peritoneal membranda yaptığı değişiklikleri glisemik kontrolü sağlayarak kısmen düzeltmektedir. İntraperitoneal insülin, olasılıkla TGF- β_1 ve VEGF sentezini artırarak peritoneal membran kalınlığını ve yeni damar

oluşumlarını artırmaktadır. Peritoneal membranın diyalitik etkinliğinin korunması için insülin uygulanmasında subkutan yol seilmelidir.

Anahtar kelimeler: Kronik böbrek yetersizliği, diabetes mellitus, peritoneal fibrozis, insülin.

2. ABSTRACT

THE EFFECTS OF INTRAPERITONEAL AND SUBCUTAN INSULIN TREATMENTS ON FUNCTIONS AND STRUCTURE OF PERITONEAL MEMBRANE OF DIABETIC RATS.

Chronic peritoneal dialysis (PD) may eventually result in several peritoneal alterations of varying degree, which leads to progressive reduction in dialytic efficacy. Although its pathogenesis has not been elucidated yet, it has been proposed that growth factors such as transforming growth factor beta-1 (TGF- β_1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) play a central role in leading to peritoneal alterations. Insulin necessity of peritoneal dialysis patients with diabetes mellitus can be provided by intraperitoneal or subcutaneous. Intraperitoneally administered insulin is regarded as the most physiological replacement therapy, leading to lower peripheral insulin concentrations and equal or better glycemic control than subcutaneous insulin. It is known that insulin increases the secretion of TGF- β_1 and VEGF. We aimed to research the effects of intraperitoneal (IP) and subcutaneous (SC) insulin on peritoneal membrane in this experimental study.

Forty albino wistar rats were equally divided to five groups. First group was used as healthy control group. Diabetes was induced in the animals of the other groups by streptozotocin and divided to four groups. First one was chosen as diabetic control group and no treatment was performed. In second group 20 ml/kg IP ringer-lactate solution, in third group 20 ml/kg IP ringer-lactate solution and 9 U insulin, in fourth group 20 ml/kg IP ringer-lactate and 3 U SC insulin was applied. Treatments were applied twice a day for eight weeks. After eight weeks, a one-hour peritoneal equilibration test was performed. Dialysate-to-plasma urea ratio, glucose reabsorption, ultrafiltration (UF) volume and levels of dialysate protein were determined. The peritoneal membrane was evaluated histologically by light microscopy. Peritoneal membrane was painted with monoclonal anti-VEGF antibody and new vascularizations were searched.

While excessive loss of UF were observed in diabetic control and IP ringer-lactate groups, improvement was seen partly in treated with IP or SC insulin groups. This improvement was evident in SC insulin group. But glycemic control was better in IP insulin group. Neovascularization and thickness of peritoneal membrane were more in groups treated with insulin, especially IP insulin group. However inflammation and fibroblastic activity was more evident in non-treated diabetic groups.

In conclusion, insulin partly repairs the damages of diabetes on peritoneal membrane by glycemic control. IP insulin increases the thickness of peritoneal membrane and neovascularization probably by increasing the synthesis of TGF- β_1 and VEGF. Insulin must be chosen SC for protect the dialytic efficacy of peritoneal membrane in peritoneal dialysis patients with diabetes mellitus.

Key words: chronic renal failure, diabetes mellitus, peritoneal fibrosis, insulin.

3.GİRİŞ

Sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD), dünyada diyaliz hastalarının yaklaşık % 15'i tarafından kullanılan bir renal replasman tedavisi yöntemidir (1). Özellikle sürekli ayaktan periton diyalizi (PD) uygulamalarının başlamasından beri, basit, rahat ve nispeten ucuz olması nedenleriyle popülaritesi büyük çapta artmıştır.

Esas olarak PD, sıvı içeren iki kompartmanı ayıran bir membran-zar vasıtasıyla su ve solütlerin transportundan ibarettir. Bu iki kompartman (a) peritoneal kapillerlerdeki kan ve (b) periton boşluğundaki diyaliz solüsyonudur. Bir diyalizer olarak iş gören periton zarı, aslında, nispeten kompleks bir anatomi ve fizyolojiye sahip, farklı büyüklükte porları olan, heterojen, yarı geçirgen bir zardır.

PD değişimleri sırasında üç ayrı transport şekli eşzamanlı olarak gerçekleşmektedir.

- 1. Diffüzyon.** Üremik solütler ve potasyum, peritoneal kapiller kanından konsantrasyon gradienti ile PD solüsyonuna, glukoz, laktat ve daha az olarak da kalsiyum zıt yönde diffüze olurlar.
- 2. Ultrafiltrasyon.** PD solüsyonunun nispi hiperozmolalitesi suyun ve içerdiği solütlerin membrandan eşzamanlı olarak ultrafiltrasyonunu sağlar.
- 3. Absorbsiyon.** Yine eşzamanlı olarak, gerek direkt, gerekse indirekt olarak lenfatik sisteme sabit bir su ve solüt absorpsiyonu gerçekleşir (2).

PD uygulanan hastaların peritoneal membran yapı ve fonksiyonlarında, zamanla, birtakım değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Peritoneal membranın mezotel hücrelerinde mikrovillüslerin sayısı azalmakta, bazen dejeneratif değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Histokimyasal incelemelerde hücre zarı ve sitoplazmasındaki enzim aktivitelerinde artışlar saptanmaktadır . İnterstisiyel alanda kollajen tip III ve VI'nın depolanması artmakta ve sonuçta interstisiyel fibrozis gelişmektedir. Peritoneal membran damar sayısı oldukça artmakta, kapiller duvarda endotel bazal membranında kalınlaşma ve bazal membranın reduplikasyonu ortaya çıkmaktadır. Damar duvarlarında kollajen tip IV birikimine bağlı fibrotik kalınlaşma ve hyalinozis gelişmektedir. Bu değişiklikler, periton diyaliz tedavisini sona erdirmede en önemli faktörlerden biri olan ultrafiltrasyon (UF) yetmezliğine neden olmaktadır (3-6).

Bu değişikliklerin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamakla birlikte, peritoneal fibrozis, mezotelyal hücreler ve makrofajlardan sekrete edilen transforming growth faktör (TGF- β_1) gibi growth faktörler ve interlökin-1 (İL-1) gibi

sitokinler ile ilişkilendirilmiştir. PD solüsyonlarının kronik irritatif etkisi ve şiddetli ya da uzun süreli peritonitlerin, mezotel hücrelerini zedeleyerek peritoneal fibroze neden olan olayları başlattığı ileri sürülmektedir (7,8).

PD’nde UF kaybına yol açan bir diğer önemli faktör de vasküler endotelial growth faktör (VEGF) üretimindeki artışın neden olduğu neovaskülarizasyon ve vazodilatasyon sonucu gelişen peritoneal yüzey alanı artışıdır (9,10).

Diabetes mellitus (DM) pek çok ülkede kronik böbrek yetmezliğinin en sık nedenidir. Diyabetik PD hastalarında glisemik kontrol, intraperitoneal (İP) veya subkutan (SC) insülin uygulanması ile sağlanabilir. İP yolla dengeli bir glukoz-insülin uygulamasının idamesi, teorik olarak daha iyi glukoz tüketimi, daha fizyolojik insülin verilmesi ve her iki maddenin de plazma konsantrasyonlarında büyük dalgalanmalar olmasının engellenmesini sağlar. İP insülin kullanılmasıyla, glisemi kontrolü ve beslenmenin iyileşmesi, hiperinsülineminin azalması ve çok sayıdaki günlük enjeksiyonun ortadan kalkması beklenmektedir (11,12). Fakat İP insülinin periton membranı üzerine etkilerini inceleyen yeterli çalışma bulunmamaktadır. İn vivo ortamda yapılan çalışmalar, insülinin TGF- β_1 (13) ve VEGF (14) gibi büyüme faktörlerinin üretimini artırdığını göstermiştir.

Biz de, bu deneysel çalışmada, subkutan veya intraperitoneal uygulanan insülinin peritoneal membran yapı ve fonksiyonları üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1.Peritoneal Membranın Anatomisi:

Periton, periton boşluğunu sınırlayan seröz bir zardır. Peritoneal membranın ortalama yüzey alanı 1-2 m² kadar olup, yaklaşık olarak vücut yüzey alanına eşittir. Kan ve diyalizat arasındaki ana bölmeyi oluşturan peritoneal membran pariyetal ve viseral periton olmak üzere iki kısımdan oluşur. Pariyetal periton, karın duvarı, pelvis ve diyafragma iç duvarını örter. Viseral periton ise, karaciğer, dalak ve gastrointestinal sistemin karın içindeki bölümlerini örter ve omentumu oluşturur. Peritoneal membranın %10'unu pariyetal periton, % 90'ını da viseral periton oluşturmaktadır. Peritoneal kavitede kayganlığı sağlamak üzere 100 ml'den daha az sıvı bulunur. Erişkinlerde peritoneal kavite, pulmoner fonksiyonlarda kısıtlanma ve rahatsızlık olmaksızın 2 L'ye kadar sıvıyı tolere edebilmektedir. Çocukların peritoneal yüzey alanı erişkinlerinkinden daha fazladır.

Mezotelyum: Mezotel tabakası, kesintisiz, tek katlı, yaklaşık 0.5 mm kalınlığa sahip yassı hücrelerden oluşmuştur. Mezotelyumun serbest yüzeyi, peritoneal yüzey alanını arttıran çok sayıda mikrovilluslarla kaplıdır. Hücre-hücre ve hücre-matriks bağlantıları mezotel bütünlüğünü oluşturur.

Bazal Membran: Mezotel hücrelerinin hemen altında homojen yapılı bazal membran uzanmaktadır. Mezotel hücreleri tarafından yapıldığı ileri sürülen bu oldukça ince yapı, tip IV kollajen, proteoglikanlar ve laminin gibi glikoproteinleri içermektedir.

İntersitisyum: Mukopolisakkarit matriksten oluşur ve peritonu destekleyen primer yapıdır. Mezotel altı bağ dokusu tip I ve tip III kollajen lifleri, elastin, fibronektin, hyaluronan, proteoglikanlar, kan damarları, lenfatikler, fibroblastlar, doku makrofajları ve mast hücrelerini içermektedir.

İnsanlarda istirahat halinde abdominal kan akımı 1000-2400 ml/dk arasında değişmektedir. Peritoneal membranın kan akımı ise 68-82 ml/dk ya da yaklaşık 1-2 ml/kg/dk arasında değişmektedir. Peritonun kanlanması başlıca iki sistemden olmaktadır. Viseral periton çöliak ve mezenterik arterlerden beslenirken, venöz drenajı portal sistem yoluyla olmaktadır. Pariyetal periton ise sirkumfleks, iliyak, lomber, interkostal ve epigastrik arterlerden kan alırken, venöz dönüşü portal sistemi by-pass ederek direk sistemik dolaşıma olmaktadır.

Diyafram altı bölgede daha belirgin olmak üzere tüm periton lenfatik ağıla kaplıdır. Lenfatikler, sıvı, solüt ve makromoleküllerin peritoneal boşluktan alınıp

sistemik dolaşıma katılmasında oldukça önemli rol oynamaktadırlar. Peritoneal lenfatiklerin ortalama absorpsiyon hızları 1.2-2.4 ml/kg/saat arasında değişmektedir. Bu miktar ultrafiltrasyon yetmezliğine neden olduğundan önemli kabul edilmektedir (15-17).

4.2.Peritoneal Membranın Fizyolojisi:

4.2.1.Mezotel:

Mezotel tabakası, birçok yönden peritoneal kavitenin fizyolojik homeostazisinin sağlanmasında oldukça önemli roller üstlenmektedir.

4.2.1.1. Lubrifikasyon:

Mezotel hücreleri, peristaltizm ve respirasyon sırasında, batin içi organların kayganlığını ve rahatlıkla hareket etmelerini sağlayabilmek için birtakım kayganlaştırıcı maddeler salgılar. Bunlar: hyaluronik asit, dekorin, biglykan ve fosfatidilkolindir (17).

4.2.1.2.Peritoneal Mikrosirkülasyonun Düzenlenmesi:

Mezotel hücreleri prostoglandin E₂ ve nitrik oksit gibi vazodilatör maddeler salgılayarak peritoneal kan akımını artırırken, endotelin salgılayarak da kan akımını azaltmaktadır (18).

4.2.1.3 Solüt Ve Sıvı Transportu:

Mezotel tabakası, önemli bir direnç yaratmamakla beraber, diyalizat ile kan arasındaki madde geçişlerinde birkaç bariyerden birini oluşturmaktadır. Mezotel hücreleri pinositoz yoluyla aktif olarak madde transportuna katılabilirler, fakat bunun total transporta fazla bir katkısı olmadığı ileri sürülmektedir. Ayrıca hücreler arası yarıklardan büyük molekülü maddeler pasif diffüzyonla geçebilmektedir (17).

4.2.1.4. İntraperitoneal Fibrinolizisin Düzenlenmesi:

Normal, sağlam peritonun, visceral ve pariyetal yapraklar arasındaki fibröz yapışıklıkları engelleyebilmek için önemli bir fibrinolitik özelliğe sahip olduğu ileri sürülmektedir. Son zamanlarda yapılan immünohistoşimik çalışmalarda, insan mezotel hücrelerinin iki tip plazminojen aktivatörü (doku plazminojen aktivatör 't-PA' ve ürokinaz tip plazminojen aktivatör 'u-PA') için pozitif boyandığı gösterilmiştir. Her iki enzim plazmine bağlı fibrinolitik yolu aktive edebilir. Tersine, mezotel hücreleri salgıladığı bazı proteinlerle (tip 1 ve tip 2 plazminojen aktivatör inhibitör, PAI-1, PAI-2) fibrinolizis olayını inhibe edebilir. Bu nazik denge birtakım uyarılarla değişebilir. Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), İL-1, interlökin-6 (İL-6) ve inflamatuvar olaylar bu dengeyi bozabilir. Örneğin peritonit sırasında veya cerrahi sonrası bu fibrinoliz

inhibitörleri artabilir ve mezotelyumun fibrinolitik aktivitesi tamamen ortadan kalkabilir (17).

4.2.1.5. Prokoagülan Aktivite:

Normalde mezotelyum non-trombojenik olmasına karşın bazı durumlarda fibrinojeni fibrine dönüştürdüğü gösterilmiştir. Doku kültürü ortamında, mezotel hücrelerinin koagülasyonun temel aktivatörü olan doku faktörü salgıladığı saptanmıştır. Peritonit sırasında yüksek düzeylerde bulunan TNF- α ve serbest oksijen radikalleri, mezotel hücrelerini uyararak doku faktörü salgısını arttırmaktadır. Mezotel hücrelerinin trombojenik özelliğinin artıp fibrinolitik özelliğinin azalması peritoneal yüzeyin fibrinle kaplanmasına, intraperitoneal adezyonlara, intestinal obstrüksiyonlara ve sklerotik kalınlaşmaya neden olmaktadır (17).

4.2.1.6. Ekstraselüler Matriksin Yapımı Ve Remodelingi:

Mezotel hücreleri, peritoneal hasarın tamirine ve yeniden yapılanmasına direk veya dolaylı olarak katılabilir:

a- İndirek olarak fibroblastların olay yerine çekilmesi,

b- Transforming growth faktör- beta salgısıyla, fibroblastların uyarılarak matriks sentezinin arttırılması,

c- Mezotel hücrelerinin kendisi de direkt olarak ekstraselüler matriks bileşenlerini sentezleyebilir.

d- Ayrıca mezotel hücreleri, sentezlenen matriks proteinlerinin yıkımını engelleyerek aşırı birikmelerine neden olan matriks metalloproteinaz inhibitörlerinin sentezini arttırır.

