



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**PARSİYEL / TOTAL NEFREKTOMİ YAPILAN
SIÇANLARDA İPSİLATERAL VE
KONTRALATERAL BÖBREKTEKİ KÖK HÜCRE
REZERVİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Songül ARABUL AYDOĞDU

Antalya, 2016



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**PARSİYEL / TOTAL NEFREKTOMİ YAPILAN
SIÇANLARDA İPSİLATERAL VE
KONTRALATERAL BÖBREKTEKİ KÖK HÜCRE
REZERVİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Songül ARABUL AYDOĞDU

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Mustafa MELİKOĞLU

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2016

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2016-1555 numaralı proje no ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzun süren eğitim ve öğretim hayatı sonunda çocukluk hayalim olan hekimlik mesleğinin öğrenilmesinde ara basamaklarından biri olan tıpta uzmanlık eğitimimin sonuna gelmiş bulunuyorum. Mesleğimde ilerlemek ve başarılı olup, hastalarima faydalı olmak için önümde beni bekleyen ve üstesinden gelmem gereken birçok engel olduğunun farkındayım.

Uzmanlık eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek aldığım, yanında çalışmaktan onur duyduğum, tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü, sabır ve babacanlığından dolayı ve ayrıca tezimin konusunun belirlenmesinde, araştırma aşamasında, yön tayininde ve tamamlanmasında destek olan değerli hocam ve tez danışmanım Prof.Dr. Mustafa Melikoğlu'na, uzmanlık eğitimim boyunca bana evlatları gibi davranıp bilgi ve ilgilerini eksik etmeyen Prof.Dr. Güngör Karagüzel ve Yrd.Doç.Dr. Cem Boneval'e, farklı branşta olsa da hiçbir ricamı geri çevirmeyen, anlayışıyla her zaman yardımcı olan Prof.Dr. Zeki Ertuğ'a, tezimin her aşamasında sabırla benden yardımlarını esirgemeyen ve destek olan Prof.Dr. Necdet Demir'e şükranlarımı iletmek istiyorum.

Ayrıca, uzmanlık eğitimime başladığım günden bitirene kadar her konuda yanımda olan tüm asistan, sekreter, hemşire ve personel arkadaşlarıma, ne yazarsam yazayım asla onlara olan minnet borcumu ödeyemeyeceğim canımın parçaları annem ve babama, varlıklarından asla vazgeçemeyeceğim ve hep iyi ki varsınız diyeceğim canım kardeşlerime, eşime ve ömrümün tek sahibi bir tanecik kızım Mihrimah Sultan'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
Tablolar Dizini	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Böbrek Anatomisi	3
2.1.1. Makroskopik yapısı	3
2.1.2. Fonksiyonel yapısı	4
2.1.3. Damarları	6
2.1.4. Lenfatikleri	8
2.1.5. Sinirleri	8
2.2. Böbrek Embriyolojisi	9
2.3. Nefrektomi Teknikleri	13
2.4. Nefrektomi Endikasyonları	14
2.5. Kök Hücreler	15
2.5.1. Kök hücrenin tarihçesi	15
2.5.2. Kök hücrelerin tanımı	19
2.5.3. Kök hücrelerin genel özellikleri	20
2.5.4. Kök hücre tipleri	21
2.5.5. Böbrek kök hücre rezervinin belirlenmesi	23
2.6. Sıçan Böbreği	24
2.6.1. Anatomisi	24
2.7. Nefrektomi Modelleri	25
2.7.1. Cerrahi modeller	25
2.7.2. Toksik modeller	25

3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Deneyisel Model	26
3.2. Deney Grupları	26
3.3. Cerrahi İşlemler	27
3.4. Histolojik Değerlendirme	31
3.4.1. İmmünohistokimya protokolü	31
3.4.2. Çiftli immünofloresan protokolü	32
3.5. Biyokimyasal Değerlendirme	32
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	32
4. BULGULAR	33
4.1. Morfolojik Değerlendirme	33
4.2. Biyokimyasal Değerlendirme	34
4.3. Proliferasyon (Ki67) ve Kök Hücre Belirteçleri (CD90-CD150) Bulguları	36
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇLAR	48
7. ÖZET	50
8. ABSTRACT	52
9. KAYNAKLAR	54

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

APN	Açık Parsiyel Nefrektomi
BrdU	5-Bromo-2-Deoxyuridine
BUN	Kan Üre Azotu
EKH	Embriyonik kök hücreler
H₂B-GFP	Histone2b-Green Floresan Füzyon Proteini
HKH	Hematopoetik Kök Hücreler
iPS	Uyarılmış Pluripotent Kök Hücre
IPSCs	İndüklenmiş Pluripotent Hücre
LRC	Label Retaining Cell
MKH	Mezenkimal kök hücreler
PAN	Puromisin Aminonükleosid
PN	Parsiyel Nefrektomi
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TTNx	Tek Taraflı Total Nefrektomi

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Böbreğin anatomik yapısı	3
2.2. Glomerulus, Bowman kapsülü, henle kulpu fonksiyonel ve histolojik yapısı	5
2.3. Böbreğin damarlanması	7
2.4. Pronefroz, mezonefroz ve metanefroz	9
2.5. Beşinci hafta sonunda sonbarsak ve kloaka arasındaki ilişki	10
2.6. Renal pelvis, kaliksler ve metanefrozun toplayıcı kanallarının gelişimi	11
2.7. Metanefrik boşaltım biriminin gelişimi	12
2.8. Kök hücreler unipotent ya da multipotent özellik gösterebilir	20
2.9. Kök hücre farklılaşması	21
2.10. Embriyonik kök hücre	21
2.11. Uyarılmış pluripotent kök hücreler (iPS)	22
2.12. Mezenkimal kök hücreler	23
3.1. Deney hayvanlarının karın bölgesinin hazırlanması ve laparotomi yapılması	29
3.2. Sol böbrek arter dallanması	29
3.3. a) Sağ böbrek pedikülünün (*) penset yardımıyla askıya alınması ve b) 6/0 vicryl (*) ile bağlanması – TTNx intraoperatif görünüm, c) TTNx postoperatif 2. ay böbreğin görünümü	30
3.4. a. Sol böbreğin anterior polar dallarından birinin ligasyonu 1/3 Nx sonrası beslenmesi bozulan alt pol (*) intraoperatif görünüm, b. 1/3 Nx ipsilateral (*) ve kontralateral (*) postoperatif 2. ay böbreğin görünümü	30

3.5.	a. Sol böbreğin kranial ve kaudal dallarından birinin ligasyonu (5/6 Nx) sonrasında beslenmesi bozulan alt ve üst pol(*) intraoperatif görünüm, b. 5/6 Nxpostoperatif 2. ay böbreğin görünümü.	30
3.6.	a. Cerrahi eksanguinasyon yöntemi ile abdominal aortadan (↘) kan alınması, b. Eksanguinasyon sonrasında kalp ventrikülüne (*) yerleştirilen paraformaldehid içeren enjektör ile tüm vücut perfüzyonu yapılması	31
4.1.	Üç haftalık sıçanlarda nefrektomi sonrası 15. günde Ki67 ve CD90-105 boyanmaları	36
4.2.	Üç haftalık sıçanlarda nefrektomi sonrası 30. günde Ki67 ve CD90-105 boyanmaları	37
4.3.	Üç haftalık sıçanlarda nefrektomi sonrası 60. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 (yeşil oklar) ve kök hücre belirteçleri CD90 (kırmızı oklar), CD105 (yeşil oklar) immunofloresan boyamaları görülmektedir. CD90-105 belirteçleri her ikisinin de boyandığı kök hücreler (turuncu oklar)	38
4.4.	Sekiz haftalık ergin sıçanlarda nefrektomi sonrası 15. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 (yeşil oklar) ve kök hücre belirteçleri CD90 (kırmızı oklar), CD90-105 kök hücre boyanma (turuncu oklar) örnekleri	39
4.5.	Sekiz haftalık ergin sıçanlarda nefrektomi sonrası 30. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 (yeşil oklar) ve kök hücre belirteçleri CD90 (kırmızı oklar), CD90-105 boyanan kök hücreler (turuncu)	39
4.6.	Sekiz haftalık ergin sıçanlarda nefrektomi sonrası 60. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 (yeşil oklar) ve kök hücre belirteçleri CD90 (kırmızı), CD105 (yeşil) immunofloresan boyanmaları, CD90-105 pozitif hücreler (turuncu oklar)	40
4.7.	Gruplara uygulanan Ki67, CD90, CD105 immunflorens boyamalarının negatif boyamaları	40

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Deney grupları	27
4.1. Deney gruplarının ağırlık postoperatif ağırlık artışları	34
4.2. Tüm deney gruplarının BUN ve kreatinin değerleri	34
4.3. Üç haftalık yavru sıçanların biyokimya parametreleri	35
4.4. Sekiz haftalık ergin genç sıçanların biyokimya parametreleri	35

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kronik böbrek hastalığı tüm dünyadaki mortalitenin (%8) ve morbiditenin (%16) önemli bir sebebini oluşturmaktadır (1). Böbrek yetmezliği, ilerleyici ve geri dönüşümsüz nefron kaybına bağlı ortaya çıkan yıkıcı bir hastalıktır. Diyaliz, son dönem böbrek hastalığı gelişen hastalarda her ne kadar yaşam sürelerini uzatmasına yardımcı olsa da, bu sadece geçici bir çözümdür ve böbrek fonksiyonlarının geri kazanılmasına yardımcı olmaz. Kesin tedavi yöntemi allojenik böbrek transplantasyonu olmasına rağmen, donör böbrek bulunmasındaki sıkıntılar ve immun sisteme bağlı komplikasyonlar nedeniyle bu tedavi yöntemi de sınırlı bir hale gelmektedir. Kronik böbrek hastalığının insidansı artmasına karşın tedavi seçenekleri sınırlı kalmaktadır. Bu nedenle sağlam böbrek dokusunun mümkün olduğunca korunması, ilerleyen dönemde ortaya çıkabilecek böbrek yetmezlik tablosunun azaltılması için yaşamsal önem taşımaktadır.

Parsiyel nefrektomi, bazı böbrek tümörlerinin veya çift toplayıcı sistem anomalilerinin tedavisinde güvenle uygulanmaktadır. Ayrıca böbrek fonksiyonlarının korunmasında ve olası kronik böbrek hastalıklarının ortaya çıkmasını önlemede radikal nefrektomiye üstünlük sağlamaktadır. Bu nedenle seçilmiş olgularda radikal nefrektomiye göre tercih edilir hale gelmiştir (2-7). Literatürde parsiyel nefrektominin 1/3, 2/3, 5/6 gibi farklı oranlarda yapılan birçok modeli bulunmaktadır. Bu modeller ile böbrekteki doku kaybının akut ve kronik dönemdeki sonuçları histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak ortaya konmuştur. 1975 yılında *Schimamura ve ark* (8) parsiyel nefrektominin, ipsilateral böbrekte erken dönemde proliferatif değişikliklere neden olduğunu, ancak postoperatif 55. haftada skleroza bağlı böbreğin fonksiyonunu kaybettiği gösterilmiştir. Nefrektomi sonrasında kaybedilen doku, kompanzatuvar mekanizmaları tetikleyerek vücudun bu kayıba adapte olmasına yardımcı olur. Böbrekte bu kompanzasyon mekanizmaları ile tubüler, glomeruler ve vasküler dokularda hipertrofik değişiklikler olur. Böylece kayıp renal dokuya rağmen böbrek fonksiyon göstermeye devam eder. Ancak bu adaptif değişiklikler rejeneratif değildir ve zaman içerisinde tubüler atrofi,

podositlerin azalması, ekstrasellüler matrikste artış, glomeruler hyalinizasyon ve son olarak skleroza gidiş şeklinde olmaktadır. Sklerotik değişikliklere hasarlanmış dokulardaki mitokondri birikimi de eşlik eder. *Fedovara ve ark. (9)* tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışmada 5/6 nefrektomi sonrasında disfonksiyonel mitokondri birikiminin, hücre ölüm mekanizmalarını aktive ederek kronik böbrek hastalığının ortaya çıkmasına yardımcı olan etmenlerden birini oluşturduğunu gösterilmiştir.