Sonuçta mezotel hücreleri, normal peritoneal tamirin bir parçası olan kontrollü kollajen birikimi ile peritoneal fibrozisin karakteristik özelliği olan kontrolsüz kollajen birikimi arasındaki hassas dengenin sağlanmasında çok önemli rol oynamaktadır. Bu hassas denge lokal olarak sentezlenen bir takım sitokinlerle her iki yöne de kayabilir. Örneğin TNF- α , endotelyal growth faktör (EGF) ve platelet kökenli growth faktör (PDGF) kollajen sentezini arttırırken TNF- α ve İL-1 β ise kollajeni parçalayan enzimleri inhibe eden doku inhibitörlerinin sentezini arttırarak fibrozise neden olurlar (17,18).

4.2.1.7. Peritonun Savunmasında Mezotelyum:

Mezotel hücreleri birkaç mekanizmayla lokal savunmaya katkıda bulunurlar:

a- Lökosit kemotaksisi: Mezotel hücreleri İL-1, TNF- α , İL-13 ve bakterilerin bazı ürünleri ile uyarılırlarsa İL-1, İL-6, İL-8, makrofaj kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve

normal T lenfosit aktivator (RANTES)'ü sentezleyebilir. Sonuçta iltihap hücreleri olay yerine çekilmektedir.

b-Mezotel hücreleri ortama çekilen iltihap hücrelerinin peritoneal membrana kolayca tutunabilmeleri için birtakım adezyon molekülleri (ICAM-1, VCAM-1) sentezleyebilir.

c-Fagositoz: Mezotel hücreleri direkt olarak bakterileri içeri alıp sindirebilme özelliğine sahiptirler. Etken stafilokok ise mezotel hücrelerine giren bakteri hücrenin fonksiyonlarını bozmadan içeride kalabilir, gram negatifler ise hücreyi 24 saat içinde öldürmektedir. Bu da niçin gram negatif peritonitlerin daha şiddetli olduğunun yanıtı olabilir.

d-Hidrojen peroksit yapımı: Serbest oksijen radikallerinden biri olan hidrojen peroksit bakterilerin öldürülmesinde rol oynamaktadır (17,18).

4.2.2. Bazal Membran:

Submezotelyal bazal membran selektif hücresel bir bariyerdir. Makrofaj ve lökositlerin geçişine izin vererek fibroblastların mezote hücreleriyle birleşmesini engeller. Ayrıca peritoneal membranın rejenerasyonunda da önemli rol oynar (17).

4.2.3. Ekstrasellüler Matriks Hücreleri (ESM):

ESM içinde bulunan değişik hücre tipleri peritoneal membran homeostazisinde önemli rol oynarlar:

4.2.3.1. Fibroblastlar:

İL-6 ve İL-8 proinflamatuvar sitokinler salgılayarak mezotel hücreleri ile birlikte peritonun savunmasına katkıda bulunurlar. TGF β , PDGF, temel fibroblastik growth faktör (bFGF) ve İL-1 fibroblastları uyarak kollajen başta olmak üzere ESM proteinleri sentezletirler. Fibroblastlar ayrıca fibrinolizis inhibitörleri salgılayarak fibrin yıkılmasını engeller ve sonuçta kronik fibroblast uyarısı fibrozisle sonuçlanır (19,20).

4.2.3.2. Doku Makrofajları:

Peritoneal kavitedeki makrofajlar mikroorganizmalara karşı birinci basamak savunmadan sorumludur. Makrofajlar, mezotel hücreleri ve fibroblast fonksiyonlarını ve peritoneal fibroproliferatif reaksiyonları düzenleyen TGF β , PDGF, İL-1 β , İL- α ve TNF- α gibi sitokinleri de sentezleme yeteneğindedir (17).

4.2.3.3. Mast Hücreleri:

Bu hücreler kimyasal veya immünolojik uyarılar sonucu ortaya çıkan intraperitoneal inflamasyonun düzenlenmesinde rol alırlar. Salgıladıkları lökotrienlerle, peritonit sırasında nötrofillerin olay yerine çekilmesine neden olurlar. Ayrıca salgıladıkları histaminle peritoneal geçirgenliği etkileyebilirler (18).

4.2.4. Kan Damarları: Peritoneal damarların hepsi diyaliz işlemine katılmazlar. Diyaliz işlemi gerçekleştiren damarların parietal membrandaki damarlar olduğu ileri sürülmektedir. Yapılan deneysel bir çalışmada, evissere ratlarda üre, kreatinin, glikoz ve inülin absorpsiyonunun kontrollerden farklı olmadığı gösterilmiştir (21).

4.3. Peritoneal Membranın Transport Özellikleri:

Bir diyalizer olarak periton zarının, altı direnç bölgesi içerdiği düşünülebilir.

Bunlar:

1. Peritoneal kapiller endotelyumunun üzerindeki durgun kapiller sıvı tabakası.
2. Kapiller endotelyumun kendisi.
3. Endotel bazal membranı.
4. İnterstisyum.
5. Mezotelyum.
6. Periton zarının üzerindeki durgun sıvı tabakasıdır.

Peritoneal transport için son yıllarda üç por modeli gibi yeni kavramlar geliştirilmiş ve peritoneal transport için en önemli direncin peritoneal kapiller endotelyumunda ve endotel bazal membranında olduğu gösterilmiştir. İnterstisyumun özellikle kolloidden zengin fazının solüt transportu için belirgin bir direnç oluşturduğu ortaya çıkmıştır. Günümüzde ne mezotelyumun ne de durgun sıvı tabakasının transport için belirgin bir direnç oluşturduğu düşünülmektedir (22).

4.3.1. Üç-por Modeli:

Bu model peritoneal kapillerlerin peritoneal transport için kritik bir bariyer olduğunu ve bu bariyerden sıvı ve solüt transportunun üç farklı boyuttaki porlar yoluyla gerçekleştiğini göstermiştir (22). Bunlar:

1. 20-40 nm çapındaki büyük porlar. Proteinler gibi büyük makromoleküller, endotelyumda büyük yarıklar halinde olan bu porlardan konveksiyon yoluyla geçerler. Su transportuna katkısı önemsizdir.

2. 4.0-6.0 nm çapındaki kk porlar. Bunlar re, kreatinin, sodyum, potasyum gibi kk soltlerin ve suyun transportundan sorumludur.
3. 0.8 nm'den kk çaptaki en kk porlar. Bunlar sadece su transportundan sorumludurlar ve periton zarında mevcut olduğu bilinen aquaporinlerin karşılığı olduğu düşünülmektedir; aquaporinler periton zarıyla gerçekleşen “eleme” hadisesinden sorumludurlar. Rippe ve Krediet yaklaşık on yıl önce, peritoneal membranda solt transportuna izin vermeyip sadece su transportundan sorumlu olan aquaporinleri tanımlamışlardır (22). şimdiye kadar 0'dan 10'a kadar numaralandırılan aquaporin tipleri tanımlanmış olup, AQP-1,AQP-3 ve AQP-4 peritoneal membranda gösterilebilmiştir (23).

Standart PD solüsyonu olarak kullanılan glikozlu solüsyonlar, peritoneal kapillerler ile intraperitoneal alanda kristaloid osmotik basınc farkı oluşturarak, kk porlar ve AQP'ler aracılığıyla su transportu gerçekleştirirler. Glikoz konsantrasyon farkı nedeniyle hızla absorbe olur ve yaklaşık dört saat sonra osmotik basınc farkı kaybolduğunda ultrafiltrasyon kesilir. Bu noktadan sonra, sıvı lenfatikler yoluyla peritoneal kaviteden absorbe olur ve UF miktarı azalır. Bu sorun özellikle uzun gece değişimlerinde problem yaratır. Icodextrin gibi isoosmolar makromoleküler solüsyonlar ise AQP'leri kullanmadan, kolloid osmotik basınçta farklılık oluşturarak UF yaparlar. Icodextrin, glikoz gibi hızla metabolize ve absorbe olmaz. Bu nedenle daha uzun bir süre (10-12 saat) ultrafiltrasyon yapabilir. Uzun gece bekletmelerinde uygun bir seçimdir (24).

4.3.2. Solüt Transportu:

Peritoneal kapillerden diyalizata solüt transportu başlıca diffüzyon ve konveksiyonla olmaktadır. nceki çalışmalarda diffüzyonun daha önemli olduğu ileri sürülürken, sodyum klirensini incelemek için yapılan bir çalışmada solüt transportunda konveksiyonun çok daha önemli rolü olduğu gösterilmiştir (25). Kapiller duvarları en önemli transport bariyerini oluşturmaktadır. Solüt transportu size-selektif olarak gerçekleşmektedir ve birtakım faktörlere bağlıdır. Bu faktörler konsantrasyon gradyenti, molekül büyüklüğü, peritonun geçirgenlik özelliği (porların çapı) ve yüzey alanı (açık kapiller ve por sayısı), bekleme süresi ve soltn elektrik yükü olarak sayılabilir. Diyalizat dolum volümünü veya değişim sayısını arttırarak, peritoneal solüt klirensi arttırılabilir. Hipertonik solüsyonlarla ultrafiltrasyon artacağından uzaklaştırılan solüt

yüküde artacaktır. Kapiller solüt transportu birtakım porlar üzerinden olmaktadır. Düşük molekül ağırlıklı solüt transportu 4-6 nm çaplı porlar aracılığı ile olmaktadır. Serum proteinleri gibi makromoleküllerin geçişi ise 20-40 nm çapındaki porlardan olmaktadır (26,27).

4.3.3.Sıvı Transportu:

Peritoneal diyaliz sırasında oluşan net sıvı transportu hidrostatik ve osmotik basınçlar ve lenfatik akım tarafından belirlenir. Transkapiller ultrafiltrasyon (UF) hızı peritonun sıvı geçirgenliğine ve efektif yüzey alanına, hidrostatik, kolloid osmotik ve kristaloid osmotik basınç gradiyentlerine bağlıdır (Tablo-1). Diyaliz başında glukozun konsantrasyon gradienti maksimum düzeyde iken, daha sonra glikozun absorbe edilmesine bağlı gradient giderek azalır. Dört saatlik bir bekleme periyodunda glikozun ortalama % 66'sı emilir. Sonuç olarak diyaliz başında maksimum olan UF hızı, diyaliz sonuna doğru giderek azalır (26,27). Gerçek peritoneal UF'nin yaklaşık yarısından fazlası küçük çaplı porlar-aquaporinler sorumludur. Aquaporinler sudyumdan bağımsız olarak su transportu yapabilme yeteneğine sahiptir. Vücudun birçok yerinde olduğu gibi peritoneal mezotelyumda ve vasküler endotelyumda da bulunur. Eğer iyi fonksiyon görmezlerse, su transportu azalır ve diyalizat sodyumu, sodyum elenmesi daha az olduğu için nispeten yükselir (23,28,29).

Tablo 1. Peritoneal diyaliz sırasında oluşan basınç grediyentleri

	Peritoneal kapiller içindeki basınçlar	Peritoneal kavitedeki diyalizatın basınçları	Basınç grediyenti
Hidrostatik basınç (mmHg)	17	8 (yatar pozisyonda) 20 (ayakta)	9 -3
Kolloid osmotik basınç (mmHg)	26	0.1	-26
Osmolarite (mOsm/kg H₂O)	305	347 (%1.36 glikoz) 486 (%3.86 glikoz)	42 181
Maksimal kristaloid osmotik basınç grediyenti (mmHg)		%1.36 glikoz %3.86 glikoz	24 105

4.3.4.Sodyumun Eleklenmesi:

Peritoneal membran sodyum ve klorür gibi elektrik yüklü solütlerin geçişini oldukça kısıtlar ve bu solütlerin hiçbir zaman Diyalizat/Plazma oranı 1 olmaz. Diyaliz başında diyalizat sodyum konsantrasyonu önce düşer. Bu düşüş hipertonic diyaliz solüsyonlarıyla daha belirgindir. Bekleme süresinin sonuna doğru diyalizat sodyum konsantrasyonu bazal değere döner. UF sırasında suyla beraber sodyum da taşınır fakat sodyum nakli ekstraselüler sodyum konsantrasyonuna oranla daha az gerçekleşir. Sonuç olarak plazmaya göre hiponatremik ultrafiltrat gerçekleşmiş olur. Yani plazmadan daha az sodyum daha fazla su çekilmiş olur. Bu olaya “sodyumun eleklenmesi” denmektedir. Bu yüzden kısa bekleme süreli değişimlerde hipernatremi ortaya çıkabilir. Düşük sodyumlu diyalizat kullanılması, sodyumun eleklenmesini minimal düzeyde tutacaktır. Özellikle kısa beklemeli sık değişimlerin yapıldığı aletli periton diyaliz tedavilerinde ortaya çıkabilen hipernatremi bu solüsyonlarla ortadan kaldırılabılır (27).

4.4.Ultrafiltrasyon Yetersizliği:

Ultrafiltrasyon yetersizliği (UFY), periton diyaliz tedavisini sona erdiren en önemli faktörlerden birisidir ve sıklığı yıllar içinde artar. UFY’ne birinci yıl sonunda % 3, altıncı yıl sonunda ise % 31 oranında rastlanmaktadır. Yüksek glikoz konsantrasyonlu solüsyonlar kullanılmasına karşın kuru ağırlığa ve normal kan basıncına ulaşamama, şiddetli tuz kısıtlamasına karşın semptomların devam etmesi, hastane tedavisi veya hemodiyaliz gerektirmesi, günde üç veya daha fazla % 3.86 glikoz konsantrasyonlu sıvı kullanılmasına karşın hala sıvı dengesi kurulamaması ve daha objektif bir tanımla 4 saatlik PET testi sonunda % 2.27 dekstroza 100 ml’den, % 3.86 dekstroza 400 ml’den daha az UF yapılıyorsa UFY’nden bahsedilmektedir. UFY’ler üç başlık altında incelenebilir (30,31).

4.4.1.Tip I UF Yetersizliği:

Bu hastaların peritonları glikoza karşı aşırı geçirgendir. Dolayısıyla diyalizat/serum ozmotik gradiyenti kısa sürede ortadan kalkar ve yeterli UF sağlamaz. Hastaların PET sonuçları yüksek veya yüksek ortadır. Hastaların solüt transportları oldukça fazla fakat UF’leri düşüktür. Peritoneal membranın fizyolojik olmayan periton diyaliz sıvılarına sürekli maruziyeti en önemli faktördür. SAPD’de ortaya çıkan yeni damar oluşumları ve damarların vazodilatasyonu ya da her ikisi birden efektif peritoneal

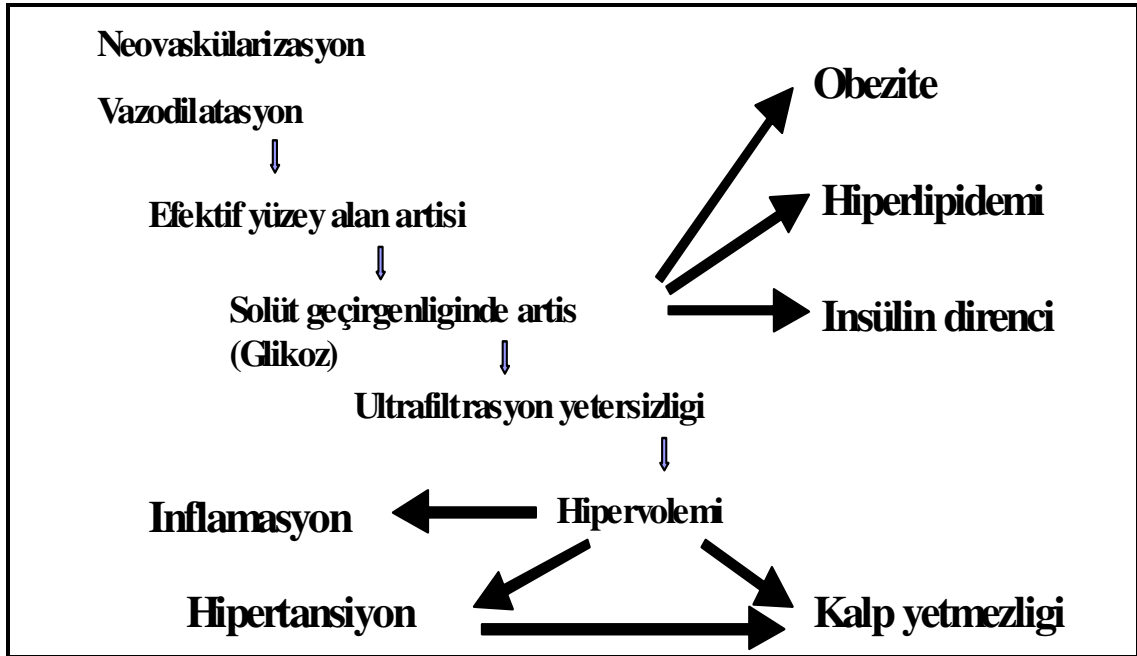
yüzey alanı artışına neden olmaktadır. Bu da peritoneal membranın solütlere karşı geçirgenliğini arttırmakta, neticede UF kaybı gelişmektedir (36,37). Ek olarak tekrarlayan peritonitler ve periton membranında üremik ortamla ilişkili kronik inflamasyon da UF yetersizliği nedenleri arasındadır (64).

4.4.2. Tip II UF Yetersizliği:

Daha az sıklıkta gözlenir. UF'daki azalmanın nedeni peritoneal yüzey alanının azalmasına bağlıdır. Bu olgularda peritonun glikoza karşı geçirgenliği normal veya azalmıştır, yani solüt transportları bozulmuştur. Olguların periton biyopsilerinde aşırı skar doku formasyonu ve laparotomide multipl yapışıklıklar vardır.

4.4.3. Tip III UF Yetersizliği:

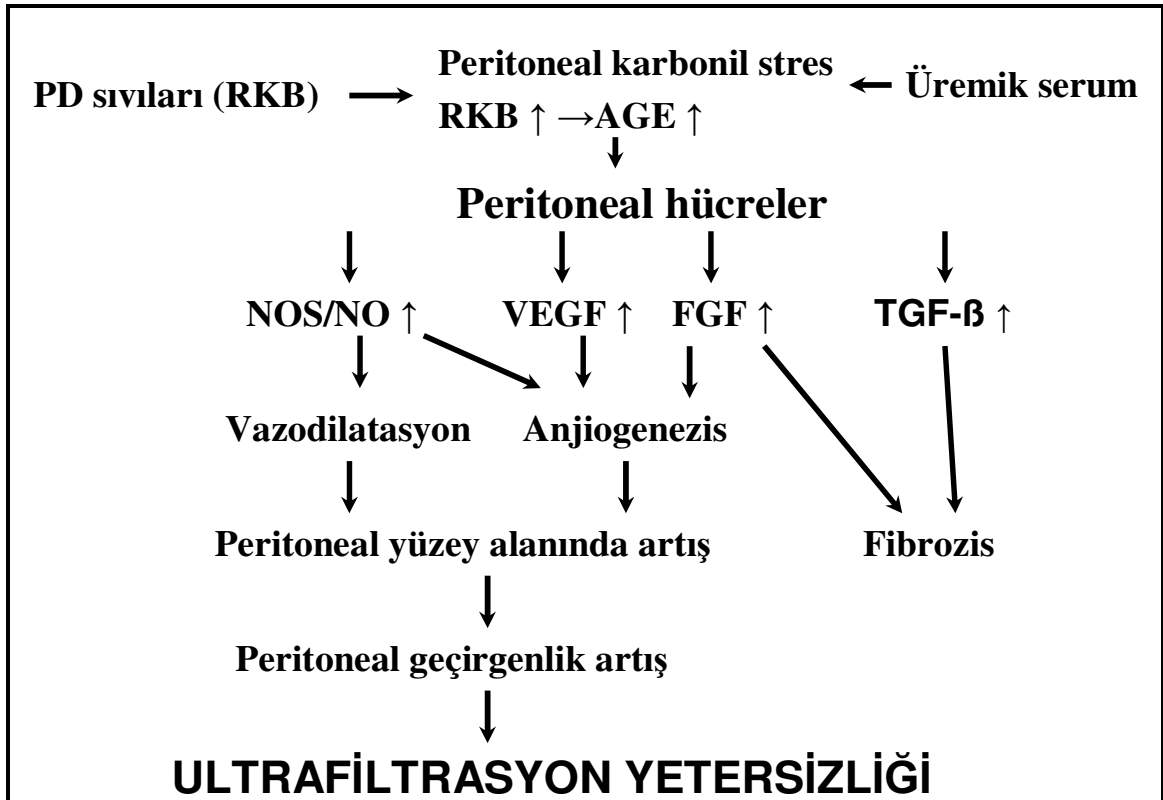
Lenfatiklerin peritondan sıvı absorpsiyonunda artış ile birlikte periton damarlarındaki AQP disfonksiyonuna bağlı gelişir. Normal solüt transportuna karşın UF yetersizliği mevcuttur. Hiperosmolar periton diyaliz sıvıları UF miktarını arttırmaz.



Şekil-1. Periton diyalizinde zamanla meydana gelen fonksiyonel değişiklikler.

4.5.Peritoneal Fibrozis:

PD sırasında peritoneal membran komponentlerinde bir takım yapısal değişiklikler oluşmaktadır. Mezotel hücrelerinde mikrovillüslerin sayısı azalmakta, bazen dejeneratif değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Ayrıca mezotel hücre metabolizmasının arttığını gösteren düz endoplazmik retikulumda ve fosfolipid içeren lameller cisimciklerde artışlar olmaktadır. Histokimyasal incelemelerde hücre zarı ve sitoplazmasındaki enzim aktivitelerinde artışlar saptanmaktadır. İnterstisiyel kollajen liflerinin dağılım ve depolanmasında düzensizlikler ortaya çıkmakta, özellikle kollajen tip III ve VI'nın depolanması artmakta ve sonuçta interstisiyel fibrozis gelişmektedir. Bu fibrotik süreç ilerleyerek, barsakların birbirine yapışması ve subileusla karakterize sklerozan peritonite dönüşmektedir. Mikrovasküler yatakta ise diyabetik mikroanjiyopatiye benzer değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Peritoneal damar sayısı oldukça artmakta, kapiller duvarda endotel bazal membranında kalınlaşma ve bazal membranın reduplikasyonu ortaya çıkmaktadır. Damar duvarlarında kollajen tip IV birikimine bağlı fibrotik kalınlaşma ve hyalinozis ortaya çıkmaktadır(3-6).



RKB: Reaktif karbonil bileşikleri AGE: İleri glikoz yıkım ürünleri.

Şekil-2. Periton diyalizinde zamanla ortaya çıkan yapısal değişiklikler ve UF yetersizliği.

Peritoneal membranda yıllar içinde ortaya çıkan morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerin nedenleri şunlardır (3-6).

- a- PD solüsyonlarının biyo-uyumlu olmaması
 - Yüksek glikoz içermeleri (75-200 mmol/L),
 - Hipertonik olmaları (334-486 mOsm/L),
 - Laktat içermeleri
 - Düşük pH (3-5).
- b- Üremik ortam.
- c- Sık tekrarlayan peritonit atakları,
- d- Biyouyumsuzluk (Sıvı torbaları içindeki plastik partikülleri, asetat)
- e- Dezenfektanlar (Klorheksidin, povidin iyot)
- f- Kateter, bakteriyel filtreler
- g- PD dışı nedenler
- h- Sterilizasyon sırasında oluşan glikoz yıkım ürünleri (Aldehitler, glioksal, furfuraller),
- ı- İleri glikoz yıkım ürünleri (Pentozidin),
- j- PD süresi

4.5.1. Peritoneal Fibrozis Gelişiminde TGF- β 1'in Rolü:

Peritoneal fibrozisteki değişikliklerinin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamakla birlikte, peritoneal fibrozis, mezotelyal hücreler ve makrofajlardan sekrete edilen growth faktörler ve sitokinler ile ilişkilendirilmiştir. Periton diyaliz solüsyonlarının kronik irritatif etkisi ve şiddetli ya da uzun süreli peritonitlerin, mezotel hücrelerini zedeleyerek peritoneal fibroze neden olan olayları başlattığı ileri sürülmektedir. Mezotel hücreleri; fibronektin, laminin, proteoglikanlar gibi ekstraselüler matriks makromoleküllerini ve TGF- β 1 ve İL-1 gibi fibrojenizden sorumlu sitokinleri sekrete ederek peritoneal fibroze sebep olabilir . Ek olarak, şiddetli ya da uzun süreli peritonit, doku makrofajlarının TGF- β 1, platelet-kaynaklı growth faktör (PDGF), tümör nekrozis faktör (TNF) ve İL-1 gibi fibrojenik sitokinleri üretmesine sebep olabilir. Bu sitokinler, fibroblastları uyarak ekstraselüler matriks üretimine neden olmaktadır (7,8). Fibrotik hastalıklarda, ekstraselüler matriks birikiminde anahtar bir mediyatör olan TGF- β 1'in fibrozis gelişmesinde çok sayıda farklı etkisi vardır. Bunlar; a) Kollajenler, fibronektin, proteoglikanlar gibi matriks proteinlerinin sentezinde artış, b)

Matriks metalloproteinaz ekspresyonunun supresyonu ile matriks proteinlerinin parçalanmasında azalma ve plazminojen-aktivatör inhibitörlerinin üretiminde artış, c) İntegrinlerin sentezinde artıştır. Fibrozisde, TGF- β 1 ekspresyonunda azalma, patolojik matriks birikimini azaltır. Glomerülonefritli ratlarda yapılan bir çalışmada TGF- β 1'in antikorlarla nötralizasyonu yada doğal TGF- β 1 antagonisti olan decorin ile tedaviyle glomerüler matriks birikiminin sınırlandığı saptanmıştır (32).

4.5.2. Peritoneal Fibroziste İleri Glikoz Yıkım Ürünlerinin Rolü:

Biyo-uyumlu olmayan periton diyaliz solüsyonları ile peritoneal membranın kronik teması, ileri glukoz yıkım ürünleri (AGE) oluşumu ile sonuçlanır. AGE'ler, periton diyalizi hastalarının damar duvarları, mezotel ve submezotelyal stromalarında immünohistokimyasal yöntemlerle tesbit edilebilir (33,34). AGE birikimi çeşitli solütlere karşı geçirgenlik artışına neden olur. İnterstisiyel fibrozis ve vasküler sklerozisin derecesi, interstisiyel ve vasküler AGE birikimi ile korele bulunmuştur (5). AGE'lerin etki mekanizması ile ilgili diğer bir mekanizma, AGE'ler, spesifik hücrese reseptörlerine bağlanarak sinyal transdüksiyon yollarını aktive eder ve IL-1, PDGF, VEGF ve TGF- β gibi sitokin ve büyüme faktörlerinin sentez ve salınımına, adezyon molekülleri ve prokoagülan faktörlerin oluşumuna neden olurlar (35).

4.5.3. Peritoneal Neovaskülarizasyonda VEGF'in Rolü:

SAPD'de ortaya çıkan neovaskülarizasyon ve damarların vazodilatasyonu ya da her ikisi birden efektif peritoneal yüzey alan artışına neden olmaktadır. Böylece peritoneal membrandaki vasküler yüzey alanı artışı, ultrafiltrasyon kaybına neden olur ki, bu, SAPD'den ayrılmanın en önemli nedenidir (36,37). Çalışmalar, peritoneal membrandaki vasküler değişikliklere VEGF üretimindeki artışın yol açmış olabileceğini göstermiştir (38). Hem normal hem de patolojik anjiogenezin düzenlenmesinde VEGF'in çok önemli bir role sahip olduğu kanıtlanmıştır. VEGF, aynı zamanda, vasküler permeabiliteyi ve nitrik oksit sentaz üretimini artırarak vazodilatasyon ve inflamatuvar cevabın başlamasına sebep olur (39). VEGF, peritoneal makrofajlar ve mezotelyal hücreler gibi pek çok hücreden salınır (40,41). VEGF'in sekresyonu, birçok faktör tarafından düzenlenmektedir. Hipoksi, VEGF ekspresyonunda artışa yol açan güçlü bir uyarandır. Reaktif oksijen ara ürünleri, artmış glukoz seviyeleri, glukoz yıkım ürünleri ve PDGF, TGF- β 1, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (İGF-1), TNF- α , İL-1 β ve

İL-6 gibi çok sayıda büyüme faktörleri ve sitokinler, çok sayıda hücre tipinden VEGF ortaya çıkmasını artırabilir. Bundan başka, ileri glikozilasyon ürünlerinin diyabetik retinopatideki VEGF ekspresyonunu stimüle edebildiği gösterilmiştir(42).

4.6. Diyabetik Periton Diyalizi Hastalarında İnsülin Tedavisi:

SAPD tedavisi uygulayan diyabetik KBY'li hastaların hiperglisemi kontrolü için gerekli insülinleri subkutan veya intraperitoneal yoldan verilebilmektedir. İntraperitoneal insülin tedavisi periton diyalizi uygulayan diyabetik hastalar için en fizyolojik insülin tedavisidir. Subkutan insülin ile karşılaştırıldığında eşit ya da daha iyi glisemik kontrol sağlar (11, 12)

Diyabetik PD hastalarında glisemik kontrol, glukozun ve insülinin İP sabit infüzyonu ve bunların yavaş emilimi ile sağlanır. İP yolla dengeli bir glukoz-insülin uygulamasının idamesi, teorik olarak daha iyi glukoz tüketimi, daha fizyolojik insülin verilmesi ve her iki maddenin de plazma konsantrasyonlarında büyük dalgalanmalar olmasının engellenmesini sağlar. İP insülin kullanılmasıyla, glisemi kontrolü ve beslenmenin iyileşmesi, hiperinsülineminin azalması ve çok sayıdaki günlük enjeksiyonun ortadan kalkması beklenmektedir (11, 12).