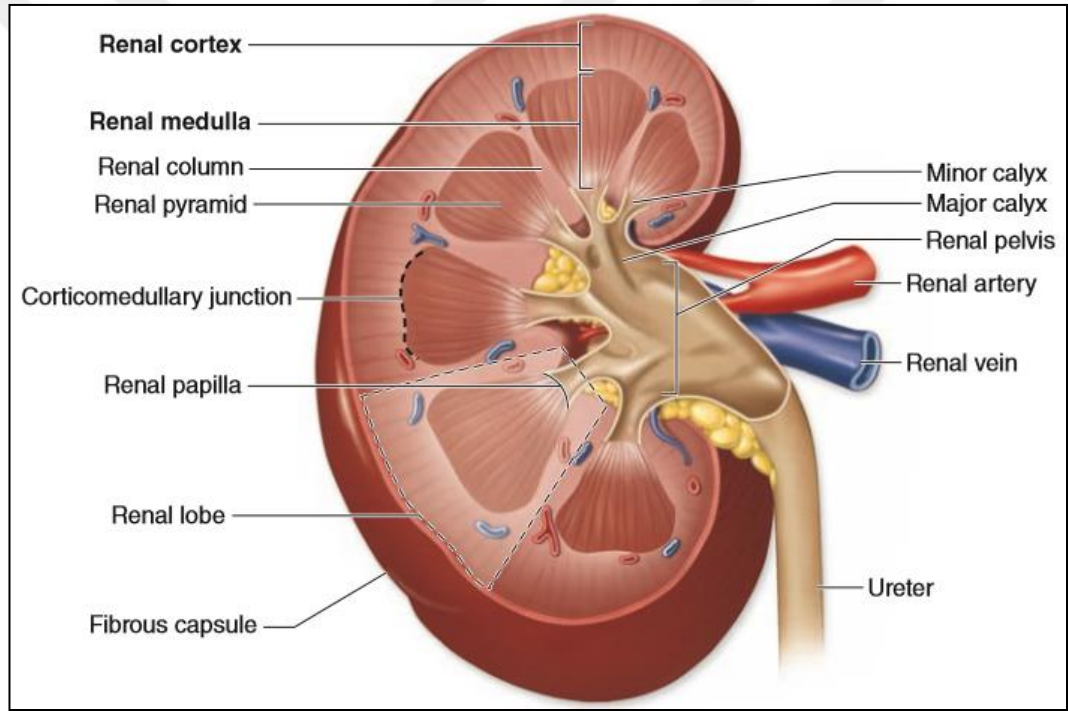
Tüm bunların sebebinin memelilerde böbreğin rejeneratif potansiyelinin sınırlı olduğunun düşünülmesidir. Çünkü nefron gelişimi doğumda ya da erken postnatal dönemde sonlanır (10). Doğum sonrasında adaptasyon vasküler yapılarda proliferasyon, tubüler epitelde büyüme ile kendini gösterir. Glomerül kayıpları rejenerasyon ile geri döndürülemeyeceğinden, glomerul kaybı nefron kaybına, dolayısıyla böbreğin kaybedilmesine neden olur. Tıbbi mühendisliğin gelişmesi ile yeni törapatik yöntemlerin bulunmasına yönelik çalışmalar başlanmıştır. İnsan ya da hayvan kök hücreleri toplanarak, parsiyel nefrektomi yapılan ratlara intravenöz yoldan verilerek hem yara iyileşmesine destek olduğu hem de kalan böbrekte adaptif değişiklikleri arttırıcı olabileceği gösterilmiştir. 2007 yılında *Sang-Soo Kim ve ark. (11)* farklı gestasyonel haftalarda (14,5 - 20,5 hafta) metanefrondan izole edilen fetal hücreleri, parsiyel nefrektomi yapıldıktan sonra intravenöz vermişler. Üç hafta sonra değerlendirildiğinde böbrek doku rejenerasyonun gerçekleşmiş olduğu görmüştür. Bir diğer çalışmada deterjan perfüzyonu ile desellülarize hale getirilen böbrek, parsiyel nefrektomi yapılan böbreğe nakledilmiş ve bu dokunun böbreğin rejeneratif markerlarını uyardığı (nestin, aquaporin-1 gibi) gösterilmiştir (12). Ancak bu uyarılmanın mekanizması henüz anlaşılamamıştır. Parsiyel nefrektomi sonrası gözlenen kompensasyonun böbreğin kendi kök hücre rezervinden proliferatif aktiviteye bağlı olarak destek alıp almadığı konusu tam olarak cevaplanmış değildir. Bu bağlamda planlanan bu çalışmada böbrekteki adaptasyon mekanizmasını anlamak amacıyla parsiyel/ total nefrektomi sonrasında ipsilateral ve kontralateral böbrekte kök hücre rezervinin durumu ve proliferatif aktivitenin, nefrektominin farklı oranlarda ve farklı yaş gruplarında uygulanmasında farklı sonuçlarının olup olmadığını göstermek üzere hazırlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Anatomisi

2.1.1. Makroskopik yapısı

Normal insanda idrar üretme ve boşaltma sistemi; iki böbrek, iki üreter, bir mesane ve bir üretradan oluşur. Böbrekler karın arka bölgesinde retroperitoneal alandadır. Sırtüstü pozisyonda, böbrekler üstten T12 vertebra, alttan L3 vertebra arasında bulunurlar, sağ böbrek karaciğerle ilişkisinden dolayı solda daha aşağıdadır (13, 14) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Böbreğin anatomik yapısı (15).

Böbreği içten dışa doğru *capsula fibrosa*, *capsula adiposa* ve *fascia renalis* olmak üzere üç kılıf sarar (13, 14, 16). Karın arka duvarında retroperitoneal olarak bulunan böbrekler, bazı durumlarda biraz aşağı yukarı yönde hareket edebilirler. Böbrekleri yerinde tutan en önemli oluşumlar, damarları ve *fascia renalis*'tir. Ayrıca *capsula adiposa* ve pararenal yağ tabakası da yardımcı olur (13, 14, 16).

2.1.2. Fonksiyonel yapısı

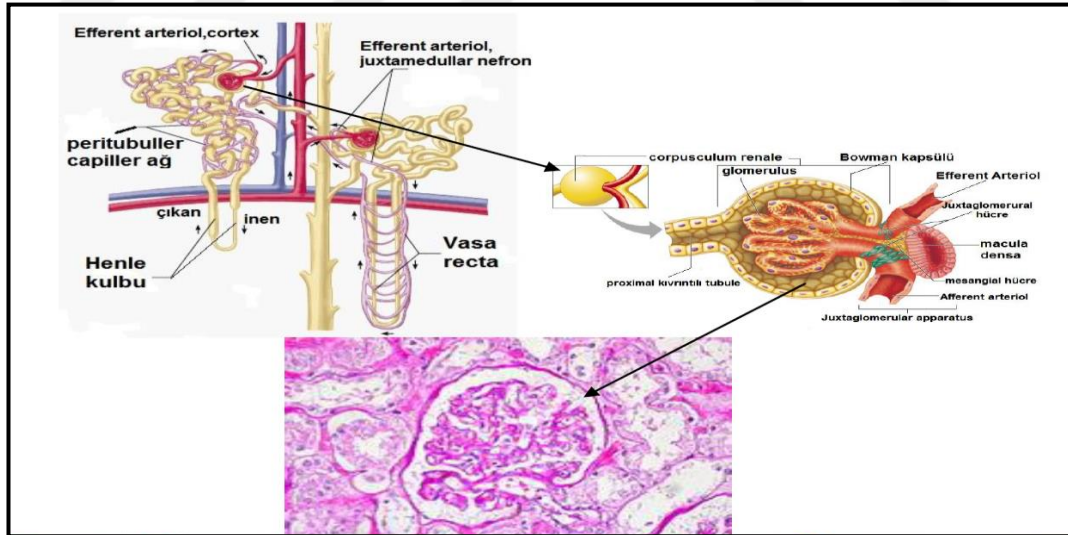
Taze bir böbrek kenarlarından geçen bir kesitle ikiye ayrılarak kesit yüzeyi incelendiğinde, dış kısmına *cortex renalis*, iç kısmına ise *medulla renalis* denilir. Orta kısmında bulunan böbrek şeklindeki boşluğa da, *sinus renalis* denilir. *Cortex renalis*, menşeyini nefrogen dokudan alır ve papillaları hariç olmak üzere, pyramis renalis'lerin her tarafını saran böbrek dokusudur, idrar süzen yapıları içerir. *Medulla renalis* ise menşeyini üreter tomurcuğundan alır ve toplayıcı kanallardan oluşur (13, 14, 16). Korteks ve medullanın düzenlenişi, böbreğin lob ve lobcuklar gibi daha küçük birimlere bölünebileceği şeklindedir. İnsan böbreği çok lobludur. Bazı türlerde (sıçan, tavşan) tek loblu (bir medulla piramidli) böbrek gözlenir.

Hilum renale, böbreğin içinde *sinus renalis* denen boşluğun girişidir. A. renalis hilum renale'den sinus renalis'e girerken v. renalis ve pelvis renalis çıkar. *Hilum renale*'de bulunan yapıların pozisyonları önemlidir. Bunlar önden arkaya doğru v. renalis, a. renalis'in 2-3 dalı, üreter ve a. renalis'in (VAUA) bir dalı olarak yerleşirler. Bazen üreter'in arkasında a. renalis'in bir dalı ile birlikte v. renalis'in bir dalı da bulunabilir. Perirenal yağ dokusu, böbrek hilus'undan geçerek sinus renalis'e girer ve buradaki yapıların arasında kalan boşlukları doldurur (13, 14, 16).

Hilum renale'den böbrek içinde devam eden boşluğa *sinus renalis* denilir. *Sinus renalis*'de pelvis renalis'in üst bölümü, calix renalis'ler, böbrek damarları ve bir miktar da yağ dokusu bulunur. Kalikslerin duvarında bulunan spiral şekilli kas liflerinin kontraksiyonu sonucunda idrar aşağı doğru iletilir. *Pelvis renalis*, böbrekten çıkarken huni şeklinde daralarak üreter'i oluşturur (13, 14, 16) (Şekil 2.1).

Böbreğin yapısını, kılcal damarlardan kanı süzerek oluşturdıkları idrar ile kandan zararlı metabolizma ürünlerini uzaklaştıran, idrarın yoğunluk ve yapısını değiştirmek suretiyle de organizmanın su ve elektrolit metabolizmasını, asit-baz dengesini ayarlayan birleşik tubüler bezler olarak kabul edebiliriz. İdrar tüpcükleri (uriniferöz tubül) denen bu tüpcükler böbreğin parankimasını oluşturur. İdrar tüpcükleri idrarı oluşturan nefron'lar ve nefron'un yaptığı idrarı pelvis renalis'e taşıyan toplayıcı kanallar olmak üzere iki kısımda incelenir (17). Böbreğin fonksiyonel birimi, nefron'dan ve nefron'un süzdüğü maddelerin boşaltıldığı

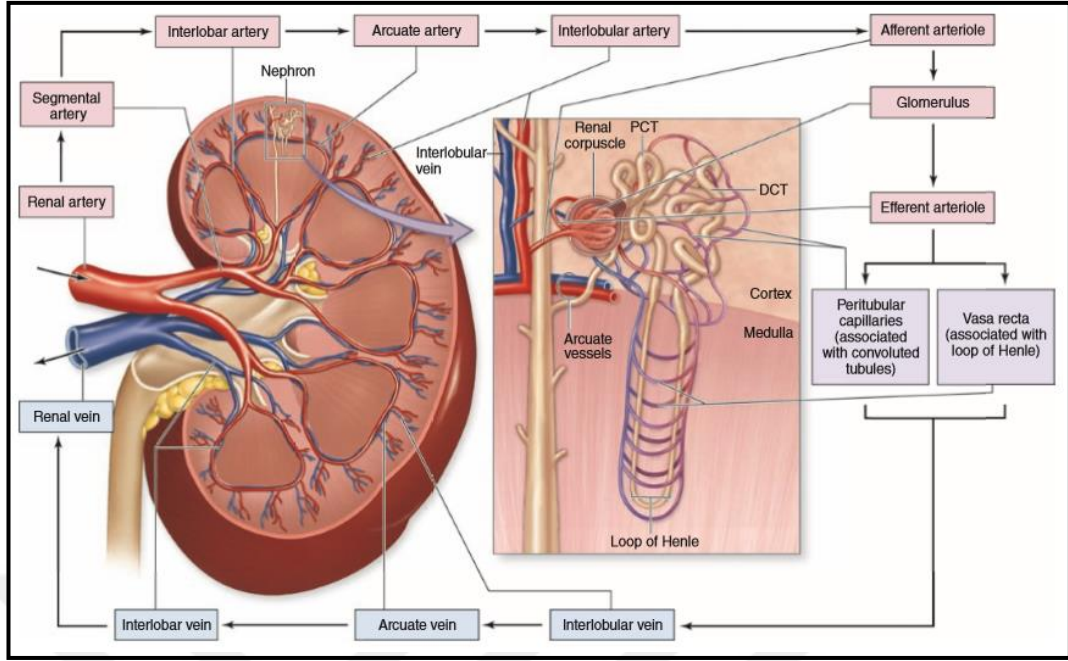
toplayıcı kanaldan oluşan ürinifer tubül'dür. Nefron sırasıyla iki bileşene ayrılır, bunlar böbrek cisimciği ve böbrek tubülüdür (18). Böbrekte iki tip nefron vardır. Kortikal nefronlar böbreğin korteksine yerleşiktir. Jukstamedullar nefronlar böbreğin korteks-medulla sınırında yer alırlar. Tüm nefronlar idrar oluşum sürecine katılırlar (19). Glomerüler filtrat böbrek cisimciğini terk eder ve önce proksimal, daha sonra distal kıvrıntılı tubüllerden geçerek toplayıcı tubüle akar (18). Böbrek cisimciği ve distal kıvrıntılı tubül komşuluğunda *jukstaglomerular aygıt (aparat)* olarak adlandırılan özel bir hücre grubu yer alır. Bu aparat jukstaglomerular hücrelerden ve macula densa'dan oluşmuştur. *Jukstaglomerular hücreler* ve *macula densa*'lar tam bir böbrek fonksiyonu için fonksiyonel olarak bütünleşmişlerdir (18). Podositler ve pencereli endotel hücrelerin her ikisi ve bunların ilişkide olduğu bazal lamina glomerüler süzme bariyerini oluşturur. Mezanjiyum, glomerüler kapillerler arasında bulunan mezanjiyal hücreler ve mezanjiyal matriksten oluşan glomerul içi (intraglomerul) bir yapıdır. Mezanjiyal hücreler, düz kas hücreleri ve makrofajların özelliklerine sahip özelleşmiş perisitlerdir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Glomerulus, Bowman kapsülü, henle kulpu fonksiyonel ve histolojik yapısı (15, 20).

2.1.3. Damarları

A. renalis'ler her iki tarafta 1. ve 2. lumbal omurlar arasındaki discus intervertebralis hizasında dik açı ile aort'dan ayrılır. Ancak böbreklerin pozisyonundan dolayı, sol arter sağ arterden biraz daha yukarıda bulunur, buna karşılık sağ arter daha uzundur ve v.cava inferior'un arkasından geçer. Bu damarlar böbreğin hem fonksiyonel, hem de besleyici damarlarıdır. A. renalis'ler hilum renalis'e gelince böbrek segmenti sayısınca (genellikle 5) dala ayrılırlar. A. segmentalis denilen bu dalların çoğu pelvis renalis'in ön tarafından geçer. Fakat bazen 1 veya 2 tanesi en arkadan geçebilir. A. segmentalis'ler sinus renalis'de tekrar dallarına ayrılarak calix renalis minor'ların çevresinde columna renalis'e girerler. Böbrek lobları arasında uzanan bu dallara a. interlobaris denilir. A. interlobaris'ler kortikal ve medullar cevher hizasında yan tarafa kıvrılarak iki cevher arasında bir kavis şeklinde uzanırlar. A. arcuata denilen bu arterler, birbirleriyle anastomoz yapmazlar. A. arcuata'lardan dik olarak çıkan ince dallara, böbrek lobcukları arasında uzanmaları nedeniyle, a. interlobularis adı verilir. A. interlobularis'lerden yan taraflara uzanan ince dallara ise arteriola glomerularis afferens denilir. Bunlar capsula glomerularis'in (Bowman kapsülü) damar kutbundan girerek içeride rete capillare glomerulare glomerulus denilen kılcal damar yumağını oluştururlar. Bu kılcal damar yumağı, tekrar birleşerek arteriola glomerularis efferens'i oluşturur. Bu da, arterin girdiği kuptan çıkarak v. İnterlobularis'e açılır. V. interlobularis de arterleri takip ederek sırasıyla v. arcuata, v. interlobaris, v. segmentalis ve sonuçta v. renalis olarak v. cava inferior'a açılır. Her iki tarafta a. renalis'in önünde olan venlerden daha uzun olan sol v. renalis aorta abdominalis'in önünden, a.mesenterica superior'un ise arkasından geçer (13, 14, 16) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Böbreğin damarlanması (21).

Arteriola glomerularis efferens, kortikal cevhere gelince tekrar kılcal dallara ayrılır. Bu kılcal damarlar menşeyini nefrogen dokudan alan idrar kanalcıklarının etrafında rete capillare peritubulare corticale denilen bir ağ oluştururlar. Bu ağdaki kan konsantre olup yavaş seyrederek, idrar kanalcığındaki idrar ise fazla dilüedir. Suyun büyük bir kısmı ve bazı maddeler, bu ağ vasıtasıyla geri emilir.

Böbreğin medullar cevherini besleyen damarlar (vasa recta), kısmen arteriola glomerularis efferens'ten, kısmen de a. arcuata'dan çıkar. Bunlar pyramis renalis'in tepesine doğru uzanırlar. Medullar cevheri besleyen bu damarlar venula recta denilen venler aracılığı ile tekrar dönerek v. arcuata'ya açılırlar. A. interlobularis'lerin uç kısmından ayrılan ince dallar (*Rr. capsulares*) böbreğin dış yüzüne doğru uzanarak dışarı çıkar ve capsula fibrosa içinde bir ağ oluştururlar. *Capsula fibrosa*, böbrekten sıyrıldığı zaman bu damarlar kopar. *Capsula fibrosa* ve *capsula adiposa*'yı besleyen bu dalcıklar, a. suprarenalis, a. lumbalis ve a. testicularis'den gelen dalcıklarla anastomoz yaparlar. Bu dalcıkların getirdiği kanı drene eden venlere, v. capsularis denilir. Bu venler venula stellata'lara, bunlar da v. interlobularis'e açılırlar. Böbrek hilusunda a. renalis'den ayrılan bir kısım dallar pelvis renalis, calix renalis ve capsula adiposa'yı besler. Bu dallar capsula adiposa'ya gelen dallarla anastomoz yapar.

Böbrekte arteriovenöz anastomozlar vardır. Bu tür anastomozlar calix renalis'ler civarında, a. ve v. interlobularis'ler arasında, kortikal cevherin ince damarları arasında tesbit edilmiştir. Bu anastomozlar sayesinde, herhangi bir nedenle glomerulustan geçemeyen kanın bir kısmı veya tamamı, süzülmezsizin doğrudan venöz sisteme geçebilir.

2.1.4. Lenfatikleri

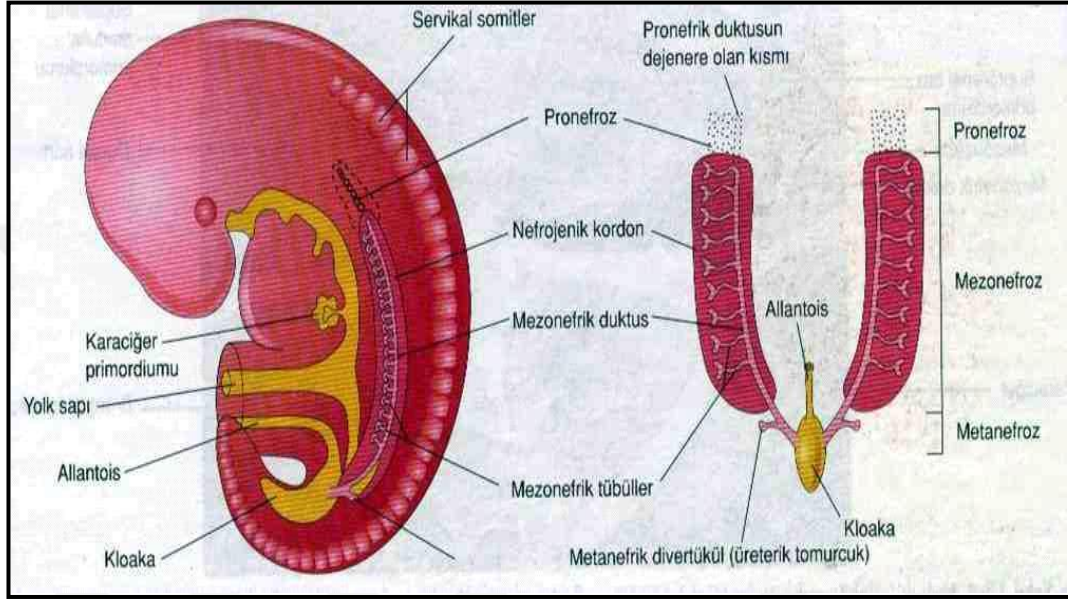
Lenf damarları 3 pleksus oluşturur. Bunlardan birincisi tubulus renalis'lerin çevresinde, İkincisi fascia renalis'in altında, üçüncüsü de corpus adiposum pararenale'de bulunur. Birinci pleksustaki damarlar birleşerek 3-4 ana dal oluşturur. *Hilum renale*'den çıkarken diğer iki pleksus'un damarları ile birleşirler. Böbrekten çıkan lenf damarları v. renalis'i takip ederek aorta'nın yan tarafındaki nodi lymphatici lumbales (aortici laterales)'e açılırlar (13, 16).

2.1.5. Sinirleri

Simpatik lifler n.splanchnicus minor, n. splanchnicus imus ve truncus sympathicus'un lumbal bölümünden, parasimpatik lifleri ise n. vagus'tan gelir. Bu lifler önce plexus coeliacus, daha sonra a. renalis etrafındaki plexus renalis aracılığı ile böbreğe gelir. Bu pleksus içinde birçok ganglion bulunur. Bunlardan en büyüğü a. renalis'in başlangıç kısmının ön tarafında bulunan, ggl. aorticorenale'dir. Bu lifler kan damarları ile tubulus renalis'in hücrelerine gider. Simpatikler damarları daraltarak, damardan geçen kanın miktarını azaltır, böylece kandan süzülen idrarın miktarını azaltmış olur. Ağrısı tüm bel bölgesinde duyulur. Kolik tarzda keskin ve batıcı bir ağrı şeklindedir (13, 14, 16).

2.2. Böbrek Embriyolojisi

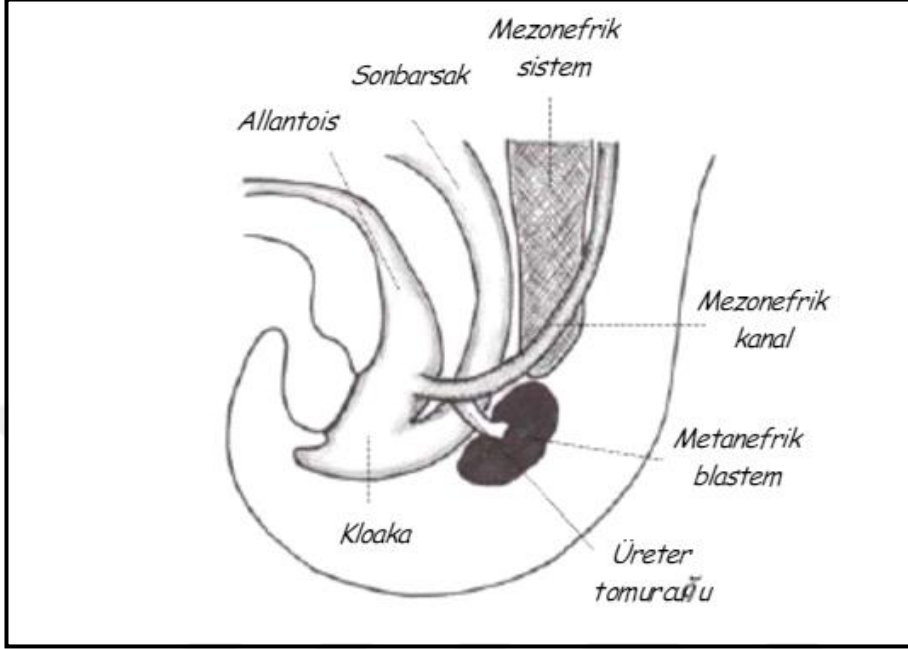
Üriner sistem insanlarda intrauterin yaşam boyunca nefrojenik kord üzerinde kranialden kaudale doğru yerleşmiş birbirinden farklı ve kısmen de üst üste binmiş üç sistem tarafından temsil edilir; pronefroz, mezonefroz ve metanefroz (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Pronefroz, mezonefroz ve metanefroz (22).

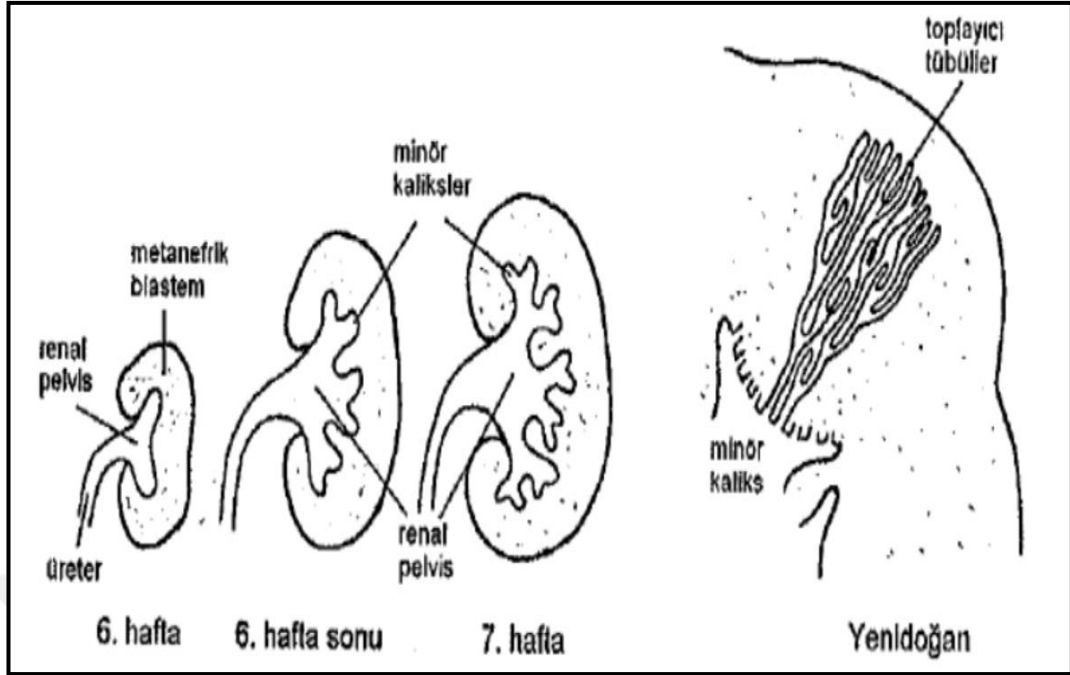
Pronefroz ilkel omurgalı canlıların böbreklerini oluşturur. İnsan embriyosunun servikal bölgesinde 7-10 adet solid hücre topluluğuyla temsil edilen pronefrik sistem, varlığını ancak 4. gestasyonel haftaya kadar sürdürür. İşlevi anlaşılamamış, rudimenter bir yapıdır. Daha kaudaldekiler oluşmadan ilk oluşan nefrotomlar gerilediğinden 4. haftanın sonunda pronefrik sisteme ait bütün yapıların izleri silinir gider. Mezonefroz ise ikinci ayın ortasında orta hattın her iki yanında büyük ve oval şekilli yapılar halinde belirir. Varlığını 8. gestasyonel haftaya kadar koruyabilen mezonefrozun kısa bir süre fonksiyon gösterdiği sanılmakla birlikte, 2. ayın sonunda önemli ölçüde yok olur. Mezonefroz üriner sistemin gelişiminde kritik role sahip bir yapıdır. Mezonefrik sistemin üriner sistemin gelişimi üzerindeki etkisi mezonefrik kanaldan 5. gestasyonel haftada ayrılıp yukarı doğru büyüyen ve metanefrozun metanefrik blastem haline

farklanmasını uyaran üreter tomurcuğunda saklıdır. Üçüncü üriner organ olan metanefroz veya kalıcı böbrek, 5. haftada belirir (Şekil 2.5).