İnsülin İP uygulanması sonrası, portal dolaşıma geçer (endojen insülinde olduğu gibi). Buradan karaciğere transfer edilir, % 50'si tek-geçiş için reseptörlere bağlanır, geri kalanı da sistemik dolaşıma verilir. İntrahepatik insülin konsantrasyonu kandaki aminoasit ve glikoz düzeyine göre ayarlanır. İnsülin, hepatik glikojenolizi, glukoneogenezis ve ketogenezisi inhibe ederken, glikojen ve yağ asidi sentezini artırır. İlk geçiş esnasındaki regülasyon insülinin plazma düzeyini etkiler ve hiperinsülinemiye önler. İP insülin kullanımıyla akut glukoz yüklemesine karşı, daha düşük bazal insülin değerleri ve daha hızlı insülin salınımı sağlanır. Pek çok çalışma sonuçları, SC enjeksiyonla karşılaştırıldığında İP insülinin daha düşük plazma glukozu ve periferik serbest insülin düzeyi sağladığını göstermiştir. İP insülin SC insüline göre daha iyi emilir, çünkü SC insülin doku degradasyonu ve yerel varyasyonlar sonucu doku perfüzyonundaki dalgalanmalardan ve sekestrasyondan etkilenir (43).

Intraperitoneal yoldan verilen insülin dozu subkutan yoldan verilen dozun yaklaşık 2-3 katıdır. İntraperitoneal insülinin peritoneal membran üzerine olan etkileri tam olarak bilinmemektedir.

4.7. Fibrozis Gelişiminde ve Neovaskülarizasyonda İnsülinin Etkisi:

İn vivo ortamda yapılan çalışmalar, insülin ve insülinin homoloğu olan İGF-1`in VEGF üretimini artırdığını göstermiştir(14). Yine insülinin tip IV kollajen gen ekspresyonunu stimüle ettiği ve ekstraselüler matriksi döşeyen tip IV kollajen konsantrasyonunu ve posttranskripsiyonel bir mekanizma ile renal proksimal tübüler hücrelerden TGF- β_1 üretimini artırdığı gösterilmiştir(13).

İnsülinin, peritoneal membranda fibrozis gelişiminde kilit rol oynadığı iddia edilen TGF- β_1 ve yeni damar oluşumlarını arttırdığı gösterilen VEGF gibi büyüme faktörlerinin üretimini arttırması teorik olarak, insülinin de peritoneal fibrozis gelişiminde rolü olabileceğini düşündürmektedir. Literatür taramamızda intraperitoneal ve subkutan insülin kullanımının peritoneal membran yapı ve fonksiyonlarını inceleyen çalışmalara rastlayamadık.

Biz bu çalışmada deneysel diyabetik sıçan modelinde intraperitoneal ve subkutan insülinin peritoneal membran üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

5.GEREÇ VE YÖNTEMLER

5.1. Deneklerin Seçimi:

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (FÜTDAM), Deney Hayvanı Kullanımı ve Bakımı sertifikasyon programını takiben gerçekleştirildi.

Çalışma, 150-250 gr ağırlığında, 3-4 aylık erkek Wistar-Albino sıçanlar kullanılarak yapılmıştır. Sıçanlar 4'lü gruplar halinde polikarbon kafeslerde barındırıldılar. Standart laboratuvar diyetiyle beslendiler ve istedikleri kadar su içmelerine izin verildi. Oda sıcaklığı 28-30 °C'de tutuldu. Deney süresince, sıçanlar, uygun şekilde ışık alması sağlanan bir ortamda (12'şer saatlik ışık-karanlık siklusu içinde) ve iki kez temizlenen kafeslerde barındırıldı. Fırat Üniversitesi Hastanesi Etik Komitesi çalışma şeklini onayladı. Hayvan yemleri özel çelik kafeslerde, su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda verildi.

5.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar:

FÜTDAM'dan temin edilen sıçanlar randomize olarak sekizerli beş gruba ayrıldı. Kontrol grubuna (K) intakt peritonu görmek için herhangi bir tedavi uygulanmadı. Geri kalan 4 gruptaki sıçanlara 26 gauge'lik insülin enjektörüyle intraperitoneal 60 mg/kg streptozosin 0.25 ml sitratlı tamponda çözündürülerek uygulandı. 72 saat sonra 12 saatlik açlık kan şekeri ölçüldü. Açlık kan şekeri 250 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar çalışmaya alındı. Sıçanlar diyabetik olduktan sonra aşağıdaki 4 gruba ayrıldılar:

1- Diyabetik kontrol grubu (DM-K): Diyabetik peritoneal membranı görmek için incelendi. Herhangi bir tedavi uygulanmadı.

2- Diyabetik + İntraperitoneal ringer laktat grubu (İPRL): Ratlara günde iki kez intraperitoneal 20 cc/kg ringer laktat verildi.

3- Diyabetik + İntraperitoneal insülin + İntraperitoneal ringer laktat grubu (İPİ): Ratlara günde iki kez intraperitoneal 20 cc/kg RL solüsyonu ve intraperitoneal kristalize insülin verildi.

4- Diyabetik + Subkutan İnsülin + İntraperitoneal ringer laktat grubu (SCI): Ratlara günde iki kez intraperitoneal 20 cc/kg RL solüsyonu ve subkutan kristalize insülin verildi.

Grupların iki günde bir kan şekerleri ölçüldü. İnsülin uygulanan grupların açlık kan şekerleri 200 mg/dl'nin altında olacak şekilde insülin dozları ayarlanmaya çalışıldı.

Subkutan insülin uygulanan grupların ortalama 3 Ü, intraperitoneal insülin uygulanan grupların ise ortalama 9 Ü insülin ihtiyacı oldu. Subkutan insülinler 26 gauge'lık insülin iğnesiyle yapıldı. İntraperitoneal insülinler peritoneal kavite içinde iyice dağılması için RL solüsyonlarına katılarak verildi. İntraperitoneal enjeksiyonlar, peritoneal membranı fazla tahriş etmemek için 26 gauge'luk insülin iğnesiyle her seferinde sağ alt kadrandan yapıldı.

5.3. PET Testi Yapılması ve Örneklerin Alınması:

İki ay sonra bir saatlik peritoneal eşitleme testi (PET testi) yapıldı. Sıçanlara 20 ml 37°C sıcaklıkta %2.27'lik PD solüsyonu yavaş olarak intraperitoneal verildi. Enjeksiyondan sonra sıçanlar tekrar kafeslerine kondu ve istedikleri kadar su içmelerine izin verildi. İntraperitoneal enjeksiyondan sonraki 55. dakikada 60 mg/kg'dan intramüsküler ketamin uygulandı. Sıçanlar tamamen bayıldıktan sonra, orta hat insizyonuyla, kısaltılmış PD kateteri yerleştirildi. Kateter etrafından dışarıya diyalizat sızmasına izin verilmedi. PD kateteri yardımıyla diyalizat boşaltıldı. Kardiyak ponksiyonla sıçanların kanları alındı. Daha sonra batin açılarak sıvı kalıp kalmadığına bakıldı, kalan sıvılar enjektör yardımıyla boşaltılarak miktar tayini yapıldı. Patolojik inceleme için, enjeksiyon yapılmayan bir bölgeden pariyetal periton ve karaciğer üzerinden visseral periton örnekleri alındı.

5.4. Kan ve Diyalizat Örneklerinin Çalışılması:

Ependorf tüpleri içinde -20⁰C'de bekletilen örnekler oda ısısında çözündürüldü. Diyalizattan üre, glikoz ve protein tayini kandan ise sadece üre ve glikoz bakıldı. Üre, glikoz ve protein tayini standart laboratuvar yöntemleriyle yapıldı. Verilen sıvı ile geri alınan sıvı farkı net ultrafiltrasyon olarak ölçüldü. Diyalizat/plazma üre ve D₁/D₀ glikoz (D₀; PET testinde kullanılan PD sıvısının peritona verilmeden önceki glikoz miktarı, D₁; geri alınan diyalizatın glikoz miktarı) oranları hesaplandı.

5.5. Doku Örneklerinin Histopatolojik İncelenmesi:

Histopatolojik inceleme Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji ABD'da bu konuda uzman patolog tarafından yapıldı. Periton örnekleri önce %10'luk formaline kondu, daha sonra parafin kalıplara alınarak 4 mikron kalınlığında kesildi. Preparatlar hemotoksilen-eozin boyasıyla boyandı. Örnekler aynı patolog tarafından ışık mikroskopunda incelendi. Periton membranı, histolojik olarak periton kalınlığı,

inflatuar hücre infiltrasyonu, fibroblastik aktivite ve yeni damar oluşumlarını değerlendirmek için incelendi. Peritoneal membran kalınlıkları için on farklı bölgeden ölçüm yapılarak ortalamaları alındı. Mononükleer hücre infiltrasyonu, örnekler ışık mikroskopu ile 400'lük büyütmede 10 alan sayılıp ortalamaları alınarak değerlendirildi. Fibrozis gelişimi 0'dan (hiç yok) 3'e (aşırı fibroblastik aktivite) kadar semikantitatif olarak derecelendirildi ve on alan sayılıp ortalamaları alındı. Yeni damar oluşumları immünohistokimyasal VEGF boyasıyla (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA), her bir peritoneal membran ışık mikroskopunda 400'lük büyütmede 10 alan sayılıp ortalaması alınarak değerlendirildi.

5.6. İstatistiksel Analiz:

Çalışmada elde edilen veriler ortalama±standart sapma olarak gösterildi. İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS 11.00 bilgisayar paket istatistik programı (SPSS Inc. Software Chicago, IL, USA) kullanıldı. Bağımsız gruplarda, gruplar arası fark Kruskal Wallis testi ile, gruplar arası farkın anlamlılığı ise Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. $P<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

6.SONUÇLAR

Çalışma sonunda elde edilen peritoneal membranın fonksiyonel ve histolojik bulguları Tablo 2 ve Tablo 3'te gösterilmektedir.

Tablo 2. Çalışma gruplarında peritoneal membranın fonksiyonel bulguları.

	K n=8	DMK n=7	İPRL n=8	İPİ n=8	SCİ n=8
AKŞ (mg/dl)	88±8,9	485±86,2 ^a	444±103,9 ^a	178±23,9 ^{a,b}	209±18,0 ^{a,b,c}
D/P üre	0,44±0,04	0,57±0,05 ^a	0,59±0,07 ^a	0,62±0,04 ^{a,b}	0,60±0,06 ^a
D₁/D₀ glukoz	0,53±0,03	0,51±0,05	0,49±0,04	0,45±0,02 ^a	0,42±0,02 ^{a,d}
Diyalizat protein (g/L)	1,5±0,3	2,7±0,5 ^a	1,9±0,3 ^a	2,4±0,7 ^a	2,2±0,5 ^a
UF (ml)	5,4±0,9	1,2±0,9 ^a	1,3±0,8 ^a	2,3±0,5 ^{a,b}	4,1±1,4 ^{b,c}

^a; kontrol grubuna göre p<0.001.

^b; insülin verilmeyen diyabetik gruplara göre p<0.001.

^c; intraperitoneal insülin grubuna göre p<0.001.

^d; intraperitoneal insülin grubuna göre p<0.05.

6.1. Deneysel Diyabet ve Uygulanan Farklı Tedavi Stratejilerinin Peritoneal Membran Fonksiyonları Üzerine Etkileri:

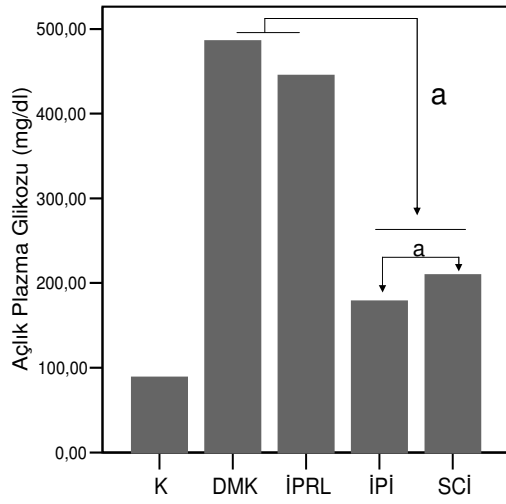
DMK ve İPRL gruplarının plazma açlık glukoz düzeyleri diğer gruplardan anlamlı olarak yüksekti (p<0.001). İPİ ve SCİ gruplarının glukoz düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti (p<0.001). Ayrıca İP insülin uygulanan grupta SC insülin uygulanan gruba göre anlamlı olarak daha iyi glisemik kontrol sağlanmıştı (p<0.00).

DMK ve İPRL grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, D/P üre oranındaki artış anlamlı (p<0.001), fakat D₁/D₀ glukoz oranındaki azalma anlamlı değildi (p>0.05). Bununla birlikte, DMK ve İPRL grubunda UF miktarı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış saptandı (K: 5,4±0,9, DM-K: 1,2±0,9, p<0.001). DMK ve İPRL grubunda, diyalizatla protein kaybı da kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazlaydı (p<0.001).

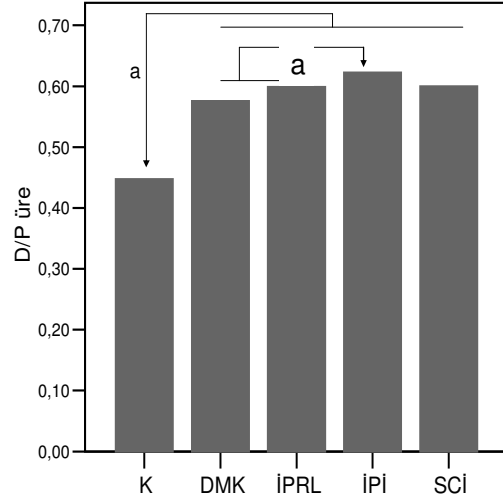
DMK grubu ile İPRL grubu karşılaştırıldığında, her iki grup arasında kan şekeri düzeyleri, UF miktarı, D/P üre artışı ve D_1/D_0 glikoz oranında azalma yönünden anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Diyalizatla protein kaybı ise DPK grubunda DM-İPRL grubuna göre anlamlı olarak artmış olarak saptandı ($p<0.001$).

İPİ ve SCİ gruplarında, kontrol grubuna göre, D/P üre oranında artış, D_1/D_0 glikoz oranında azalma ve diyalizatla protein kaybında anlamlı farklılıklar saptandı ($p<0.01$), fakat UF miktarındaki azalma İPİ grubunda anlamlıyken, SCİ grubunda anlamlı değildi. İPİ grubunda, DPK grubuna göre D/P üre oranı artışı ve D_1/D_0 glikoz oranı azalması anlamlıydı ($p<0.001$). UF miktarı, DPK grubunda İPİ grubundan anlamlı olarak daha azdı ($p<0.001$). İki grup arasında diyalizatla protein kaybı açısından anlamlı fark yoktu. SCİ grubunda, DPK grubuna göre D/P üre oranı arasındaki fark anlamlı değildi fakat D_1/D_0 glikoz oranı SCİ grubunda anlamlı olarak azalmıştı ($p<0.001$). UF miktarı ve diyalizatla protein kaybı, DPK grubunda SCİ grubuna göre anlamlı olarak azalmış bulundu (Sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.01$).