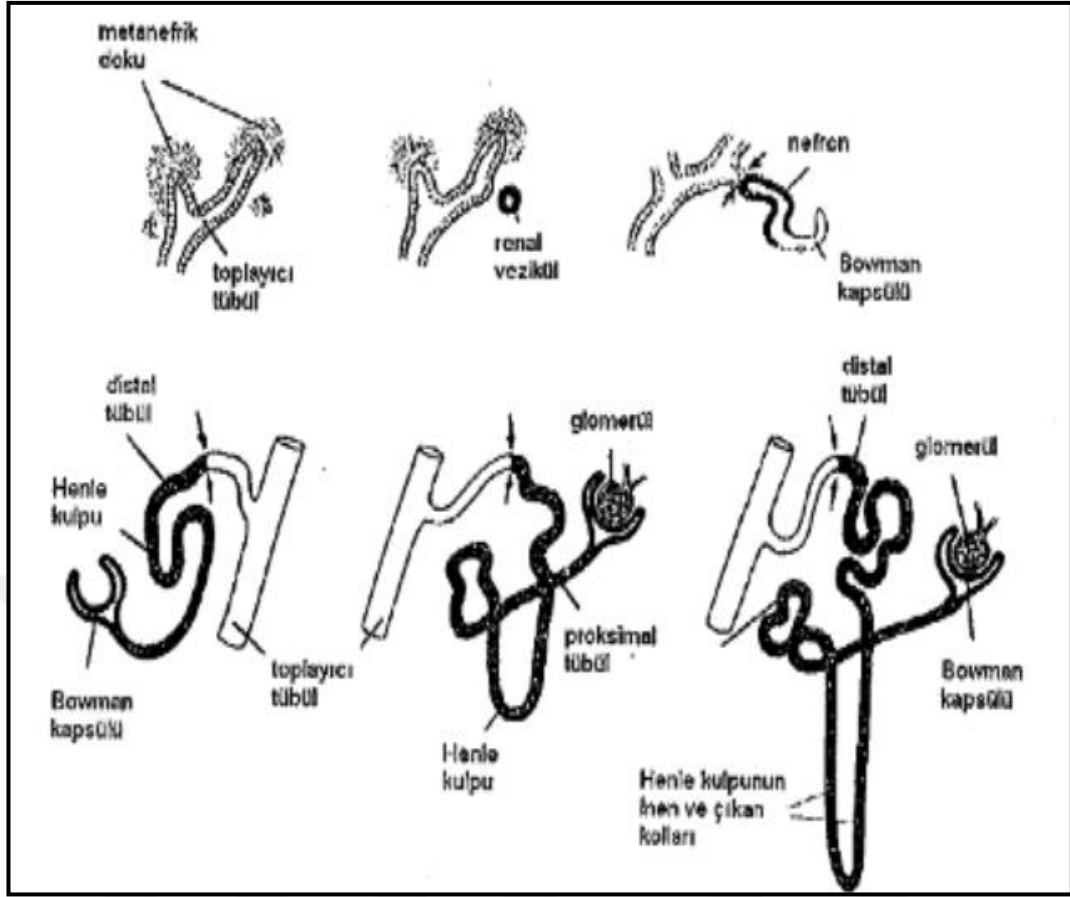
Şekil 2.5. Beşinci hafta sonunda sonbarsak ve kloaka arasındaki ilişki. Üreter tomurcuğu metanefrik mezoderme (blastem) gömülmüştür (23).

Yukarı doğru uzayarak metanefrozun içine gömülen üreter tomurcuğu metanefrik dokunun kalıcı böbrek haline gelebilmesi için gereken süreci başlatırken metanefrik doku da buna karşılık üreter tomurcuğunu toplayıcı sistemi oluşturması için uyarır. Üreter tomurcuğu metanefrozla ilişki kuramadığı takdirde metanefrik blastem kalıcı böbrek haline gelemmez. Metanefrik blasteme penetre olan üreter tomurcuğu genişleyerek primitif renal pelvisi oluşturur ve gelecekteki ana kaliksleri oluşturmak üzere kranial ve kaudal parçalara ayrılır (Şekil 2.6). Metanefrik dokuya penetre olan her kaliksten iki yeni tomurcuk gelişir. Bu tomurcuklar yaklaşık 16 nesil tubül oluşturmaya kadar bölünmeye devam ederler. Gelişimin daha sonraki evrelerinde, 5. ve takip eden generasyonun toplayıcı tubülleri uzayıp minör kaliksler içine doğru toplanarak renal piramidleri meydana getirirler (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Renal pelvis, kaliksler ve metanefrozun toplayıcı kanallarının gelişimi (23).

Üreter tomurcuğu metanefritik blastemin içine gömülürken bir yandan da sürekli bölünerek minör kaliksleri ve toplayıcı tubülleri oluşturur. Yirminci haftada toplayıcı sistemin tamamı ve nefronların da 1/3'ü ortaya çıkmış olur. Üreter tomurcuğunun metanefrik blastem üzerindeki uyarıcı etkisiyle 7. haftadan itibaren nefronun diferansiyasyonu da başlar. Yeni oluşan toplayıcı tubüllerin distal uçlarının etrafı metanefrik doku şapkası adıyla bilinen hücrelerle çevrelenir (Şekil 2.7). Bu hücreler, tubüllerin indükleyici etkisiyle renal vezikül olarak bilinen küçük keseciklere dönüşürler. Daha sonra bunlardan da küçük tubüller meydana gelir. Bu tubüller glomerül adı verilen kapiller yumaklarıyla birlikte nefronu veya boşaltım birimini oluşturur. Anlaşıldığı gibi, nefronlar sentrifugal bir gelişim gösterir. Her nefronun proksimal ucu, glomerül tarafından derin şekilde yaylandırılmış Bowman kapsülünü oluşturur. Tubülün distal ucu ise, toplayıcı kanallardan birbiriyle ilişki kurar. Boşaltıcı tubüllerin uzamaya devam etmesi sonucu proksimal kıvrıntılı tubüller, Henle halkası ve distal kıvrıntılı tubüller meydana gelir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Metanefrik boşaltım biriminin gelişimi. Oklar, boşaltım biriminin toplayıcı sistemle ilişkiye girerek, idrarın glomerüllerden toplayıcı kanallara akmasını sağladığı noktayı göstermektedir (23).

Gestasyonun 20. haftası civarında üreter tomurcuğundan üreter, renal pelvis, majör ve minör kaliksler, papiller kanallar ve sayısı yaklaşık 1-3 milyon arasında değişen nefron biriminin son kısmı olan toplayıcı kanallar gelişir. 20. haftada toplayıcı sistemin tamamı ve nefronların da 1/3'ü artık mevcuttur. Nefrogenez 34.-36. haftaya kadar devam eder. On sekizinci haftadan itibaren amniyon sıvısının tamamına yakını fetusun idrarından meydana gelir. Böbreklerin idrar üretme ve yeterince amniyon sıvısı oluşturabilme kapasitesi fetusun gelişimi üzerinde başka hiç bir şeyle kıyaslanmayacak kadar önemlidir. Amniyon sıvısı fetus tarafından yutulur, sindirim kanalından emilerek kan dolaşımına geçer ve tekrar böbrekler tarafından amniyon boşluğuna geri döner. Fetal böbreğin tek işlevi, özellikle akciğer gelişimi için gerekli olan amniyon sıvısının oluşumunu sağlamaktan ibarettir. Bebek her böbreğinde 1 milyondan fazla nefronla doğar.

Üreter tomurcuğuyla metanefrik doku arasında cereyan eden bu biyokimyasal nitelikli “karşılıklı etkileşim” böbreklerin ve toplayıcı sistemlerin normal şekilde gelişebilmeleri için şarttır. Bu gerçekleşmediği takdirde üreter tomurcuğunun ve metanefrik dokunun beklenen diferansiyasyonu gerçekleşmez ve bu da çeşitli böbrek veya toplayıcı sistem anomalilerinin ortaya çıkmasıyla sonuçlanır. Üreterle ilgili anomalilerin ortaya çıkışında mezonefrik kanaldan ayrılan üreter tomurcuğunun sayısı, ayrılma noktası ve zamanı gibi etkenlerin rolü vardır. Kalıcı böbrekler 9-12 haftalar arasında bir yandan yukarıda anlatıldığı şekilde farklılaşırken, diğer yandan da embriyonun kuyruğunun uzaması ve vücudun dikleşmesi sonucu 4. lumbar vertebra hizasından 1. lumbar veya 12. torakal vertebra seviyesine yükselirler. Bu sırada, mediale doğru 90 derecelik bir dönüş yaptıklarından başlangıçta öne bakan pelvis mediale bakar hale gelir. Doğumda yaklaşık 25 g ağırlıkta olan böbrekler, erişkinlerde 300 g ağırlığa ulaşırlar. Term bir bebeğin böbreğindeki hücre sayısı erişkin böbreğinin %17’si kadardır. Net DNA sentezi doğumdan sonra bir 6 ay daha devam eder. Bu dönemden sonra böbrek hücre bölünmesinden ziyade, hücrelerin boyutunun artmasıyla büyür (24).

2.3. Nefrektomi Teknikleri

- **Basit nefrektomi:** Tüm böbreğin çıkarılmasıdır.
- **Subkapsüler nefrektomi:** Böbrek kapsülü renal pediküle kadar açılır. Perihiler yağ dokuları eksize edilir. Renal pedikül ve damarları bağlanır ve çıkarılır.
- **Marcellation ile nefrektomi:** Çevre dokuya yapışık olduğu ya da total olarak çıkarılamadığı durumlarda böbreğin parça parça çıkarılmasıdır.
- **Nefroüretarektomi:** Böbreğin ve üreterin çıkarılmasıdır.
- **Parsiyel nefrektomi:** Böbreğin yalnızca hasarlı ya da hastalık barındıran kısmının çıkarılmasıdır.
- **Radikal nefrektomi:** Böbrek, perinefritik yağ dokusu, adrenal gland, gerato fasyası ve paraaortik lenf nodlarını içine alacak şekilde çıkarılmasıdır.
- **Donor nefrektomi:** Böbreğin damarları ve üreteri ile birlikte başka bir bireye verilmek üzere çıkarılmasıdır (25).

2.4. Nefrektomi Endikasyonları

Nefrektomi ilk defa 1869 yılında abdominal kitle ön tanısı ile Gustow Simon tarafından elektif olarak yapılmış bir operasyondur. Major renal travmalar, obstrüksiyon ve taşla bağlı 4. derece hidronefroz veya hidroüreteronefroz, spesifik ve nonspesifik enfeksiyonlara bağlı pyonefroz, kist hidatik, multikistik böbrek ve polikistik böbrek gibi renal kistik hastalıklar, transplantasyon amaçlı donör nefrektomisi ve hipoplazik böbrek gibi hipertansif renal hastalıklar da nefrektominin benign endikasyonlarını oluşturmaktadır (26, 27).

Rastlantısal olarak saptanan küçük böbrek kitleleri nefron koruyucu cerrahiye uygun olan kitlelerdir. Güncel çalışmalar, preoperatif böbrek işlev bozukluğunun düşünüldüğünden daha fazla olduğunu göstermektedir (28). Bu bulgular, küçük boyutlu böbrek kitlelerinin cerrahi tedavisinde nefron koruyucu cerrahi olan parsiyel nefrektomi (PN)'nin önemini daha da arttırmaktadır. On yıllık zaman periyodunda, açık parsiyel nefrektomi (APN) radikal nefrektomi ile karşılaştırıldığında, rastlantısal olarak saptanan küçük boyutlu böbrek kitlelerinin cerrahi tedavisinde böbrek işlevlerinin daha iyi korunması ve radikal nefrektomi ile eşit onkolojik sonuçları olması nedeniyle, altın standart cerrahi yöntem olarak klinik uygulamaya girmiştir (29, 30). Gelişmiş ülkelerde benign nedenlere bağlı nefrektomi sayısı giderek azalmakta, maligniteye bağlı nefrektomi endikasyon olarak ilk sırayı almaktadır (31, 32).

Parsiyel nefrektomi endikasyonları

Genel olarak PN'nin endikasyonları üç ayrı kategoride değerlendirilmektedir (33):

- **Kesin endikasyonlar:** Anatomik veya fonksiyonel soliter böbrek olguları.
- **Göreceli endikasyonlar:** i) Normal işlev gören karşı böbreği ileri dönemde olumsuz etkileyebilecek durumlar (diabetes mellitus, hipertansiyon, taş hastalığı ve geçirilmiş cerrahi öyküsü gibi), ii) Karşı böbrekte kanser gelişimine yol açabilecek böbrek hücreli kanserin kalıtsal formlarının saptanması.
- **Elektif endikasyonlar:** Karşı böbreği normal olan lokalize tek taraflı böbrek hücreli kanser olguları.

Parsiyel nefrektomi kontrendikasyonları

PN'nin kontrendikasyonları iki ayrı kategoride değerlendirilmektedir (34):

- **Kesin kontrendikasyonlar:** Renal ven ve/veya vena kava inferior'da trombus olan olgular, tümör boyutu, lokal invazyon saptanması,
- **Göreceli kontrendikasyonlar:** Lenfadenopati, kanama bozukluğu.

2.5. Kök Hücreler

2.5.1. Kök hücrenin tarihçesi

Günümüzde tıbbın yetersiz kaldığı tedavisi olmayan hastalıklar için umut ışığı olarak görülen kök hücreler germ hücrelerinden, fetüsten ve yetişkin dokulardan elde edilebilmektedirler. Kök hücre tedavisi, günümüzde birçok etik ve dini tartışmalara sebep olan, medyanın gündemini sürekli oluşturan bir konudur (35).

Tarihte ilk kez 1800'lü yıllarda bazı hücrelerin diğer hücreleri oluşturabileceği fikrinin ortaya atılması ile gündeme gelen kök hücreler ilk 1900'lü yılların başında keşfedilmiştir. Bu hücrelerin sadece kan hücrelerine farklılaşabileceği düşünülmüştür. Bu dönemde kök hücreler insan ve hayvan kök hücreleri olmak üzere ikiye ayrılmıştır (36).

1950-1960'lı yıllarda Ord. Prof. Dr. Vet. Hek. Tuğg. Süreyya Tahsin Aygün, doğum sonrası atılan plasentalarda kordon kanındaki hücreler ile insan ömrünün uzatılabileceğini söyleyerek hücre kültür tekniklerinin yanı sıra ilk hücre ve kök hücre tedavilerini yapmıştır. Bunları kitap ve makaleler halinde uluslararası dergilerde yayımlamış, yurtdışında uluslararası kurultaylarda bildiri olarak sunmuş ve Almanca olarak kitap haline getirerek, Almanya'da yayımlamıştır (37).

1960 yılında *McCulloch ve Till* (38) kök hücrelerin kendi kendini yenileyebilme ve farklılaşabilme özelliklerini tanımlamışlardır. 1991 yılında ise kök hücreler, *Caplan* (39) tarafından bugünkü tanımını alarak embriyonik kök hücre ve mezenkimal kök hücre olarak isimlendirilmiştir.

19. yüzyıla geri döndüğümüzde 1868'de *Tavassali ve Corsby* (40), 1869'da *Goujon* yaptıkları çalışmalarda kemik hücresi içermeyen kemik iliği hücrelerinin osteojenik hücrelere farklılaşma eğiliminde olduğunu ispatlamışlardır

Friendestein ve ark. (41) 1960 ve 1970 yıllarında yaptığı çalışmalarda kemik iliği hücrelerinin sadece küçük bir popülasyonunu oluşturan hücrelerin kemik hücrelerine farklılaştığını göstermişlerdir.

1970 yılında *Friendestein ve ark.* (41) kemik iliğindeki farklılaşan hücrelerin yüzeye hemen tutunması ile kolayca hematopoetik hücrelerden ayrılabilirdiğini, yüzeye tutunan bu fibroblastik hücrelerin klonal yapı göstererek ürediğini göstermişlerdir.

1976'da *Testa*, 1977'de *Dexter* ve 1978'de *Allen ve ark.* (42) tarafından kemik iliği kök hücrelerinin hücrel bir mikro çevre tarafından regüle edildiği gösterilmiştir. Kök hücre niş hipotezi 1978 yılında *Schofield* tarafından desteklenmiştir. Özellikle kemik iliği stromasında ikinci bir tip kök hücrenin bulunabileceği *Tavassali, Friedensteine ve Owen* (43) tarafından ortaya atılmıştır. Kemik iliğindeki ikinci tip kök hücre fikri 1978 yılında ortaya atılmış olmasına rağmen; 1999 yılında *Pittengen ve ark.* (44) yayımladığı makaleye kadar ses getirmemiştir. *Friedestein ve Owen* (45) 1987-1988 yıllarında kemik iliği kök hücrelerine kemik kök hücresi adı verilmiştir.

Kemik iliği kök hücre çalışmalarından yaklaşık 10 yıl sonra 1970 yılının ortalarında teratokarsinoma çalışmalarıyla beraber embriyonik kök hücre çalışmaları da başlamıştır. Teratokarsinoma denilen kompleks yapılu tümörlerde bir çok hücre hattı bulunmuştur (deri, kas, saç, diş). Daha sonraki çalışmalarda bu hücre tiplerinin üç ayrı embriyonik germ tabakasından mezoderm, endoderm ve ektodermden türediği ortaya çıkartılmıştır (46-60).

1981 yılında *Evans ve Kaufman* (47) embriyonik karsinoma hücrelerinin biyolojisini anlamak için blastokist hücre kümesini kültür ortamına aldı ve en iyi embriyonik karsinoma hücre hattını elde etmiştir. Bu başarıyı blastokistin iç hücre kitlesinin kültüre edilmesi takip etmiştir. Normal karyotipte, pluripotent olan bu hücrelerin kültüre edilmesiyle embriyonik kök hücrelerin biyolojisinin önemli bir kısmını keşfetmiş oldu.

1981 yılından on iki yıl sonra, 1993 yılında Kanadalı bilim adamları embriyonik kök hücrelerin totipotensi özelliğini bulmayı başarmışlardır. Embriyonik kök hücrelerden yaşayan bir fare üreterek embriyonik kök hücrelerin totipotensi özelliğini ispatladılar (48).

1994 yılında *Bongso ve ark.* (49) Wisconsin Üniversitesi'nde yaptıkları çalışmalar ile ilk embriyonik kök hücre izolasyonunu gerçekleştirmişler; ancak embriyonik kök hücre kültürünü yapmamışlardır.

1998 yılında *Thomson ve ark.* (50) Winconsin Üniversitesi'nde insan embriyonik kök hücrelerinin, 5 günlük embriyodan izolasyonunu ve kültürünü yapmışlardır. Bu hücrelerin limitsiz üreme özelliğinin olduğu ve birçok hücre tipine farklılaşabileceği saptanmıştır. Yine 1998 yılında John Hopkins Üniversitesi'nde, John Gearhart tarafından yapılan bir çalışma ile 9 haftalık bir fetüs kadavrasından insan embriyonik germ hücreleri elde edilmiştir.

Embriyonik kök hücreler, 4-5 günlük embriyonun rahim duvarına yerleşmeden önceki safhası olan blastokistin iç hücre kitlesinden elde edilirler. Bu safhada embriyo 150 hücreden meydana gelen ve dış kısmında yuvarlak bir daire oluşturacak şekilde dizilmiş hücreler (trofektoderm), sıvı dolu bir kavite (blastosel) ve iç kısımda, bir küme hücre içeren yapı şeklindedir. Gelişmekte olan bir fetüsün primordial germ hücrelerinden de embriyonik kök hücrelere benzeyen hücreler elde edilebilir (51).

2006 yılında Japon araştırmacı *Dr. Shinya Yamanaka*'nın (52) laboratuvarında somatik hücreler embriyonik kök hücre genlerini ifade edebilen pluripotent benzeri hücrelere dönüştürülmüştür. Bunlara indüklenmiş pluripotent hücre (IPSCs) adı verilmiştir.

2008 yılında *French ve ark.* (53) blastokist içine somatik hücrelerin çekirdeklerini transfer ederek pluripotent kök hücre elde etmeyi başarmışlardır.

2008 yılında *Chung ve ark.* (54) embriyoyu parçalamadan pluripotent kök hücre elde edilebileceği görüşünü ortaya atmışlardır. Bu iki çalışma da göstermektedir ki, herhangi bir etik sorunla karşılaşmadan ve immünreaksiyon sorunu olmadan kişilerin kendi hücrelerinden pluripotent hücreler elde edilebilir. IPSCs keşfinden üç yıl sonra, 2009 yılında Kanadalı bilim adamları IPSCs hücrelerinden yaşayan bir fare üretmeyi başarmışlardır (55).

Klinisyenler ve bilim adamları yıllarca kök hücre araştırmaları üzerinde çalışmışlardır. Günümüzde bu çalışmaların sonucunda iki önemli gelişme sağlanmıştır. Bunlardan bir tanesi *Thomson ve ark.* (56) tarafından somatik hücre çekirdeklerinin tekrar programlanıp embriyonik kök hücrelere somatik hücre çekirdeklerinin aktarılması ile yapılan hayvan klonlanması; bir diğeri ise tedavisi olmayan hastalıkların hücresele tedavi imkânıdır. Gelişim biyolojisinin temelini oluşturan hydra'larda kök hücre biyolojisinin 6 önemli özelliğı gösterilmiştir;

- i) Sınırsız üreme ve farklılaşma özelliğı,
- ii) Hücresele çevreden gelen sinyallere çok hızlı yanıt verebilme özelliğı,
- iii) Wnt ve Notch sinyal yollarının kök hücre davranışlarının kontrolündeki büyük önemi;
- iv) Terminal farklılaşmada kromatin modifikasyonun önemi;
- v) Kök hücre kaynaklarında farklılaşmanın gösterilmesi;
- vi) Kendi kendini yenilemenin kanser gelişimi üzerindeki etkisi araştırılmıştır (57).

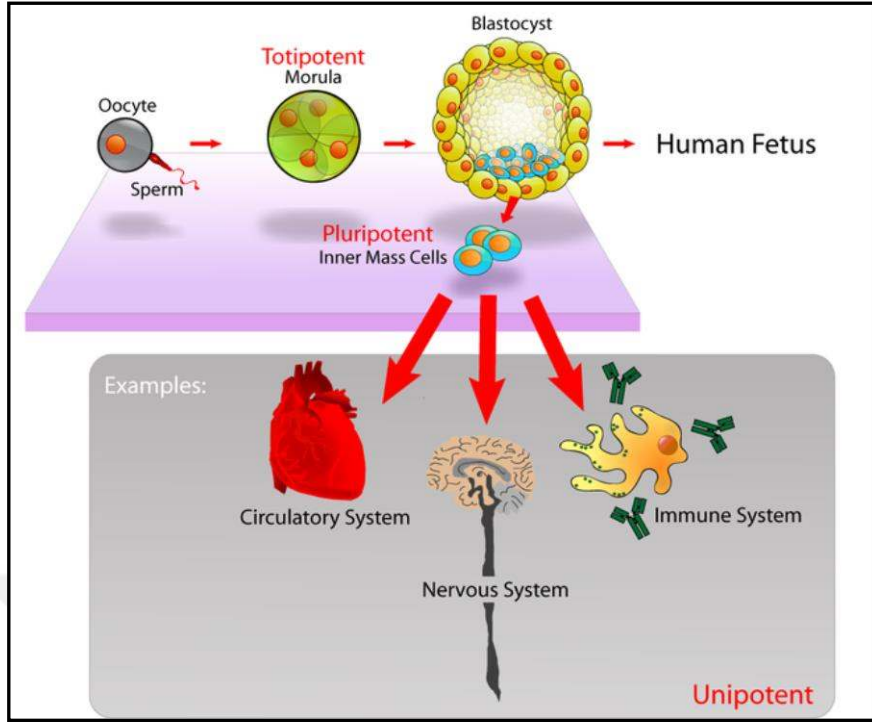
Planaryaların yüksek rejenerasyon kabiliyeti araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Planaryalarda bulunan pluripotent, rejenerasyondan sorumlu hücrelere neoblast hücreleri denilmiştir. Planaryanın yüksek rejenerasyon kabiliyeti ve kültürünün kolay yapılması nedeniyle kök hücre araştırmalarında en çok kullanılan model organizmadır. Ayrıca planaryanın memeli kök hücrelerine yakın biyolojide olması, insan ve farede rejenerasyon çalışmalarına umut ışığı olmaktadır (58). Planaryadan sonra yassı kurtlar ailesinin diğeri bir üyesi olan *Macrostomum lignano* kök hücre biyolojisi çalışmalarında önemli bir model organizmadır. Gerek kültürünün kolay olması, gerek hücre sayısının az olması, şeffaf olması neoblast (rejenerasyondan sorumlu hücreler) adı verilen kök hücre çalışmalarını kolaylaştırmaktadır. *Macrostomum lignano* ile yapılan kök hücre çalışmalarında basit yapılı kurtlardan, yüksek organizmalı canlılara kadar kök hücre biyolojisine bilgi kazandıracak uygun model bir organizmadır (59).

2.5.2. Kök hücrelerin tanımı

Kök hücreler, farklı hücre tiplerine dönüşebilme potansiyeline ve kendisini yenileyebilme yeteneğine sahip farklılaşmamış, in vivo ve in vitro koşullarda istenilen doku hücrelerine farklılaşabilen hücrelerdir.

Kök hücreler bir yandan çoğalırken bir yandan da farklı tiplerde hücrelere dönüşebilirler. Bu dönüşüm, farklı gelişim evrelerinden elde edilen hücrelerde farklı derecelerde gözlenmektedir. İki haploit gamet hücresinin (sperm ve yumurta) birleşmesiyle oluşan zigotun (totipotent) birbirini izleyen bölünmeleriyle blastokist oluşur ve bu aşamadaki hücreler bütün organizmayı oluşturmak üzere çoğalırlar, farklılaşırlar (61). İnsanda 4-6 günlük bir blastokistin iç hücre kitlesinde yer alan bu hücreler embriyonik kök hücrelerdir ki, bunlar tüm germ tabakalarını (ektoderm, mezoderm, endoderm) ve onlardan köken alacak sistemleri oluşturabilme yeteneğindedirler (pluripotent) (62). Embriyonik gelişimin ilerleyen dönemlerinde hücreler, uterus duvarına implante olana kadar pluripotent (yaklaşık 200 farklı tipte hücreye farklılaşabilme); implantasyondan sonra ise multipotent (üç germ tabakasına ait hücrelerden bazılarına farklılaşabilme) özellik kazanırlar (63). Kök hücreler canlının yaşamı boyunca ürettiği, farklılaşmamış hücreler olmasına rağmen bebeğin gelişim süresince embriyonel gelişimde planlanan şekle aykırı bir farklılaşma göstermez (64). Vücudumuzda deri, karaciğer gibi bazı organların rejenerasyon yeteneklerini hayatımız boyunca kaybetmezken, diğer organların rejenerasyon özelliklerini kaybetmiş olmalarının sebebi hala bilinmemektedir (65).

Gelişimin ilerleyen safhalarında (fötal, prenatal, postnatal, çocukluk, yetişkinlik, vb.) olan organizmada totipotent bir kök hücreden söz etmek mümkün değildir. Ancak, çeşitli dokularda (kemik iliği, yağ, kas, vb.) gerektiğinde çoğalıp farklılaşabilen hücreler varlığını sürdürmektedir. Bunlara yetişkin kök hücreler denir ve embriyonik kök hücrelere göre sınırlı sayıda hücre tipine farklılaşabilmektedirler (pluripotent ya da multipotent) (Şekil 2.8) (63, 66).

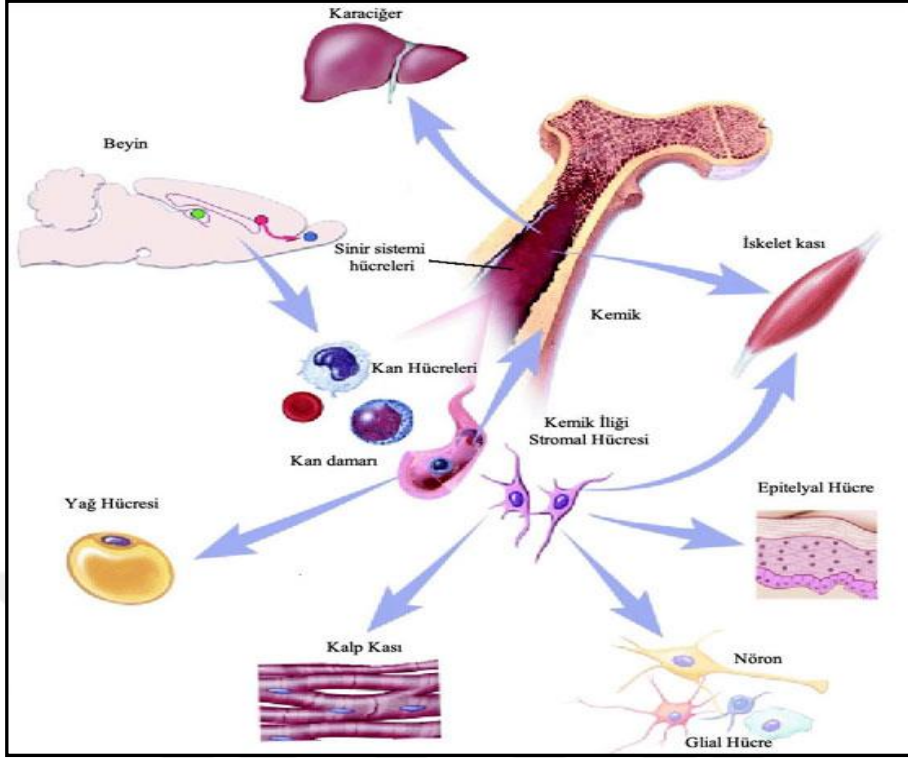


Şekil 2.8. Kök hücreler unipotent ya da multipotent özellik gösterebilir (67).