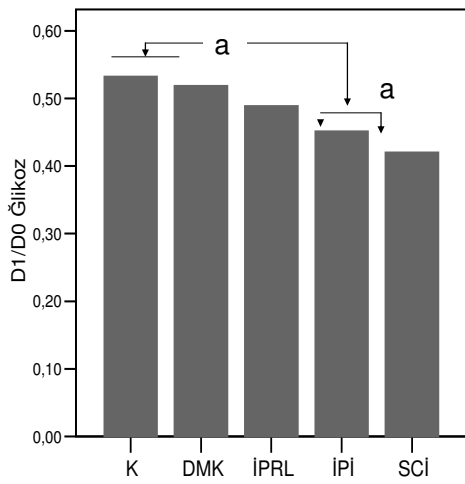
İPİ grubuyla SCİ grubu karşılaştırıldığında, D/P üre oranı arasındaki fark anlamlı değilken, D_1/D_0 glikoz oranı SCİ grubunda anlamlı olarak azalmıştı ($p<0.001$). SCİ grubunda, İPİ grubunun yaklaşık iki katı UF yapılmıştı (SCİ: 4.1 ± 1.4 ml, İPİ: 2.3 ± 0.5 ml ve $p<0.001$). Diyalizatla protein kaybı arasında iki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$).



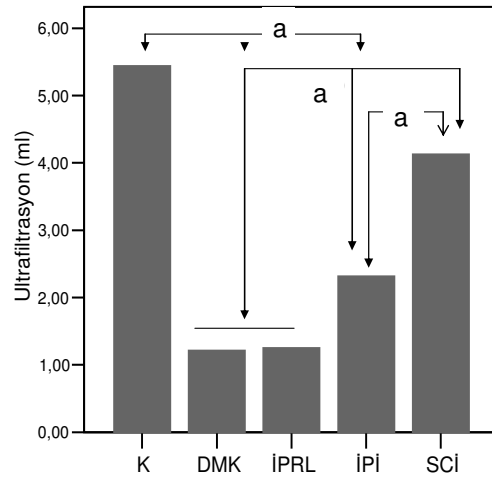
a: $p < 0.001$



a: $p < 0.001$



a: $p < 0.001$



a: $p < 0.001$

Şekil 3. Deney gruplarının ortalama açlık plazma glikoz seviyeleri, UF miktarları, D1/D0 glikoz ve D/P üre değerleri.

Tablo 3. Çalışma gruplarında peritoneal membranın histopatolojik özellikleri.

	K	DMK	İPRL	İPİ	SCİ
	n=8	n=7	n=8	n=8	n=8
Kalınlık (µm)	4,4±0,5	63,2±29 ^a	94,9±29 ^{a,b}	135,3±75 ^{a,b}	89,4±17 ^{a,b,c}
Fibrozis*	0	1,57±0,5 ^a	2,37±0,7 ^{a,d}	1,00±0,8 ^{a,d}	0,50±0,1 ^{b,e}
Yeni damar oluşumu*	0,07±0,1	0,53±0,7	2,07±1,3 ^{a,b}	3,58±2,5 ^{a,b}	1,21±0,5 ^{a,b,c}
İnflamasyon*	0,16±0,1	2,05±0,3 ^a	3,03±0,3 ^{a,b}	1,13±0,2 ^{a,b}	0,72±0,2 ^{a,b,c}

^a; kontrol grubuna göre p<0.001.

^b; diyabetik kontrol grubuna göre p<0.001.

^c; intraperitoneal insülin grubuna göre p<0.01.

^d; diyabetik kontrol grubuna göre p<0.01.

^e; intraperitoneal insülin grubuna göre p<0.05.

*; Her kesit ışık mikroskobunda 400'lük büyütmede on alan sayılarak ortalaması alınmıştır.

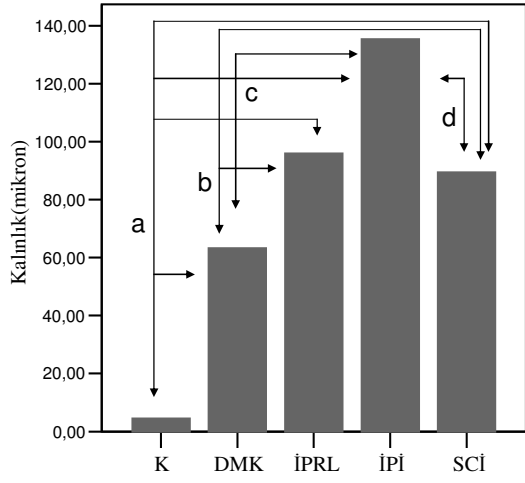
6.2. Deneysel Diyabet ve Uygulanan Farklı Tedavi Stratejilerinin Peritoneal Membranın Histolojik Yapısı Üzerine Etkileri:

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, diğer tüm gruplarda, peritoneal membran kalınlığında ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda anlamlı artış saptandı (p<0.001). İPRL ve İPİ gruplarında peritoneal fibroblastik aktivite ve yeni damar oluşumunda da kontrol grubuna göre anlamlı artış vardı (p<0.001). Kontrol grubuna göre, DMK grubunda yeni damar oluşumu, SCİ grubunda da fibroblastik aktivite açısından anlamlı farklılık yoktu.

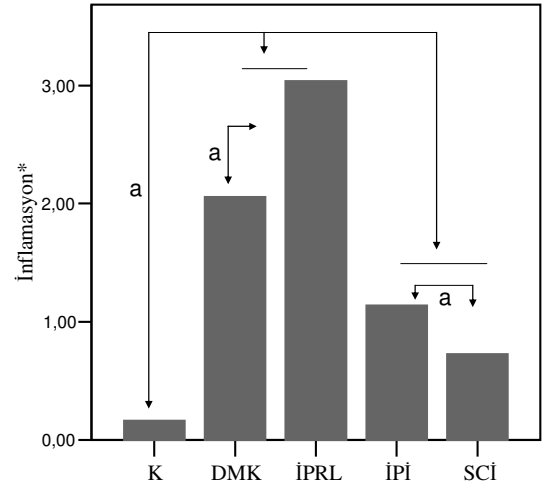
İPRL grubunda, periton membran kalınlığı, fibroblastik aktivite, yeni damar oluşumu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu, DMK grubundan anlamlı olarak fazlaydı (p<0.001).

İnsülin uygulanan her iki grupta da, DMK grubuna göre, peritoneal membran kalınlığı ve yeni damar oluşumu anlamlı olarak artmış bulundu (p<0.001). Fibroblastik aktivite ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu ise insülin uygulanan gruplarda DMK grubuna göre anlamlı olarak artmış bulundu (p<0.01).

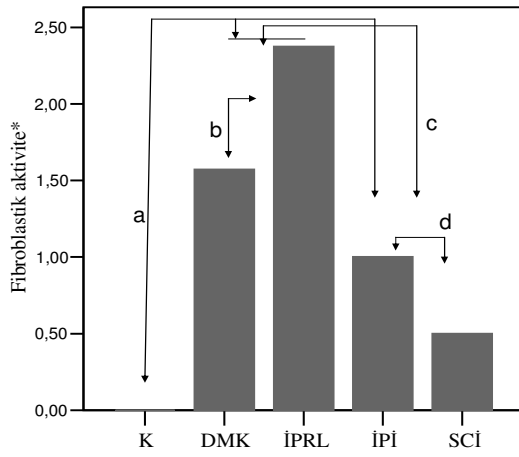
İPİ grubunda, SCİ grubuna göre peritoneal membran kalınlığı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, yeni damar oluşumu ve fibroblastik aktivite anlamlı olarak artmış bulundu (p<0.05).



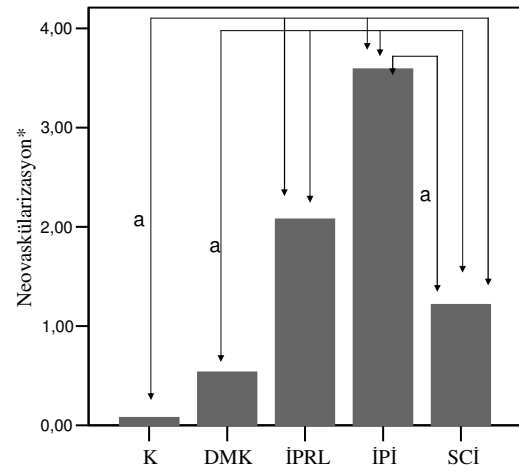
a: $p < 0.001$
b: $p < 0.01$
c: $p < 0.001$
d: $p < 0.005$



a: $p < 0.001$

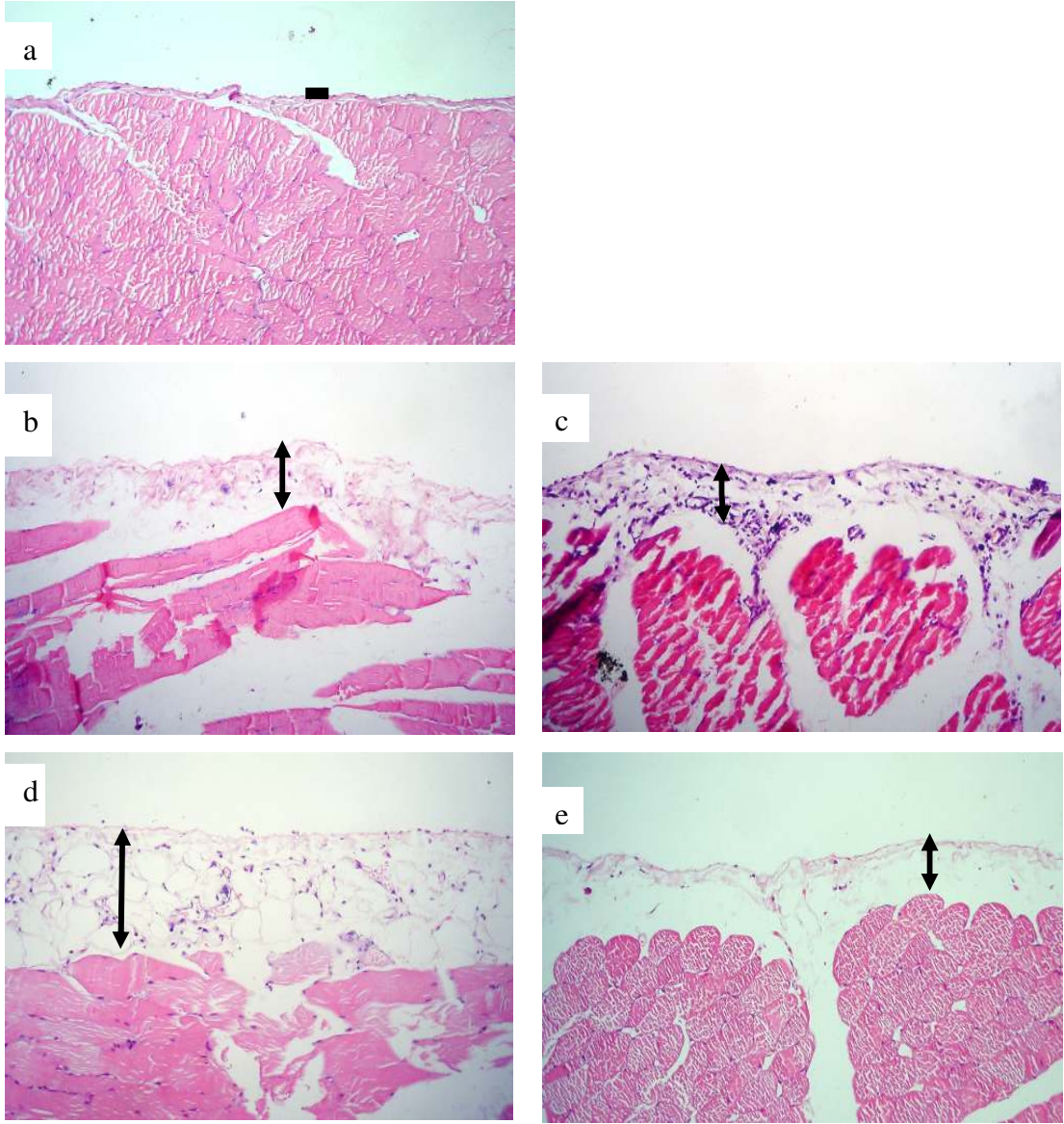


a: $p < 0.001$
b: $p < 0.01$
c: $p < 0.005$
d: $p < 0.05$

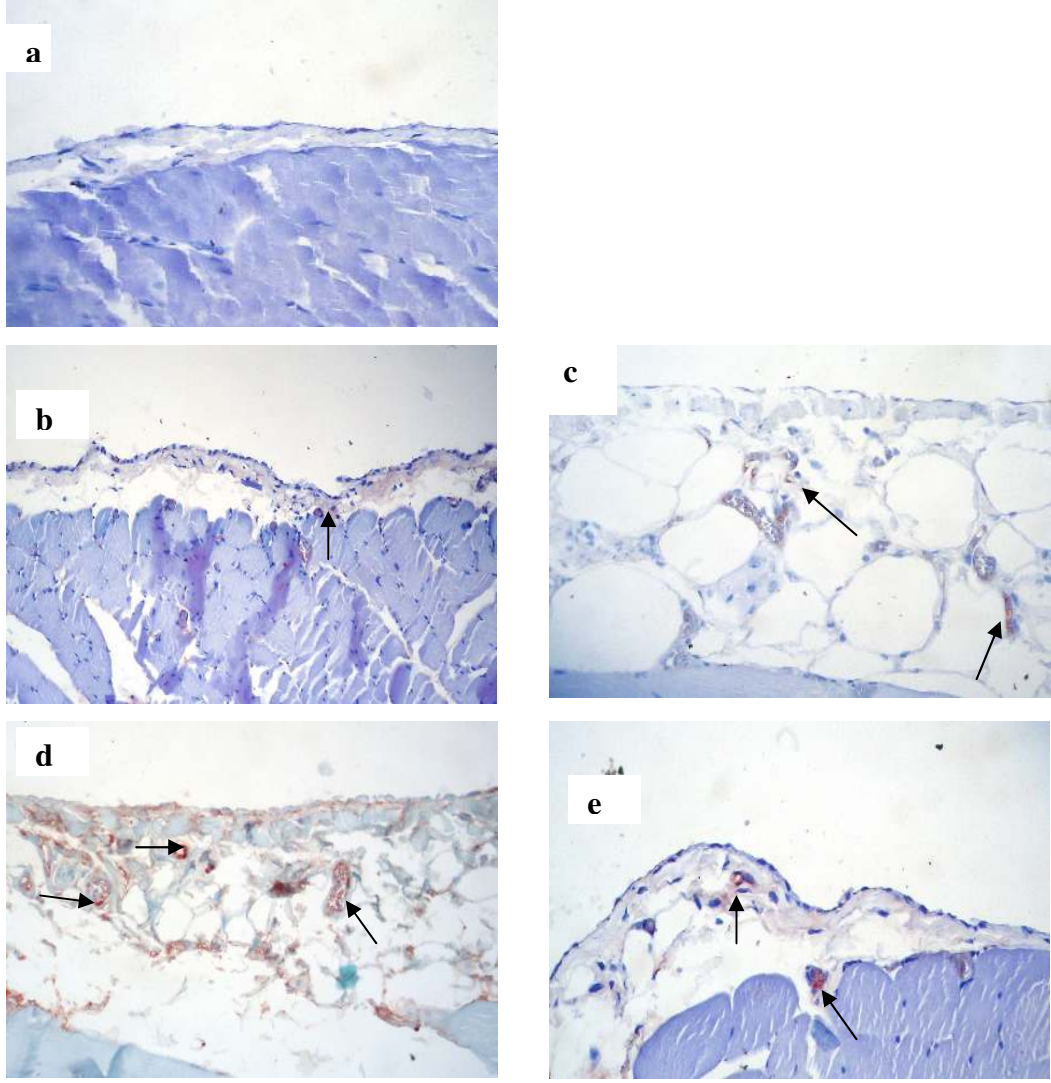


a: $p < 0.001$

Şekil 4. Deney gruplarında, diyabet ve insülin uygulama yollarının peritoneal membran kalınlaşması, inflamasyon, fibrozis ve yeni damar oluşumuna etkisi.



Şekil 5: **a-** Kontrol grubu: periton membranı, periton kasları üzerinde ince bir tabaka halinde uzanmakta, **b-** Diyabetik kontrol grubu: peritoneal membran kontrol grubuna göre artmış, yer yer inflamatur hücreler ve fibroblastlar mevcut, **c-** İPRL grubu: peritoneal membran kalınlığı artmış, yaygın inflamatur hücre infiltrasyonu ve fibroblastlar içermekte, **d-** İPİ grubu: peritoneal membran kalınlığı diyabetik ve subkutan insülin kullanılan gruplardan daha kalın. İnflamasyon ve fibroblast aktivasyonu subkutan insülin grubundan daha fazla, **e-** SCİ grubu: peritoneal membran kalınlığı diyabetik gruplardan daha az olmamakla birlikte, inflamatur hücreler nadir, fibroblastik aktivite azalmış. İntraperitoneal insülin grubuna göre belirgin bir iyilik mevcut. (Büyütme X400, Hematoksilen-Eozin.)



Şekil 6: **a-** Kontrol grubu: normal peritoneal membran, **b-** Diyabetik kontrol grubu: VEGF antikoru ile boyanan, yer yer yeni damar oluşumları, **c-** İPRL grubu: yeni damar oluşumları biraz daha belirgin, **d-** İPİ grubu: peritoneal membranda yaygın yeni damar oluşumları mevcut. **e-** SCİ grubu: yeni damar oluşumları insülin kullanılmayan diyabetik gruplardan biraz daha fazla fakat intraperitoneal gruba göre belirgin bir şekilde az. (Büyütme X400, monoklonal anti-VEGF antikoru.)

7.TARTIŞMA

Çalışma sonuçlarımız, diyabetik hastalarda gelişen peritoneal değişikliklerin önlenmesinde glisemik kontrolün önemini göstermektedir. Glisemik kontrolün sağlanması için, insülinin hangi yolla uygulanması gerektiği konusu tartışmalıdır. Daha önce yapılan çalışmalar, insülin uygulama yollarını metabolik parametreler açısından değerlendirmişlerdir. Khanna ve arkadaşları (11) ile Selam ve arkadaşları (12) yaptıkları çalışmada İP insülin uygulanmasının, SC insüline göre daha iyi glisemik kontrol sağlaması, hiperinsülinemi azaltması ve daha iyi beslenme sağlaması gibi avantajları olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalara göre, insülinin İP yolla verilmesi daha dengeli bir glikoz-insülin oranı, daha iyi glikoz tüketimi ve her iki maddenin de daha stabil plazma konsantrasyonlarına ulaşmasını sağlar. Bizim çalışmamızda da İP insülinle SC insülininden daha iyi glisemik kontrol elde edildi, fakat SC verilen insülin dozunun artırılmasıyla bu dezavantaj giderilebilir gibi görünmektedir. İP insülinin, glisemik kontrolü ve periferik hiperinsülinemi düzeltici etkilerine karşın, serum lipid profili üzerine LDL-kolesterol ve LDL/HDL kolesterol oranında artış, HDL-kolesterolde azalma gibi olumsuz etkileri olduğunu bildiren yayınlar da vardır (44). Lipid profili üzerine olan bu olumsuz etkinin, ateroskleroza bağlı kardiyak hastalıklarla ilişkisi tartışma konusu olmayı sürdürmektedir. İP ve SC insülinin peritoneal membranın yapı ve fonksiyonları üzerine etkilerini incelemeyi amaçladığımız bu çalışmada, biz, SC insülinin diyabetiklerde gelişen peritoneal membran değişikliklerini önlemede daha etkili olduğunu gözlemledik.

Periton diyalizi, diyabetli hastalarda hemodiyalize alternatif bir renal replasman tedavisi yöntemidir. Diyabetik hastalarda diyaliz yönteminin seçimi zordur ve bu hastaların diyabetik olmayanlara göre genelde daha düşük sağkalım oranına sahip olduğu (45) ve ayrıca uygulanan diyaliz tekniğinin de daha kısa ömürlü olduğu hesaba katılmalıdır (46). Diyabetin bütün formları, endotelyal disfonksiyon ve mikrovasküler geçirgenlik artışını da içeren mikrovasküler değişiklikler ve vasküler proliferasyon ile karakterizedir (47). Diyabetle ilişkili mikrovasküler değişikliklerden sorumlu mekanizmalar, ileri glikoz yıkım ürünlerinin birikmesi, VEGF gibi büyüme faktörlerinin salıverilmesi ve nitrik oksit yolağının değişmesidir (47,48). Diyabetik hastalar ve hayvan modelleriyle yapılan çalışmalar, PD'nde zamanla peritoneal membranda oluşan değişikliklerin patofizyolojik mekanizmasıyla, diyabetik komplikasyonlara neden olan patofizyolojik mekanizmanın aynı olduğunu göstermiştir

(46,49-51). Diabetes mellituslu hastaların serum proteinleri ve çeşitli doku proteinlerinde ileri glikoz yıkım ürünleri birikiminin, diyabetik komplikasyonların patogeneğinde rol oynadığı öne sürülmektedir (52-55). Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda da, üremik ortamın sebep olduğu oksidatif stresden dolayı ileri glikoz yıkım ürünleri oluştuğu gösterilmiştir (56). Üremik hastalarda, radial arter ve renal vasküler yapılarda ileri glikoz yıkım ürünleri birikimi saptanmıştır (57).

Diyabetin peritoneal membran üzerine etkilerini inceleyen farklı çalışmalar çelişkili sonuçlar içermektedir. Diyabetik hastalarda, peritoneal membranda diyabetik olmayanlara göre üre (58) ve kreatinin (58-60) gibi solütlere karşı geçirgenliğin arttığını ve daha düşük transkapiller UF (61) gerçekleştiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Bununla birlikte, solüt transportu ve UF miktarında değişiklik oluşmadığını bildiren yayınlar da mevcuttur (62,63). Stoenoiu ve arkadaşlarının (58) diyabetik sıçanlarda yaptığı çalışma diyabetin peritoneal membranda yaptığı değişiklikleri gözler önüne sermiştir. Bu çalışmada, diyabetik sıçanların peritoneal membran kapillerinde endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesinin ve vasküler proliferasyonun arttığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada damar duvarlarında ileri glikoz yıkım ürünlerinin birikimi saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda, intraperitoneal veya subkutan insülin kullandığımız sıçanlarda, tedavi edilmeyen diyabetik sıçanlara oranla UF miktarında artış gerçekleşti. UF miktarındaki bu artış özellikle subkutan insülin uygulanan grupta oldukça belirgindi. Yine subkutan insülin grubunda, peritoneal membran kalınlığı, fibroblastik aktivite, yeni damar oluşumu ve inflamasyonda intraperitoneal insülin grubundan daha azdı.

Intraperitoneal insülinin peritoneal membranda neden olduğu değişiklikler, insülinin TGF- β_1 (13) ve VEGF(14) sentezini artırmasıyla açıklanabilir. Daha önce yapılan çalışmalar, uzun süreli periton diyalizi sonucunda, peritoneal membranda ilerleyici fonksiyonel ve yapısal değişiklikler geliştiğini ortaya koymuştur (64). Periton membranında meydana gelen değişiklikler, interstisiyel fibrozis, mezotel hücrelerinde soyulma, diyabetik mikroanjiyopatiye benzer vasküler değişiklikler, vazodilatasyon ve neovaskülarizasyondur (3,42). Bu değişikliklerin sebebi olarak, mezotel hücreleri ve makrofajlar tarafından büyüme faktörleri ve sitokin üretimi ile oksidatif stres ileri sürülmüştür (7,65-67). Bu faktörlerden anahtar rol oynadığı düşünülenler TGF- β_1 ve VEGF'dir (68,69).

Peritoneal TGF- β_1 sentezini artıran faktörler olarak anjiotensin II, hipoksi, yüksek glikoz düzeyi, otoantikorlar, immün kompleksler, ileri glikoz yıkım ürünleri, PDGF,

TGF- β_1 'in kendisi, bFGF ve mezengial hücre gerilmesi sayılabilir (70) TGF- β_1 fibrozisin başlaması ve ilerlemesine katkıda bulunan birtakım özelliklere sahiptir(4).

- a- TGF- β_1 uyarısıyla hızlı bir şekilde fibronektin, tip I ve tip III kollajen gibi ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezi artar. Bunların yanı sıra normalde ekstraselüler matrikste bulunmayan fibronektin, tenaskin ve PAI-1 gibi yeni proteinlerde sentezlenir. Plazminojen/plazmin proteaz sistemi ekstraselüler matriksin yıkımı ve remodelinginde anahtar rolü oynamaktadır. TGF- β_1 hasarlı bölgelerde PAI-1'in sentezini arttırarak plazminin yapımını tamamen durdurur.
- b- Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü ve PAI-1 gibi proteaz inhibitörlerinin üretimini arttırarak, ekstraselüler matriks proteinlerinin birikimine katkıda bulunur.
- c- TGF- β_1 aynı zamanda hücre yüzeyinde integrin adı verilen ESM protein reseptörlerinin sayısını arttırır. Bu reseptör sistemi kollajen tip-1 ve fibronektini bağlayarak onların sentezinin daha da artmasına neden olur.

Morrissey ve arkadaşları, renal proksimal tubulusta TGF- β_1 üzerine insülinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, insülinin TGF- β_1 sentezini arttırdığını gösterdiler. Bu çalışmada, hücrelerin insülinle stimüle edildiklerinde, tip IV mRNA ekspresyonu ve ekstraselüler matriks birikimine neden oldukları gösterildi. TGF- β_1 blokan antikorların varlığında ise insülinin bu etkisi ortadan kalkmaktaydı. İnsülin, etkisini, düşük dozlarda kullanıldığında insülin reseptörleri, yüksek dozlarda kullanıldığında ise insülin reseptörleriyle birlikte, IGF-1 reseptörleri gibi diğer reseptörleri de etkileyerek göstermekteydi. İnsülinin TGF- β_1 sentezini artırıcı etkisinin IGF-1 reseptörleri aracılığıyla olduğu Morrissey ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada gösterilmiştir. İnsülin ve IGF-1 reseptörü arasında, postreseptör sinyal yollarında çok büyük benzerlikler vardır. Bu ligandların etkileri, reseptörlerinin hücre dışındaki etki bölgelerine bağlanmalarıyla başlatılır ve bunun peşinden hücre içi tirozin kinaz aktive olur. Tirozin kinazın aktive olması, reseptörün otofosforilasyonu ve Ras ve fosfatidil inozitol-3 (PI-3) kinaz'ın aktivasyonuna yol açar. Serine / threonine protein kinazlardan birinin aktivasyonu da mitogen-aktive edici kinaz (MAP/ERK kinaz) kaskadı, protein kinaz B ve 70- kd ribozomal S6 protein kinaz (p70 S6 kinaz) aktive olur. Bunlardan PI-3 kinaz ve p70 S6 kinaz TGF- β_1 sentezini arttırır (13).

Peritoneal membranda gelişen vasküler değişikliklerden VEGF üretiminin artışı sorumlu tutulmaktadır (71). Peritoneal mikrovasküler yapısal değişiklikler bazal

membranda kalınlaşma ve reduplikasyon ve yeni damar oluşumudur (neoanjiogenez) (72-74). Bu vasküler değişiklikler, diyabette görülen mikrovasküler anormalliklere benzer. Erken diyabetik mikrovasküler değişikliklerin iyi bilinen iki özelliği, büyük moleküllere karşı geçirgenlik artışı ve neoanjiogenezdir (36,37). Plazma proteinlerinin, endotelden anormal geçişi ve bazal membranda birikmesi, diyabetik mikroanjiyopatideki tipik bazal membran kalınlaşmasının sebebi gibi düşünülmektedir. Bu konudaki diğer bir mekanizma da, matriks proteinlerinin sentezinde artış ve yıkılmasında azalmanın rol alabileceği şeklindedir (38). Anjiogenez, embriyonik vasküler gelişim ve farklılaşma, yara iyileşmesi ve organ rejenerasyonu gibi çok sayıda biyolojik sürecin önemli bir komponentidir (75). Fakat bir çok hastalık düzensiz, patolojik anjiogenezle seyreder. Artritlerde yeni oluşan kapiller kan damarları invazyon yoluyla kartilajı zedeleyebilir (76). Yine tümör büyümesi ve metastaz oluşması da neoanjiogenezise bağımlıdır (77,78). Anjiogenezle ilişkili olduğu bilinen, TGF- β_1 , TNF ve bFGF gibi çeşitli büyüme faktörleri vardır. Fakat bunların anjiogenezi dolaylı olarak etkilediğine inanılır (71,79). VEGF ise fizyolojik ve patolojik anjiogenezde çok önemli bir rol oynar (39,80).

VEGF, endotelyal hücre geçirgenliğini çarpıcı bir şekilde artırır. Şimdiye kadar tanımlanmış, en potent endotelyal geçirgenlik artırıcı ajanlardan biridir (41). VEGF, in vivo ortamda, kapiller formasyonu stimüle eden ve endotelyal hücrelere karşı direk mitojenik aktiviteye sahip olan potent bir anjiogenik faktördür (81,82). VEGF bir çok hücre tipi tarafından sekrete edilir ve ekspresyonu bir kısım büyüme faktörleri ve sitokinlerce düzenlenir. IL-1 β (82), PDGF ve TGF- β (83) düz kas hücreleri tarafından VEGF üretimini stimüle edebilirler.

Yapılan pek çok çalışmada, insülin ve IGF-1'in farklı hücre sistemlerinde VEGF mRNA ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (84-86). Miele ve arkadaşları, insülin ve IGF-1 ile VEGF indüksiyonunun PI-3 kinaz/ protein kinaz-B ve mitojen aktive edici protein kinaz yolağıyla olduğunu gösterdiler (14).

Çalışmamızda, özellikle intraperitoneal insülin verilen grupta olmak üzere peritoneal membranda yeni damar oluşumlarının artmış olarak saptanması, insülinin VEGF sentezini artırıcı etkisini ve VEGF'in güçlü anjiogenik özelliğini bildiren çalışmaları destekler niteliktedir.

İntraperitoneal insülin kullanılan grupta periton membranında yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin subkutan insülin kullanılan gruba göre daha fazla olması, intraperitoneal insülinin lokal olarak peritoneal membranda TGF- β_1 ve VEGF sentezini

subkutan insüline oranla daha fazla arttırmış olmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca intraperitoneal grupta, subkutan gruba göre daha yüksek dozda (intraperitoneal grupta 9 Ü, subkutan grupta 3 Ü) insülin verilmesi de bu değişikliklere katkıda bulunmuş olabilir.