2.5.3. Kök hücrelerin genel özellikleri

Sınırsız bölünme ve kendini yenileme: Kök hücreler, sahip oldukları telomeraz enziminin aktivitesi sonucunda sınırsız bölünebilme yeteneği kazanmaktadır (68). Bölünmeler esnasında bir yandan öncü hücrelere dönüşecek hücreleri üretirken bir yandan da kendi yedeklerini oluştururlar. Böylece organizmadaki kök hücre havuzu, yaşam boyu sabit büyüklükte kalır. (69).

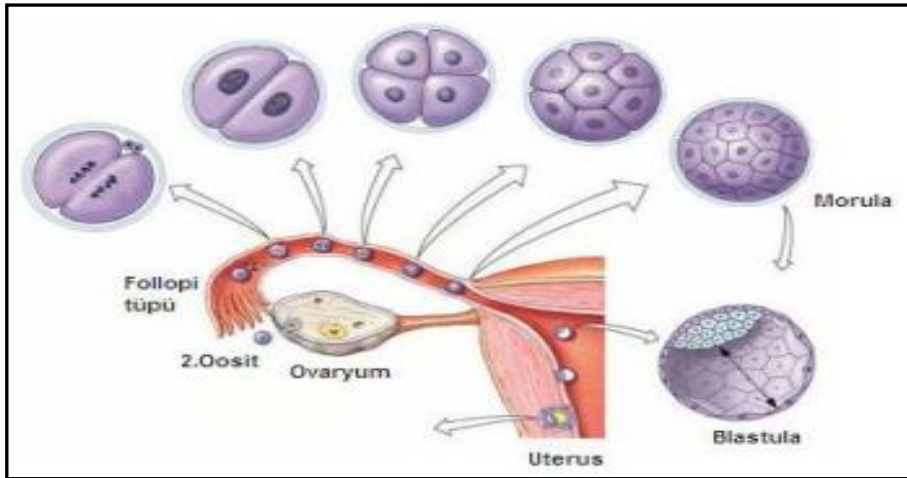
Farklılaşma (Plastisite = Transdiferansiasyon): Bir hücre özgün bir yapı kazanmak ve özel görevleri üstlenmek üzere farklılaşmaya başlamadan önce yeterli sayıya ulaşır ve ardından, çoğalma ile ilgili mekanizmalar kapatılarak farklılaşma ile ilgili olanlar devreye girer. Bu süreçte genellikle hücre bölünme döngüsünden çıkar (G0 fazı). Farklılaşmayı uyaran ve devam ettiren etkenlerin ortadan kalkması durumunda hücre tekrar bölünme döngüsüne girer (G1 fazı) (62, 66, 70) (Şekil 2.9). Kök hücrelerin farklılaşma kapasiteleri diğer hücrelerden yüksektir. Bu özellikleri sayesinde, organizmadaki yapım ve onarım olaylarında önemli roller üstlenirler (62).



Şekil 2.9. Kök hücre farklılaşması (71).

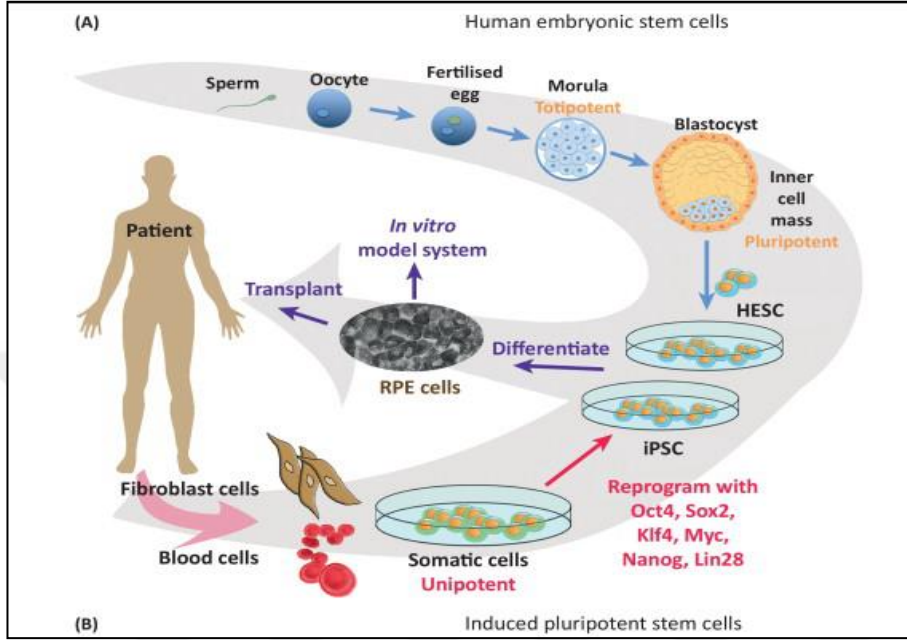
2.5.4. Kök hücre tipleri

Embriyonik kök hücreler: Embriyonik kök hücreler (EKH), döllenmeden birkaç gün sonraki blastokist aşamasından izole edilmektedirler. Bu kitleden izole edilen EKH'ler pluripotent özelliktedirler. *In vitro*'da, sınırsız olarak çoğaltılıp istenilen her hücre tipine farklılaştırılabilmektedirler (63, 66) (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Embriyonik kök hücre (71).

Uyarılmış pluripotent kök hücreler (iPS): Uyarılmış pluripotent kök hücreler, somatik hücrelere pluripotensi genlerinin (Oct3/4, Sox2, Klf4, v.b.) aktarılması yoluyla oluşturulmaktadır (Şekil 2.11).

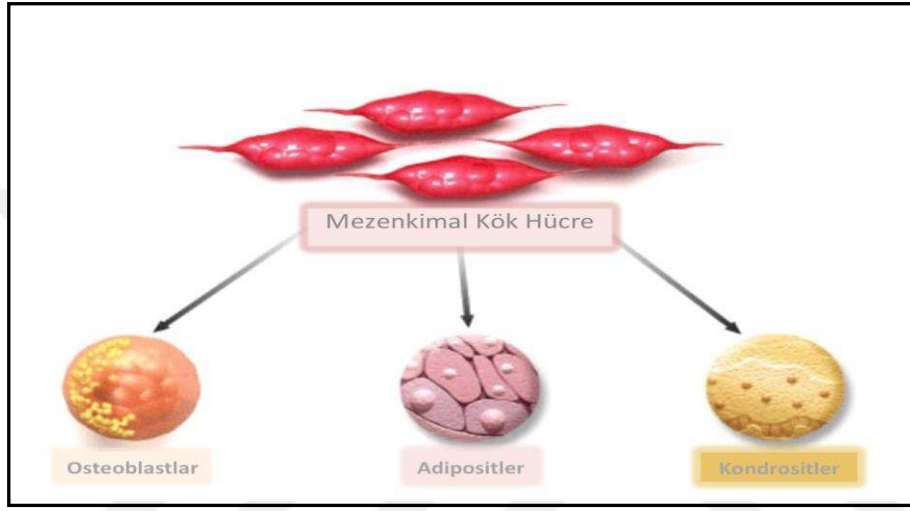


Şekil 2.11. Uyarılmış pluripotent kök hücreler (iPS) (72).

Yetişkin kök hücreler: Yetişkin kök hücreler, doğum sonrasında organizmada farklı doku ve organlarda yerleşik halde bulunan multipotent kök hücreler olup 3 alt grupta incelenirler.

- **Hematopoetik kök hücreler (HKH):** Embriyonik dönemde oluşan HKH'ler, kemik iliği gelişip kök hücre fonksiyonları için gereken mikroçevreyi sağlayana kadar bu bölgeler arasında göç ederler. Doğumun gerçekleşmesiyle HKH'ler kemik iliğinde yerleşik olarak görevlerini yaşam boyu sürdürürler.
- **Kanser kök hücreleri:** Bazı solid kanser türlerinde, hücre kitlesi içinde kök hücre özelliklerini barındıran belli sayıda kanser kök hücresi bulunmaktadır. Bunlar kendini yenileme ve çoğalma özellikleri sayesinde çoğalarak tümör kitlesinin yeniden ortaya çıkmasına ve büyümesine neden olmaktadır (66).

- **Mezenkimal kök hücreler (MKH):** MKH'ler ilk defa 1966 yılında Fridenstein ve Petrakova tarafından tanımlanmışlardır. Fridenstein, yaptığı kemik iliği kültüründe morfolojik olarak fibroblastlara benzeyen hücre kolonilerinin bulunduğunu ve bu hücrelerin kemik ve yağ hücrelerine farklılaşma yeteneğinde olduğunu göstermiştir (73) (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Mezenkimal kök hücreler (74).

MKH'ler; sitokin, kemokin ve ekstraselüler matriks proteinlerini sentezleyebilirler (75). Diğer taraftan MKH'ler, inflamasyon alanından salgılanan sitokin ve kemokinlerinlerin meydana getirdikleri gradient yönünde göç ederek ürettikleri kemokin reseptörleri vasıtasıyla hasarlı dokulara yerleşirler (76). Doku hasarında tamir yeteneğine sahip olan MKH'ler tedavi amacıyla kullanılabilirler.

2.5.5. Böbrek kök hücre rezervinin belirlenmesi

Erişkin böbrekteki kök hücre rezervini belirlemek için farklı teknikler kullanmıştır. Bunlar hücre yüzey belirteçlerinin belirlenmesi, nadir bölünen hücrelerin etiketlenmesi, nefrogenez sırasındaki transkripsiyon faktörlerinin gösterilmesi, floresan boyamalar ve hücre kültürü yapılmasıdır. Bu teknikler kullanılarak renal glomerul, tubül ve papilladaki potansiyel kök hücre rezervleri gösterilebilmiştir.

CD133 (prominin-1), plasma hücrelerinin zarında bulunan bir proteindir. Hematopoietik, nöral, endotelyal ve kanser kök hücrelerinde bulunur (77). Aynı zamanda böbrek tubül, glomerül ve interstisyumunda bol miktarda CD133+ hücreler bulunur (77). *Sagrinati ve ark.* (78) CD24+ ve PDX- hücreleri de *Bowman kapsülü*'nde göstermişlerdir. PDX matür podositlerde, CD24 ise neonefrojenik zonda eksprese edilmektedir. *Lindgren ve ark.* (79) proksimal tubüllerde CD133, CD24 ve vimentin pozitif progenitör hücreleri gösteren bir çalışma yapmışlardır.

Kök hücreleri farklılaşmış hücrelerden nadir bölünmeleriyle ayrılırlar. Bu nedenle takip edilmeleri için etiketleme yöntemi de kullanılmaktadır. Böyle hücrelere "label retaining cell- LRC" denilmektedir. Bu amaçla 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) ve histone2B-green floresan füzyon proteini (H₂B-GFP) kullanılır (80, 81).

ATP bağlayıcı taşıyıcı proteinler ve *Sall1* geni diğer rezerv belirleyicilerdir (82). *Sall1* böbrek gelişimi ve kök hücrelerin proliferasyonunda rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (83, 84).

Yüzey antijen belirteçlerine yönelik yapılan ilk önemli çalışmalar SH2 ve SH3 antikorlarının bulunmasını sağlamıştır (85). Daha sonra SH2 ve SH3, CD105 ve CD73 epitoplarının bulunması sağlanmıştır (86, 87). Bununla birlikte, CD90+ hücreler bulunmuş ve kök hücre olarak kabul edilmiştir. Birçok literatürde kök hücreler için immünofenotip analiz yapılırken genel olarak CD105+, CD90+, CD34-, CD45-, HLA-DR- tanımlama panelleri kullanılmıştır (88).

2.6. Sıçan Böbreği

2.6.1. Anatomisi

Ratlarda renal arterler, a. mesenterica superior'a çok yakın olarak orijin alırlar. Sağ renal arter, sola nazaran biraz daha üstte (cranial)'dir. Hatta sağ renal arter a. mesenterica cranialis'in hemen üst (önünden) orijin alır. A. renalis'ler gl. suprarenalis'lere dallarını verdikten sonra hilus içinde iki dala ayrılır (96). Literatürlerde ilk dallanma türe göre cranial ve caudal, ya da dorsal ve ventral dallar olarak ifade edilmiştir. Buna göre; a. renalis cranial ve caudal dallara (97), ya da dorsal ve ventral dallara (98) ayrıldığı gibi a. renalis'in bu dallara ilave

olarak üçüncü bir dal daha verdiği bildirilmiştir (96, 99). Dorsal (kranial) dal böbrek anterior yüzün üst 1/3'ünü ve posterior yüzün üst 2/3'ünü beslerken, ventral yüzdeki dallar orta ve alt polü beslemektedir (96).

2.7. Nefrektomi Modelleri

2.7.1. Cerrahi modeller

Subtotal nefrektomi veya enfarkt modeli (Artık Böbrek): En sık kullanılan ilerleyici böbrek yetmezliği modellerinden birisidir. Teknik olarak ligasyon ya da ablasyon yöntemleri kullanılabilir. Ligasyon uygulanan yöntemde tipik olarak renal arterin polar dallarına ligasyon uygulanır. Eğer 2 polar dala ligasyon uygulanır ve daha sonrada karşı taraf böbreğe total nefrektomi yapılır ise 5/6 nefrektomi modeli, 1 polar dala ligasyon yapılır karşı böbrek korunursa 1/3 nefrektomi modeli uygulanmış olur. Ablasyon modelinde ise ipsilateral böbreğin yaklaşık %50'sine polar bölgeden başlanarak rezeksiyon uygulanır ardından kontralateral nefrektomi uygulanarak 5/6 nefrektomi modeli, eğer yaklaşık %20'sine polar bölgeden başlanarak rezeksiyon uygulanırsa 1/3 nefrektomi modeli elde edilmiş olur. İki segmental dala ligasyon uygulandığında böbreğin yaklaşık %50-70'inde iskemi gelişirken bir dala ligasyon uygulandığında iskemik alan oranı %20-30 civarında olmuştur (89).