Honda ve arkadaşları (5), UF yetmezlikli CAPD hastalarının peritoneal damarlarında ileri glikoz yıkım ürünleri birikimini araştırdıkları çalışmalarında, hastaların peritoneal interstisyumunda geniş bir alanda ileri glikoz yıkım ürünleri biriktiğini ve interstisiyel fibrozisin derecesi ile birikim arasında pozitif korelasyon olduğunu tesbit etmişlerdir. İleri glikoz yıkım ürünleri birikimi, peritoneal damarlardan sadece sklerotik olanlarda gösterilmiş ve damarlardaki sklerozun derecesi ile ileri glikoz yıkım ürünleri birikiminin yaygınlığı arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir. Ayrıca interstisiyel fibrozis ve peritoneal vasküler sklerozun şiddeti ile UF miktarı arasında negatif korelasyon tesbit edilmiştir. Bu sonuçlar, interstisiyel fibrozis gelişiminde ileri glikoz yıkım ürünleri birikiminin rolü olduğunu düşündürmektedir. Stoenoiu ve arkadaşlarının (58) çalışmasında, diyabetik sıçanlarda altı hafta sonunda, sağlıklı kontrol grubuna göre peritoneal kapiller ve vasküler duvarlarda *carboxy methyl lysine* birikimi oluşmuştu. Ayrıca, bu çalışmada yavaş salınımlı insülin implantlarıyla kronik insülin tedavisi sonucu bu birikimin önlendiği gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda da, özellikle subkutan grupta olmak üzere, insülin kullanılan gruplarda diyabetik gruba göre daha fazla UF elde etmemizin olası sebeplerinden biri de insülinin peritoneal membranda ileri glikoz yıkım ürünleri birikimini önleyici etkisi olabilir.

Peritoneal membrandan küçük molekül ağırlıklı solütlerin transport oranı, esas olarak, efektif peritoneal yüzey alanına bağlıdır (63). Klinik ve deneysel çalışmalar, efektif peritoneal yüzey alanı artışıyla küçük molekül ağırlıklı solütlerin arttığını ve nihayetinde UF yetersizliği geliştiğini göstermiştir (87,88). Çalışmalardan elde edilen deliller sonucunda, VEGF gibi büyüme faktörlerinin, İL-6 gibi sitokinler ve endotelial hücrelerden nitrik oksit (NO) salınmasının, peritoneal membranda geçirgenlik ve vasküler dansitenin düzenlenmesinde merkezi rol oynadıkları kabul edilir (63,87-89). VEGF ekspresyonunun düzenlenmesi, çeşitli hormonlar, büyüme faktörleri ve IL-6 gibi sitokinlere bağlıdır (39). VEGF, insan peritoneal membranında ekspresse edilebilir ve diyalizattaki fazlalığı, peritoneal membran geçirgenliği ve UF kaybı ile direk olarak korele bulunmuştur (66,67). İL-6 vasküler permeabiliteyi arttıran ve c-reaktif protein gibi akut faz yanıtı üretimini stimüle eden önemli bir inflamasyon mediatörüdür (90).

İL-6 ve solübl reseptörünün akut ve kronik inflamasyonda anahtar bir rol oynadığı ileri sürülmektedir (91,92). Peritoneal membranda ki çeşitli hücreler IL-6 sekrete eder (93). İL-6'nın plazma ve diyalizat konsantrasyonu artmış peritoneal solüt transport oranı ile ilişkili bulunmuştur (94). Tüm bu çalışmalar peritondaki kronik inflamasyonun, UF miktarı ile ilişkisini gözler önüne sermektedir.

Peritoneal fibrozis gelişiminde rolü olduğu savunulan faktörlerden biri de inflamatuvar sitokinlerden biri olan İL-1β'dır. İL-1β'nın fibroblastlardan kollajen tip 1, mezotel hücrelerinden ise kollajen tip 1'in yanı sıra fibronektin gibi ESM proteinlerinin sentezini arttırdığı ileri sürülmektedir (7). Peritoneal fibroze bağlı UF yetmezliği olan hastalarda, olmayanlara göre İL-1β düzeyinin çok daha fazla olduğu saptanmıştır. Peritonit atakları ve biyo-uyumlu olmayan diyaliz sıvıları, makrofaj ve mezotel hücrelerini uyarak İL-1β sentezini arttırmaktadır (95). İL-1β ayrıca TGF-β₁ sentezini de arttırmaktadır. Yapılan bir çalışmada, İL-1β uyarısıyla TGF-β₁ ve ESM sentezinin arttığı, ortama anti TGF-β₁ antikoru eklenmesiyle de fibrozisin kısmen gerilediği görülmüştür (75). Bu bulgular peritoneal fibrozis gelişmesinde, İL-1β'nın TGF-β₁ sentezini artırıcı etkisi dışında rolü olduğunu ortaya koymaktadır. Bizim sonuçlarımızda da, peritoneal inflamatuvar hücre infiltrasyonunun fazla olduğu, insülinle tedavi edilmeyen diyabetik guruplarda, tedavi edilen guruplardan daha az UF miktarları elde edildi.

Standart periton diyaliz solüsyonlarının, peritoneal değişiklik gelişmesinde rolü olduğuna dair, giderek artan deliller mevcuttur. Endotelyal ve mezotelyal hücrelerin yüksek glikoz içerikli sıvılara maruziyeti, VEGF (96,97) ve TGF-β (98,99) ekspresyonunu artırmaktadır. Peritoneal membranın yüksek glikoz konsantrasyonuna, in vivo kronik maruziyeti, sırasıyla VEGF ve TGF-β₁ aracılığıyla mikrovasküler proliferasyon ve submezotelyal fibroze neden olur (50,100). Glikozun sıcak sterilizasyonu ve periton diyaliz sıvılarının depolanması sırasında, *formaldehit*, *asetaldehit*, *glyoxal*, *methylglyoxal*, *3-deoxyglucosone* ve *3,4-dideoxyglucosone-3-ene* gibi glikoz degradasyon ürünleri oluşur (101). *Methylglyoxal* peritoneal mezotelyal ve endotelyal hücreler tarafından VEGF sentezini stimüle eder. Bu glikoz yıkım ürünlerinin, peritoneal membranda vasküler proliferasyona katkıda bulunduğunu gösterir (102). Glikoz ve *methylglyoxal*, *glyoxal* ve *3-deoxyglucosone* gibi reaktif karbonil bileşikler protein ya da lipidlerin serbest amino guruplarını non-enzimatik olarak bağlar ve geri dönüşümsüz ileri glikoz yıkım ürünleri oluşur. İleri glikoz yıkım ürünleri, in vitro ortamda birkaç hücre tipinden VEGF ekspresyonuna katkıda bulunur

(103,104). İleri glikoz yıkım ürünlerinin makrofaj kemotaksisini ve TNF- α , İL-1 ve PDGF salıverilmesini arttırdığı ileri sürülmektedir (105,106). Bu mediyatörler, vasküler düz kas hücrelerinde ekstraselüler matriks komponentlerini aktive ederek, vasküler duvarlarda şiddetli fibrozise yol açar. İleri glikoz yıkım ürünleri, tip IV kollajen (107) ve laminin (108) gibi bazal membran bileşenlerinde fonksiyonel ve yapısal değişiklikleri indükleyerek, etkilenen küçük damarlarda geçirgenlik artışına yol açabilir. Ayrıca bazal membran bileşenlerinde ileri glikoz yıkım ürünlerinin yaptığı değişiklikler sonucu, endotel kaynaklı potent bir vazodilatör ve proliferasyon önleyici faktör olan endotelyal NO inaktive edilebilir ve bu da diyabetik hastalarda vasküler ve renal hasarın ilerlemesine sebep olur (109).

Bizim çalışmamızda, diyabetik sıçanlardan intraperitoneal ringer laktat uygulanan grupta peritoneal morfolojik değişiklikler diyabetik kontrol gurubuna göre daha belirgindi. Bu, ringer laktat solüsyonunun da, olasılıkla içerdiği laktattan dolayı, periton membranı için nonfizyolojik olduğunu göstermektedir. Ringer laktat solüsyonunun yaptığı bu değişiklikte hergün tekrarlayan intraperitoneal enjeksiyonların yarattığı stresinde rolü olabilir.

Sonuç olarak; diyabet, peritoneal membranda, UF yetersizliği gibi fonksiyonel ve kalınlık, inflamasyon, fibrozis ve yeni damar oluşumlarında artış gibi yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Bu değişikliklerden, UF yetersizliği, inflamasyon ve fibrozis, kronik insülin tedavisiyle glisemik kontrol sağlandığında kısmen düzeltilebilmektedir. Düzeltme, insülin, subkutan yolla uygulandığında intraperitoneal uygulamaya göre daha fazla olmaktadır. İnsülin verilen sıçanlarda, peritoneal membran kalınlığının ve yeni damar oluşumlarının diyabetik sıçanlardan daha fazla olması, olasılıkla insülinin peritoneal membranda TGF- β ve VEGF gibi büyüme faktörlerinin sentezini artırmasıyla ilişkilidir. Bu nedenlerle, periton diyalizi uygulanan hastalarda peritoneal membranın korunması için glisemik kontrolün iyi yapılması ve insülin uygulamasında subkutan yolun tercih edilmesi gerekmektedir.

8.KAYNAKLAR

1. Gillerot G, Goffin E, Michel C, Evenepoel P, Biesen WV, Tintillier M, et al. Genetic and clinical factors influence the baseline permeability of the peritoneal membrane. *Kidney Int* 2005; Vol. 67: 2477-87.
2. Sorkin MI, Diaz-Buxo JA. *Handbook of Dialysis*. 1994; 245-61.
3. Rubin J, Herrera GA, Collins D. An autopsy study of the peritoneal cavity from patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1991; 18: 97-102,
4. Fracasso A, Baggio B, Ossi E, Prete DD, Bonfante L, Bazzato G, Gambaro G. Glycosaminoglycans prevent the functional and morphological peritoneal derangement in an experimental model of peritoneal fibrosis. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 105-10.
5. Honda K, Nitta K, Horita S, Yumura W, Nihei H, Nagai R, Ikeda K, Horiuchi S. Accumulation of advanced glycation end products in the peritoneal vasculature of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with low ultrafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1541- 9.
6. Struijk DG, Douma CE. Future research in peritoneal dialysis fluids. *Semin Dial* 1998; 11: 207 – 12.
7. Chaimovitz C. Peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1994; 45: 1226-40.
8. Dobbie JV. Pathogenesis of peritoneal fibrosing syndromes (sclerosing peritonitis) in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1992; 12: 14-27.
9. Zweers MM, de Waart DR, Smit W, Struijk DG, Krediet RT. Growth factors VEGF and TGF- β in peritoneal dialysis. *J Lab Clin Med* 1999; 134(2): 124-32.
10. Pecoits-Filho R, Araujo MR, Lindholm B, Stenvinkel P, Abensur H, Romao JE Jr et al. Plasma and dialysate IL-6 and VEGF concentrations are associated with high peritoneal solute transport rate. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 (8): 1480-6.

11. Khanna R, Oreopoulos DG. Peritoneal dialysis in diabetic end stage renal disease. *J Diabetic Compl* 1989; 3: 12–7
12. Selam J-L, Raccach D, Jean-Didier N, Lozano JL, Waxman K, Charles MA. et al. Randomized comparison of metabolic control achieved by intraperitoneal insulin infusion with implantable pumps versus intensive subcutaneous insulin therapy in type I diabetic patients. *Diabetes Care* 1992; 15(1):53-8.
13. Morrissey K, Evans RA, Wakefield L, Philips AO. Translational regulation of renal proximal tubular epithelial cell transforming growth factor β_1 generation by insulin. *Am J Pathol.* 2001; 159(5):1905-15.
14. Miele C, Rochford JJ, Filippa N, Giorgetti-Peraldi S, Van Obberghen E. Insulin and IGF-1 induce vascular endothelial growth factor mRNA expression via different signaling pathways. *J Biol Chem.* 2000; 14;275(28):21695 – 702.
15. Dobbie JW: Ultrastructure and pathology of the peritoneum in peritoneal dialysis in *The Textbook of Peritoneal Dialysis*, Ed by Gokal R, Nolph KD. The Netherlands, Kluwer Academic Publisher 1994; 17-42.
16. Burkat JM, Nolph KD: Peritoneal dialysis in *The Kidney* (vol 2), Ed by Brenner BM, Philadelphia, Harcourt Brace and Company, 1996; 2507-60.
17. Nagy JA, Jackman RW: Anatomy and physiology of the peritoneal membrane. *Semin Dial* 1998; 11: 49-56.
18. Nagy JA: Peritoneal membrane morphology and function. *Kidney Int* 1996; 50 (Suppl 56): 2-11.
19. Jörres A, Ludat K, Sander K, Dunkel K, Lorenz F, Kesk H, Frei U, Gahl GM: The peritoneal fibroblast and the control of peritoneal inflammation. *Kidney Int* 1996; 50: 22-7.
20. Beavis MJ, Williams JD, Hoppe J, Toplet N: Human peritoneal fibroblast proliferation in 3-dimensional culture: Modulation by sitokines, growth factors and peritoneal dialysis effluent. *Kidney Int* 1997; 51: 205-15.

21. Rubin J, Jones Q, Planch A, Stanek K: Systems of membranes involved in peritoneal dialysis. *J Lab Clin Med* 110: 1987; 448-53.
22. Rippe B, Krediet RT: Peritoneal physiology–Transport of solutes, in Gokal R, Nolph K (eds): *The Textbook of Peritoneal Dialysis*. The Netherlands, Kluwer, Dordrecht, 1994; 69-115.
23. Wang T, Waniewski J, Heimbürger O, Werynski A, Lindholm B: A quantitative analysis of sodium transport and removal during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1997; 52: 1609-16.
24. John Burkart. Metabolic consequences of peritoneal dialysis. *Semin Dial* 2004; 17(6): 498-504.
25. Krediet RT, Ho-Dac-Pannekeet MM, Struijk DG: Preservation of peritoneal membrane function. *Kidney Int* 1996; 50: 62-68.
26. Khanna R: Applied peritoneal physiology. *Semin Dial* 1999; 12: 32-37.
27. Akiba T, Ota T, Fushimi K, Tamura H, Hata T, Sasaki S, Marumo F. Water channel AQP1, 3, and 4 in the human peritoneum and peritoneal dialysate. *Adv Perit Dial* 1997; 13: 3-6.
28. Devuyst O, Nielsen S, Cosyns JP, Smith BL, Agre P, Squifflet JP et al. Aquaporin-1 and endothelial nitric oxide synthase expression in capillary endothelia of human peritoneum. *Am J Physiol* 1998 Jul; 275: 234-42.
29. Pannekeet MM, Mulder JB, Weening JJ, Struijk DG, Zweers MM, Krediet RT: Demonstration of aquaporin-CHIP in peritoneal tissue of uremic and CAPD patients. *Perit Dial Int* 1996; 16: 54-7.
30. Shetty A, Oreopoulos DG: Ultrafiltration failure in CAPD. *J Postgrad Med* 1994; 40: 185-93.
31. Krediet RT: The peritoneal membrane in chronic peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1999; 55: 341-56.