2.7.2. Toksik modeller

Puromisin aminonükleosid (PAN) ve adriamisin (90), adenin (91), kalsinörin inhibitörleri (92), sisplatin (93), aristolokolik asit (94) ve folik asit (95) uygulanmasıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın cerrahi aşamaları Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirilmiş olup, ilgili konularda Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalının katkısı alınmıştır. Tüm deneysel işlemler Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun 2016/8 sayılı izni ile yapılmıştır.

3.1. Deneysel Model

Çalışmada 3 haftalık süttten kesilmiş ağırlığı 80-90 gram arasında değişen 84 yavru ve 8 haftalıktan büyük, ağırlığı 200-250 gram arasında değişen 84 ergin genç Wistar-Albino türü erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları, deney süresince 12 saatlik aydınlık- karanlık siklusları olan, uygun oda sıcaklığı ve nem oranı otomatik olarak sağlanan odalarda, 4-5 sıçan alabilen kafeslerde barındırıldı. Deney sürecinde tüm sıçanlar standart kafeslerde, uygun diyet ve çeşme suyu verilerek yaşatıldılar.

Sıçanlar intraperitoneal 50 mg/kg ketamin (*Ketasol, İnterhas Tıbbi ve Kimyevi Ürünler San. Tic. A.Ş.*) ve 10 mg/kg xylazine (*Kepto Xylazine, Biopharm Aşı İlaç San. Ve Tic. Ltd. Şti.*) ile anestezi sağlandıktan sonra tüm sıçanlar cerrahi işlem süresince spontan solunum ile ventile oldu.

Sıçanlar nefrektomi öncesinde ve sonrasında tartım terazisi (*Desis T28®, ETS Elektronik tartım sistemleri*) ile tartılarak kaydedildi.

3.2. Deney Grupları

Kontrol ve deney grubu olmak üzere iki grup oluşturuldu. Kontrol grubu kendi içerisinde 6 gruba ayrıldı ve her bir kontrol grubunda 10 erkek sıçan kullanıldı. Deney grubu ise kendi içerisinde 18 gruba ayrılıp, her grupta 6 erkek sıçan kullanıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deney grupları.

		Deney grubu		Toplam
		Sütten kesilmiş yavru	Ergin genç	
Kontrol Grubu		5 haftalık (deneyin 15.günü) (n:10)	8 haftalıktan büyük (deneyin 15.günü) (n:10)	60
		7 haftalık (deneyin 30.günü) (n: 10)	8 haftalıktan büyük (deneyin 30.günü) (n: 10)	
		11 haftalık (deneyin 60.günü) (n:10)	8 haftalıktan büyük (deneyin 60.günü) (n:10)	
Cerrahi Sonrası Grubu	Tek taraflı 1/3 parsiyel nefrektomi	Postoperatif 15.gün (n:6)	Postoperatif 15.gün (n:6)	36
		Postoperatif 30.gün (n:6)	Postoperatif 30.gün (n:6)	
		Postoperatif 60.gün (n:6)	Postoperatif 60.gün (n:6)	
	Tek taraflı total nefrektomi	Postoperatif 15.gün (n:6)	Postoperatif 15.gün (n:6)	36
		Postoperatif 30.gün (n:6)	Postoperatif 30.gün (n:6)	
		Postoperatif 60.gün (n:6)	Postoperatif 60.gün (n:6)	
	Tek taraflı total nefrektomi, karşı taraf 5/6 nefrektomi	Postoperatif 15.gün (n:6)	Postoperatif 15.gün (n:6)	36
		Postoperatif 30.gün (n:6)	Postoperatif 30.gün (n:6)	
		Postoperatif 60.gün (n:6)	Postoperatif 60.gün (n:6)	

3.3. Cerrahi İşlemler

Sıçanların karın derisinin tüyleri tıraş edildikten sonra povidon iyot ile temizlenerek steril koşullar sağlandı. Orta hat insizyonla laparotomi yapıldı. Böbrek lojuna ulaşıldıktan sonra;

- 1/3 nefrektomide (1/3 Nx), artık böbrek – ligasyon (enfarkt) modeli (89, 100) uygulanarak sol böbreği besleyen renal arterin ventral (kaudal) polar dallarından birisine 6/0 vicryl (*Pegelak®*, *Doğsan cerrahi dikiş malzemeleri*) sütür ile ligasyon uygulandı.

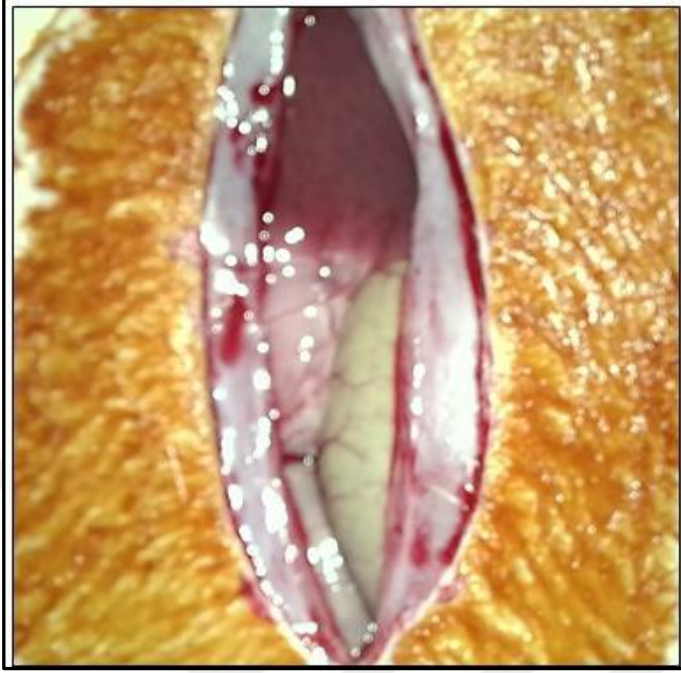
- Tek taraflı total nefrektomide (TTNx), sağ böbreği besleyen damarların hepsi total olarak 6/0 vicryl (*Pegelak®*, *Doğsan cerrahi dikiş malzemeleri*) ile bağlandı ve böbrek total olarak eksize edildi.
- 5/6 nefrektomide (5/6 Nx), artık böbrek – ligasyon (enfarkt) modeli (89, 100) uygulanarak sol böbreği besleyen renal arterin arterin ventral (kaudal) polar dallarından birisine ve dorsal (kaudal) polar dalına 6/0 vicryl (*Pegelak®*, *Doğsan cerrahi dikiş malzemeleri*) sütür ile ligasyon uygulandı. Ardından sağ böbreği besleyen damarların hepsi 6/0 vicryl (*Pegelak®*, *Doğsan cerrahi dikiş malzemeleri*) ile total olarak bağlandı ve böbrek total olarak eksize edildi.

Ameliyat sonunda kaybolan sıvının hipovolemik etkilerine engel olunması için karın boşluğuna 10 mL steril serum fizyolojik (%0,9 NaCl) verildi. Kanama kontrolü sonrasında fasya ve kaslar 4/0 vicryl (*Pegelak®*, *Doğsan cerrahi dikiş malzemeleri*), sütten kesilmiş yavruların karınları 5/0 ipek (*Silk®*, *Doğsan cerrahi dikiş malzemeleri*) ile, ergin genç ratların karınları 4/0 ipek (*Silk®*, *Doğsan cerrahi dikiş malzemeleri*) ile sürekli dikişlerle kapatıldı. Ameliyat sonrası 3. saatte su ve diyet alımına izin verildi. Cerrahiden 1 saat önce ve 5 saat sonra analjezi için subkutan 5 mg/kg carprofen (*Rimadyl®*) enjeksiyonu yapıldı.

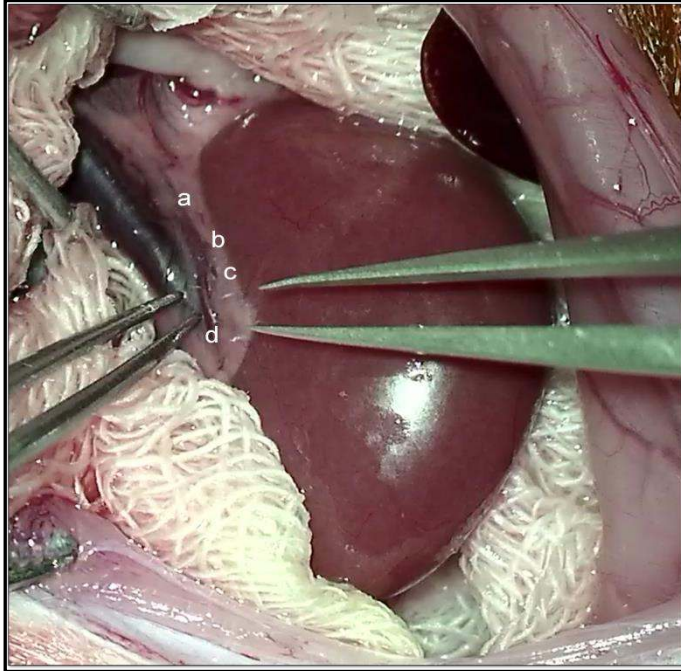
Kontrol grubuna ise karın derisinin tüyleri tıraş edildikten sonra povidon iyot ile temizlenerek steril koşullar sağlandı. Orta hat insizyonla laparotomi yapıldı, böbrek lojuna ulaşıldı. Ancak böbreklere herhangi bir girişim yapılmadı.

Sıçanlar (deney ve kontrol grupları) belirlenen günlerde cerrahi sırasında eksanguinasyon yöntemiyle (kanı boşaltma), abdominal aortadan 8 ml kan alınarak sakrifiye edildi ve ardından 200 ml serum fizyolojik ve 200 ml paraformaldehit ile doku perfüzyonu yapıldıktan sonra böbrek dokusu alındı.

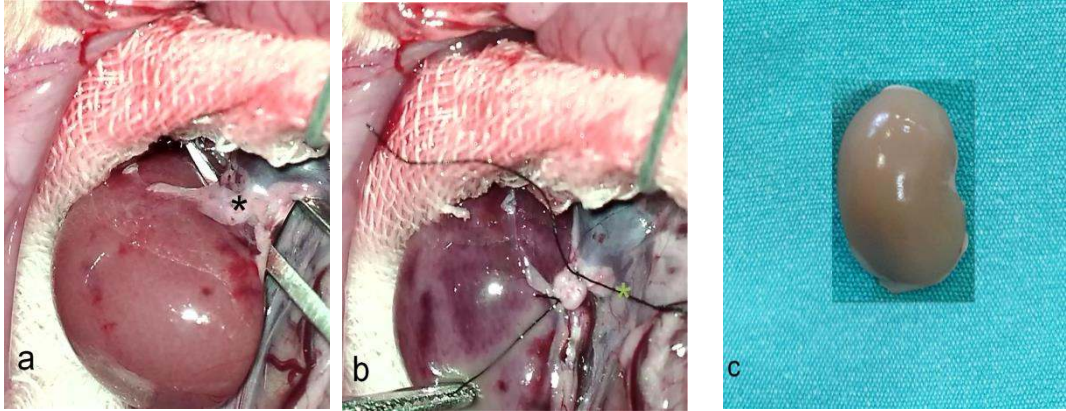
➤ *Cerrahi işlem aşamaları*



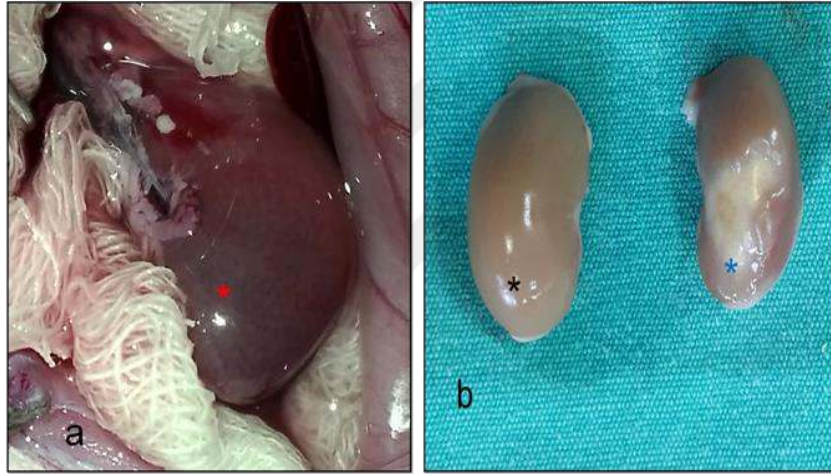
Şekil 3.1. Deney hayvanlarının karın bölgesinin hazırlanması ve laparotomi yapılması.



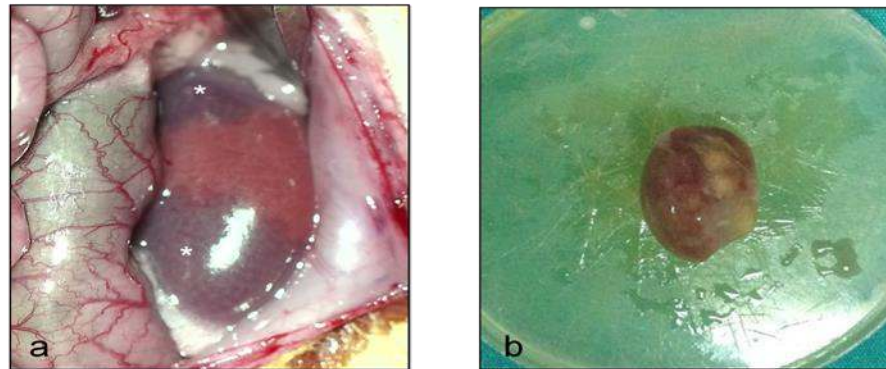
Şekil 3.2. Sol böbrek arter dallanması. **a.** sol renal arter, **b.** kranial (dorsal) arter, **c.** ve **d.** kaudal (ventral arterler).