32. Border WA, Noble NA. TGF β in kidney fibrosis: A target for gene therapy. *Kidney Int* 1997; 51: 1388-96.
33. Nakayama M, Kawaguchi Y, Yamada K, Hasegawa T, Takazoe K, Katoh N et al. Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end-products in the peritoneum and its possible pathophysiological role in CAPD. *Kidney Int* 1997; 51: 182-6.
34. Park MS, Lee HA, Chu WS, Yang DH, Hwang SD: Peritoneal accumulation of AGE and peritoneal membrane permeability. *Perit Dial Int* 2000; 20: 452-60.
35. Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, Stern D: Activation of receptor for advanced glycation end products: a mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res* 1999; 84: 489-97.
36. Viberti GC: Increased capillary permeability in diabetes mellitus and its relationship to microvascular angiopathy. *Am J Med* 1983; 75: 81-4.
37. Shami SK, Chittenden SJ: Microangiopathy in diabetes mellitus: II. Features, complications and investigation. *Diabetes Res* 1991; 17: 157-68.
38. Adler S: Structure-function relationships associated with extracellular matrix alterations in diabetic glomerulopathy. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5: 1165-72.
39. Ferrara N: Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int* 1999; 56: 794-814.
40. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z: Vascular endothelial growth factor and its receptors. *FASEB J* 1999; 13: 9-22.
41. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF: Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219: 983-5.
42. Honda K, Nitta K, Horita S, Yumura W, Nihei H. Morphological changes in the peritoneal vasculature of patients on CAPD with ultrafiltration failure. *Nephron* 1996; 72: 171-6.

43. Diaz-Buxo JA: Peritoneal dialysis prescriptions for diabetic patients. *Adv Perit Dial* 1999; 15: 91-5.
44. Nevalainen P, Lahtela JT, Mustonen J and Pasternack A: The influence of peritoneal dialysis and the use of subcutaneous and intraperitoneal insulin on glucose metabolism and serum lipids in type 1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 145-50
45. United States Renal Data System 1998 Annual Data Report: Patient mortality and survival. *Am J Kidney Dis* 1998; 69–80,
46. Misra R, Khanna R: Peritoneal dialysis in diabetic end-stage renal disease, in *The Textbook of Peritoneal Dialysis*, Ed by Gokal R, Khanna R, Krediet RT, Nolph KD, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2000; 647–65.
47. Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813–20.
48. Marsden PA, Bitzan M, Abraham A: Reactive nitrogen and oxygen intermediates and the kidney, in *The Kidney*, Ed by Brenner BM, Philadelphia, WB Saunders Company, 2000; 701–55.
49. Combet S, Miyata T, Moulin P, Pouthier D, Goffin E, Devuyst O. et al: Vascular proliferation and enhanced expression of endothelial nitric oxide synthase in human peritoneum exposed to long-term peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11(4):717–28.
50. 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* 2001; 12: 1734–41.
51. Miyata T, Devuyst O, Kurokawa K, Van Ypersele de Strihou C: Advances in the pathophysiology of the peritoneal membrane: New therapeutic insights into more compatible peritoneal dialysis (*Perspectives in Renal Medicine*). *Kidney Int* 2002; 61: 375–86.
52. Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, Yang Z, Skolnik E, Delaney V et al: Advanced

- glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1991 Sep 19; 325(12): 836-42.
53. Dyer DG, Dunn JA, Thorpe SR, Bailie KE, Lyons TJ, McCance DR, Baynes JW et al: Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging. *J Clin Invest* 1993; 91(6): 2463-9.
 54. Nakamura Y, Horii Y, Nishino T, Shiiki H, Sakaguchi Y, Kagoshima T, et al. Immunohistochemical localization of advanced glycosylation end products in coronary atheroma and cardiac tissue in diabetes mellitus. *Am J Pathol* 1993; 143(6):1649-65.
 55. Nishino T, Horii Y, Shiiki H, Yamamoto H, Makita Z, Bucala R, Dohi K. Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end products within the vascular lesions and glomeruli in diabetic nephropathy. *Hum Pathol* 1995; 26(3): 308-13.
 56. Miyata T. New aspects in the pathogenesis of dialysis-related amyloidosis: Pathophysiology of advanced glycation end products in renal failure. *Nippon Jinzo Gakkai Shi*. 1996; 38(5):191-7.
 57. Yamada K, Miyahara Y, Hamaguchi K, Nakayama M, Nakano H, Nozaki O, et al. Immunohistochemical study of human advanced end products (AGE) in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1994; 42(6): 354-61.
 58. Stoenoiu MS, De Vriese AS, Brouet A, Moulin P, Feron O, Lameire N, Devuyst O, et al: Experimental diabetes induces functional and structural changes in the peritoneum. *Kidney Int* 2002;62 (2) 668-78.
 59. Selgas R, Fernandez-Reyes MJ, Bosque E, Bajo MA, Borrego F, Jimenez C, et al. Functional longevity of the human peritoneum: how long is continuous peritoneal dialysis possible? *Am J Kidney Dis* 1994; 23(1): 64–73.
 60. Lamb EJ, Worrall J, Buhler R, Harwood S, Cattell WR, Dawney AB, et al. Effect of diabetes and peritonitis on the peritoneal equilibration test. *Kidney Int* 1995; 47(6):1760–7.
 61. Serlie MJ, Struijk DG, de Blok K, Krediet RT: Differences in fluid and solute transport

- between diabetic and nondiabetic patients at the onset of CAPD. *Adv Perit Dial* 1997; 13: 29–32.
62. Rubin J, Nolph K, Arfania D, Brown P, Moore H, Rust P, et al: Influence of patient characteristics on peritoneal clearances. *Nephron* 1981; 27(3): 118–21.
 63. Krediet RT: The physiology of peritoneal solute transport and ultrafiltration, in *The Textbook of Peritoneal Dialysis*, Ed by Gokal R, Khanna R, Krediet RT, Nolph KD, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2000; 135–72
 64. De Vriese AS, Mortier S, Lameire NH: What happens to the peritoneal membran in long-term peritoneal dialysis? *Perit Dial Int* 2001; 21: S9-S18.
 65. Wieczorowska-Tobis K, Breborowicz A, Witowski J, Martis L, Oreopoulos DG. Effect of vitamin E on peroxidation and permeability of the peritoneum. *J Physiol Pharmacol* 1996; 47: 535-43.
 66. Ha H, Lee HB. Effect of high glucose on peritoneal mesothelial cell biology. *Perit Dial Int* 2000; 20: 15-8.
 67. Miyata T, Izuhara Y, Sakai H, Kurokawa K. Carbonyl stress: Increased carbonyl modification of tissue and cellular proteins in uremia. *Perit Dial Int* 1999; 19: 58-61.
 68. Maulik N, Das DK. Redox signaling in vascular angiogenesis. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1047-60.
 69. Park SH, Choi HJ, Lee JH, Woo CH, Kim JH, Han HJ. High glucose inhibits renal proximal tubule cell proliferation and involves PKC, oxidative stress and TGF-beta-1. *Kidney Int* 2001; 59: 1695-705.
 70. Noble NA, Border WA: Anjiotensin II in renal fibrosis: should TGF- β rather than blood pressure be therapeutic target? *Semin Nephrol* 1997; 17: 455-6,
 71. Klagsbrun M, D'AmoreP.A: Regulators of angiogenesis. *Annu Rev Physiol* 1991; 53, 217-39
 72. Di Paolo N, Sacchi G: Peritoneal vascular changes in continuous ambulatory peritoneal

- dialysis (CAPD): An in vivo model for the study of diabetic microangiopathy. *Perit Dial Int* 1989; 9: 41-5.
73. Dobbie JW, Lloyd JK, Gall CA: Categorization of ultrastructural changes in peritoneal mesothelium, stroma and blood vessels in uremia and CAPD patients. *Adv Perit Dial* 1990; 16: 3-12.
 74. Mateijsen MA, van der Wal AC, Hendriks PM, Zweers MM, Mulder J, Struijk DG, Krediet RT: Vascular and interstitial changes in the peritoneum of CAPD patients with peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int* 1999; 19: 517-25.
 75. Offner FA, Feichtinger H, Stadlman S, Obrist P, Marth C, Klinger P: Transforming growth factor β synthesis by human peritoneal mesothelial cells. *Am J Pathol* 1996; 148: 1679-88.
 76. Firestein GS. Starving the synovium: angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1999; 103(1): 3-4.
 77. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J. Natl Cancer Inst* 1990; 82(1): 4-6.
 78. Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin. Cancer Biol.* 1992; 3(2); 65-71.
 79. Folkman J, Shing Y. Control of angiogenesis by heparin and other sulfated polysaccharides. *Adv Exp Med Biol.* 1992; 313: 355-64.
 80. Thomas KA. Vascular endothelial growth factor, a potent and selective angiogenic agent. *J. Biol. Chem.* 1996; 271(2), 603-6.
 81. Ferrara N, Houck K, Jakeman L, Leung D.W. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocr Rev* 1992; 13(1), 18-32.
 82. Li J, Perrella MA, Tsai JC, Yet SF, Hsieh CM, Yoshizumi M, et al. Induction of vascular endothelial growth factor gene expression by interleukin-1 β in rat aortic smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 1995; 270(1): 308-12.

83. Brogi E, Wu T, Namiki A, Isner JM. Indirect angiogenic cytokines upregulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, whereas hypoxia upregulates VEGF expression only. *Circulation* . 1994; 90(2), 649–52.
84. Warren RS, Yuan H, Matli M R, Ferrara N, Donner DB. Induction of vascular endothelial growth factor by insulin-like growth factor 1 in colorectal carcinoma. *J. Biol. Chem.* 1996; 15; 271(46): 29483–8.
85. Goad DL, Rubin J, Wang H, Tashjian AH Jr, Patterson C. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor in human SaOS-2 osteoblast-like cells and murine osteoblasts induced by insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 1996; 137(6): 2262–8.
86. Punglia RS, Lu M, Hsu J, Kuroki M, Tolentino MJ, Keough K, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor expression by insulin-like growth factor I. *Diabetes* 1997; 46(10): 1619–26.
87. Margetts P, Churchill DN: Acquired ultrafiltration dysfunction in peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(11):2787-94.
88. Gillerot G, Devuyst O. Molecular mechanisms modifying the peritoneal membrane exposed to peritoneal dialysis. *Clin Nephrol* 2003; 60(1):1-6.
89. Miyata T, Devuyst O, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C: Toward better dialysis compatibility: Advances in the biochemistry and pathophysiology of the peritoneal membranes. *Kidney Int* 2002; 61(2):375-86.
90. Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T: The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthr Res* 2002; 4: 233-42.
91. Hurst SM, Wilkinson TS, McLoughlin RM, Jones S, Horiuchi S, Yamamoto N, et al: IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leucocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity* 2001; 14(6): 705-14.
92. Jones SA, Horiuchi S, Topley N, Yamamoto N, Fuller GM. The soluble interleukin 6 receptor: Mechanism of production and implications in disease. *FASEB J* 2001;

15(1):43-58.

93. Jorres A, Ludat K, Lang J, Sander K, Gahl GM, Frei U, et al. Establishment and functional characterization of human peritoneal fibroblasts in culture: regulation of interleukin-6 production by proinflammatory cytokines. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7(10):2192-201.
94. Pecoits-Filho R, Araujo MR, Lindholm B, Stenvinkel P, Abensur H, Romao JE Jr, et al. Plasma and dialysate IL-6 and VEGF concentrations are associated with high solute transport rate. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17(8):1480-6.
95. Yang WS, Kim BS, Lee SK, Park JS, Kim SB: Interleukin-1 β stimulates the production of extracellular matrix in cultured human peritoneal mesothelial cells. *Perit Dial Int* 1999; 19(3): 211-20.
96. Seo MJ, Oh SJ, Kim SI, Cho KW, Jo I, Schaub T, et al: High glucose dialysis solutions increase synthesis of vascular endothelial growth factors by peritoneal vascular endothelial cells. *Perit Dial Int* 2001; 21: 35-40.
97. Ha H, Cha MK, Choi HN, Lee HB: Effects of peritoneal dialysis solutions on the secretion of growth factors and extracellular matrix proteins by human peritoneal mesothelial cells. *Perit Dial Int* 2002; 22(2):171-7.
98. Kang DH, Hong YS, Lim HJ, Choi JH, Han DS, Yoon KI. High glucose dialysis solution and spent dialysate stimulate the synthesis of transforming growth factor beta 1 of human peritoneal mesothelial cells: effect of cytokine costimulation. *Perit Dial Int* 1999; 19(3):221-30.
99. Ha H, Yu MR, Lee HB: High glucose-induced PKC activation mediates TGF-beta 1 and fibronectin synthesis by peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int* 2001; 59(7): 463-70.
100. De Vriese AS, Flyvbjerg A, Mortier S, Tilton SG, Lameire NH, et al: Inhibition of the interaction of AGE-RAGE prevents hyperglycemia-induced fibrosis of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(8): 2109-18.
101. Linden T, Cohen A, Deppisch R, Kjellstrand P, Wieslander A, et al: 3,4-

Dideoxyglucosone-3-ene (3,4-DGE): a cytotoxic glucose degradation product in fluids for peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2002; 62(2): 697-703.

102. Inagi R, Miyata T, Yamamoto T, Suzuki D, Urakami K, Saito A, et al: Glucose degradation product methylglyoxal enhances the production of vascular endothelial growth factor in peritoneal cells. Role in the functional and morphological alterations of peritoneal membranes in peritoneal dialysis. *FEBS Lett* 1999 17; 463(3): 260-4.
103. Murata T, Nagai R, Ishibashi T, Inomuta H, Ikeda K, Horiuchi S. The relationship between accumulation of advanced glycation end products and expression of vascular endothelial growth factor in human diabetic retinas. *Diabetologia* 1997; 40(7):764-9.
104. Lu M, Kuroki M, Amano S, Tolentino M, Keough K, Kim I, et al: Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. *J Clin Invest* 1998;101(6): 1219-24.
105. Vlassara H, Brownlee M, Manogue KR, Dinarello CA, Pasagian A. Cachectine/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science* 1988; 240: 1546-48.
106. Kristein M, Brett J, Radoff S, Ogawa S, Stern D, Vlassara H. Advanced protein glycosylation induces transendothelial human monocyte chemotaxis and secretion of platelet-derived growth factor: Role vascular disease of diabetes and aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 9010-14.
107. Tsilibary EC, Charonis AS, Reger LA, Wohlheuter RM, Furcht LT. The effect of glycosylation on the binding of the main noncollagenous NCI domain to type IV collagen. *J Biol Chem* 1988; 263: 4302-08.
108. Charonis AS, Reger LA, Dege JE, Kouzi-Koliakos K, Furcht LT, Wohlhueter RM, Tsilibary EC. Laminin alterations after in vitro nonenzymatic glycosylation. *Diabetes* 1990; 39(7): 807-14.
109. Hogan M, Cerami A, Bucala R. Advanced glycosylation end products block the antiproliferative effect of nitric oxide; Role in the vascular and renal complications of diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1992; 90: 1110-15.

9.ÖZGEÇMİŞ

Temmuz-1972’de Kahramanmaraş ili Elbistan ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi 1990’da Elbistan’da tamamladım. Aynı yıl Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesine başladım. 1997 yılında tıp eğitimimi tamamladım. Eylül 1997-Ocak 2001 tarihleri arası Gümüşhane ili Kelkit ilçesi Devlet Hastanesi Acil Servisinde, Ocak 2001-Ağustos 2001 tarihleri arası Elbistan ilçesi Karamağara Köyü Sağlık Ocağında pratisyen hekim olarak çalıştım. Ağustos 2001’den beri Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD’da araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.