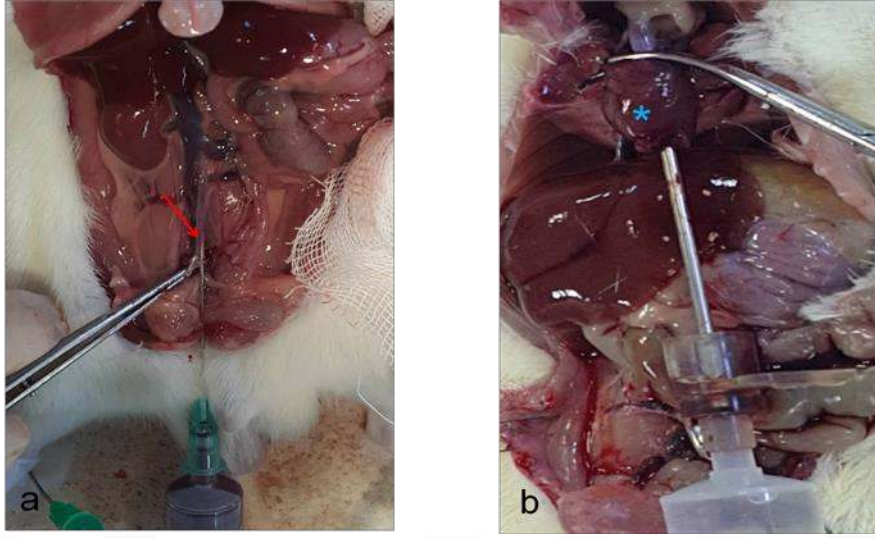
Şekil 3.3. a) Sağ böbrek pedikülünün (*) penset yardımıyla askıya alınması ve b) 6/0 vicryl (*) ile bağlanması - TTNx intraoperatif görünüm, c) TTNx postoperatif 2. ay böbreğin görünümü.



Şekil 3.4. a. Sol böbreğin anterior polar dallarından birinin ligasyonu 1/3 Nx sonrası beslenmesi bozulan alt pol (*) intraoperatif görünüm, b. 1/3 Nx ipsilateral (*) ve kontralateral (*) postoperatif 2. ay böbreğin görünümü.



Şekil 3.5. a. Sol böbreğin kranial ve kaudal dallarından birinin ligasyonu (5/6 Nx) sonrasında beslenmesi bozulan alt ve üst pol (*) intraoperatif görünüm, b. 5/6 Nx postoperatif 2. ay böbreğin görünümü.



Şekil 3.6. a. Cerrahi eksanguinasyon yöntemi ile abdominal aortadan () kan alınması, **b.** Eksanguinasyon sonrasında kalp ventrikülüne (*) yerleştirilen paraformaldehid içeren enjektör ile tüm vücut perfüzyonu yapılması.

3.4. Histolojik Değerlendirme

Postoperatif 15, 30 ve 60. günlerde ipsilateral ve kontralateral böbrekteki kök hücre rezervi immunfloresan çift boyamayla CD90, CD105 işaretlemeyle değerlendirildi. Proliferasyon değerlendirmesi ise immunohistokimyasal olarak Ki67 boyamasıyla yapıldı.

3.4.1. İmmunohistokimya protokolü

İmmunohistokimya metodunda Ki67 antikoru kullanıldı. Boyamadan önce kesitlerin etrafı hidrofobik kalem ile çizildi ve ardından PBS ile 3 kez beşer dakika yıkandı. Sonrasında UV blok ile bloklanıp, yıkama yapılmadan Ki67 primer antikoru (Invitrogen #PA5-19462) ile inkübe edildi. Tekrar PBS ile 3 kez 5 dakika yıkanıp, AlexaFlour 488 (Invitrogen) ile inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 3 defa 5 dakika PBS ile yıkandıktan sonra örnekler DAPI ile kapatıldı ve floresan mikroskopta incelendi.

3.4.2. Çiftli immünofloresan protokolü

Çiftli immunofloresan metodunda CD105 ve CD90 antikorları kullanıldı. Kesitlerin etrafı hidrofobik kalem ile çizildikten sonra PBS ile 3 kez beşer dakika yıkandı. Daha sonra kesitler UV blok ile bloklanıp yıkama yapılmadan CD105 (Bioss bs-4609R) ve CD90 (Invitrogen#MA1-80651) primer antikorları ile inkübe edildi. Tekrar PBS ile 3 kez 5 dakika yıkanıp, anti-rabbit AlexaFlour 488 sekonder antikor (1/400) (Invitrogen) ve anti-mouse Texas Red (1/600) (Invitrogen)'dan hazırlanan mix ile inkübe edildi. Son olarak 3 kez 5 dakika PBS ile yıkanan örnekler DAPI ile kapatıldı ve floresan mikroskopta incelendi.

3.5. Biyokimyasal Değerlendirme

Kontrol ve deney grubundaki sıçanların parsiyel/ total nefrektomi sonrası, 15, 30 ve 60. günlerde, sıçanların sakrifikasyonu esnasında alınan kan örnekleri Histoloji ve Embriyoloji Laboratuarında santrifüj makinasında (*Eppendorf centrifuge*[®], 5810) 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları alındı. Bu serumlarda BUN ve kreatinin miktarları çalışıldı. Bu parametrelerin değerlendirilmesi *Mitchell ve ark.* (138) yapmış olduğu çalışmadaki normal BUN ve kreatinin değerleri baz alınarak yapılmıştır.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızda histolojik boyamalar sonucunda ortaya çıkan verilere istatistiksel değerlendirmeye uygun olmadıkları için bu yönde bir çalışma yapılamadı. Ancak biyokimyasal parametrelerin gruplar arasında parametrik hipotez testlerinden Anova testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi. Değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Tüm istatistiksel çözümlerler Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (20.0 version) paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışma süresince parsiyel/total nefrektomi yapılan gruplardan 15 sıçan ameliyat sonrası erken dönemde kaybedildi. Kaybedilen sıçanların yerine yenileri konularak çalışmaya devam edildi. Tüm gruplarda, sakrifikasyon öncesi yapılan karın içi değerlendirmede, makroskopik olarak bir ratın bağırsaklar arasında fibrin plakları geliştiği görüldü. Çalışma gruplarında elde edilen bulgular aşağıda belirtilmiştir:

4.1. Morfolojik Değerlendirme

Preoperatif ve postoperatif tartıları alınan sıçanlarda 5/6 nefrektomi grubu dışında diğer nefrektomi tekniklerinin uygulandığı sıçanlarda yaş grubundan bağımsız olarak değerlendirildiğinde ağırlık artışının gerçekleştiği ancak bu artışın kontrol grubuna göre daha düşük oranda olduğu görüldü. 3 haftalık sıçanların ağırlık artışı, 8 haftalık sıçanlara göre daha fazlaydı.

3 haftalık yavru sıçanlarda ağırlık artışı 1/3 nefrektomi grubunda 15. gün sonunda ortalama 24 ± 8 g, 30. gün sonunda 45 ± 12 g ve 60. gün sonunda ise 85 ± 15 g olduğu görüldü. Tek taraflı total nefrektomi grubunda ise 15, 30 ve 60. gün sonunda ortalama ağırlık artışları sırasıyla 20 ± 7 g, 35 ± 12 g, 50 ± 15 g olarak saptandı. Her iki grubun ağırlık artışları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). 5/6 nefrektomi sonrasında 15. gün ortalama ağırlık artışı 15 ± 5 g, 30. gün sonunda ise 15 ± 10 g olarak saptandı. 60. gün sonunda ise ağırlık artışının olmadığı, aksine kilo kaybının olduğu ve bu durumun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). Bu ağırlık Nx sonrasında ise iki ve dört hafta sonunda sıçanların ortalama 30 ± 15 g kilo alımlarının olduğu, 8 haftanın sonunda ise kilolarında anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü (Tablo 4.1).

Sekiz haftalık ergin genç sıçanlarda ağırlık artışı 1/3 nefrektomi grubunda 15. gün sonunda ortalama 25 ± 12 g, 30. gün sonunda 40 ± 15 g ve 60. gün sonunda ise 80 ± 15 g olduğu görüldü. Tek taraflı total nefrektomi grubunda ise 15, 30 ve 60. gün sonunda ortalama ağırlık artışları sırasıyla 25 ± 12 g, 30 ± 10 g, 50 ± 15 g

olarak saptandı. Her iki grubun ağırlık artışları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). 5/6 nefrektomi sonrasında 15. gün ortalama ağırlık artışı 15 ± 7 g, 30. gün sonunda ise 20 ± 11 g olarak saptandı. 60. gün sonunda ise ağırlık artışının olmadığı, aksine kilo kaybının olduğu ve bu durumun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Deney gruplarının ağırlık postoperatif ağırlık artışları.

	Ağırlık (g)					
	Üç haftalık yavru sıçan			Sekiz haftalık ergin genç		
	15.gün	30.gün	60.gün	15.gün	30.gün	60.gün
TTNX	$20\pm7^*$	$35\pm12^*$	$50\pm15^*$	$25\pm12^*$	$30\pm10^*$	$50\pm15^*$
1/3 NX	$25\pm8^*$	$55\pm12^*$	$90\pm15^*$	$25\pm12^*$	$58\pm15^*$	$90\pm15^*$
5/6 NX	$15\pm5^*$	$20\pm10^*$	$0\pm0^*$	$15\pm7^*$	$20\pm11^*$	$0\pm0^*$
Kontrol	$45\pm10^*$	$80\pm15^*$	$150\pm25^*$	$36\pm10^*$	$85\pm15^*$	$140\pm15^*$

(* $p<0.05$)

4.2. Biyokimyasal Değerlendirme

BUN değerleri tüm gruplar yaştan ve postoperatif dönemden bağımsız olarak değerlendirildiğinde tek taraflı total nefrektomide %91.7, 1/3 nefrektomide (1/3 NX) %75, 5/6 nefrektomide (5/6 NX) %94,4 oranlarında yüksek olarak saptanmıştır. Kreatinin değerleri ise tek taraflı total nefrektomi ve 1/3 nefrektomide %97.2, 5/6 nefrektomide %75 oranında normal sınırlarda olarak bulunmuştur (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Tüm deney gruplarının BUN ve kreatinin değerleri.

	BUN			Kreatinin		
	Düşük	Normal	Yüksek	Düşük	Normal	Yüksek
TTTNX	%2.8	%5.6	%91.7	%0	%97.2	%2.8
1/3 NX	%0	%25	%75	%0	%97.2	%2.8
5/6 NX	%0	%5.6	%94.4	%0	%75	%25
Kontrol	%6.7	%61.7	%31.7	%0	%100	%0

3 haftalık yavru sıçanlarda BUN değerleri tüm nefrektomi gruplarında, kontrol gruplarına göre, artış göstermekle birlikte 5/6 nefrektomide bu artış daha fazladır. Bu artış 1/3 nefrektomide istatistiksel olarak anlamsızken ($p>0.05$), diğer nefrektomi gruplarında istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). İlk iki haftada hızlı bir artış gösteren bu değerler 4. haftada en yüksek ortalama değerlerine ulaşmış, ancak 8. hafta kontrollerinde düşüş göstermiştir (Tablo 4.3).

8 haftalık ergin genç sıçanlarda yavru ratların değerlerine benzer sonuçlara rastlanmıştır (Tablo 4.4). BUN değerlerindeki artış 1/3 nefrektomide istatistiksel olarak anlamsızken ($p>0.05$), tüm nefrektomi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olarak saptanmıştır ($p<0.05$).

Kreatinin değerleri ise yapılan cerrahi girişimlerden bağımsız olarak her iki yaş grubunda normal değerlerde saptanmıştır (Tablo 4.3 ve Tablo 4.4). Bu durum tüm nefrektomi gruplarında istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0.05$).

Tablo 4.3. Üç haftalık yavru sıçanların biyokimya parametreleri.

	BUN (mg/dl)			Kreatinin (mg/dl)		
	Üç haftalık yavru sıçan			Üç haftalık yavru sıçan		
	15.gün	30.gün	60.gün	15.gün	30.gün	60.gün
<i>1/3 NX</i>	24.0±1.2	28.16±7.3	23.0±1.0	0.9±0.2	0.5±0.2	0.26±0.1
<i>TTNX</i>	22.3±5.4*	31.1±7.7*	25±1.6*	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1
<i>5/6 NX</i>	49.2±11*	29.4±8.0*	29.3±4.0*	0.5±0.2	0.4±0.1	0.6±0.2
Kontrol	19.0±5.0*	20.0±5.0*	20±2.0*	0.5±0.2	0.5±0.1	0.3±0.6

(* $p<0.05$).

Tablo 4.4. Sekiz haftalık ergin genç sıçanların biyokimya parametreleri.

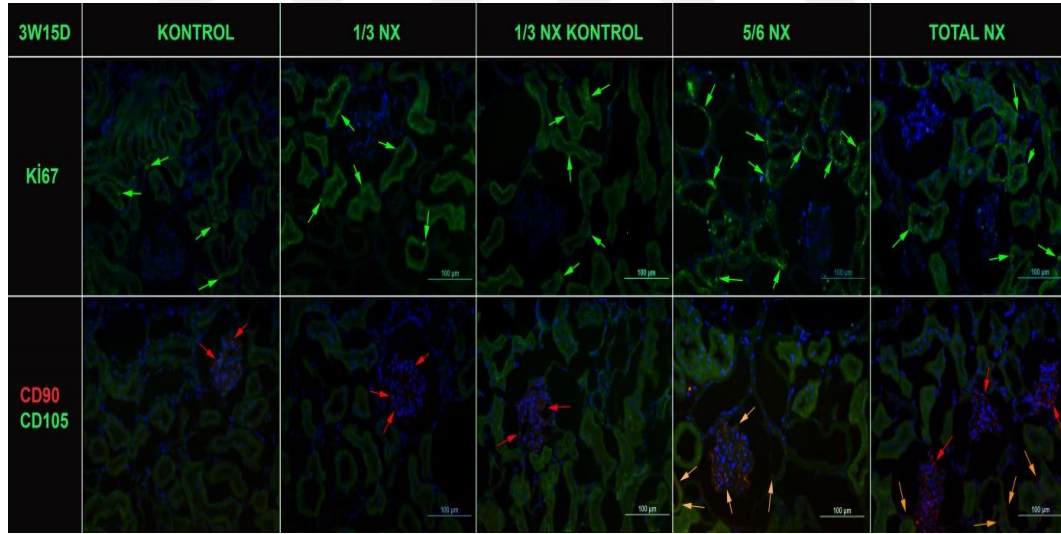
	BUN (mg/dl)			Kreatinin (mg/dl)		
	8 haftalık ergin genç			8 haftalık ergin genç		
	15.gün	30.gün	60.gün	15.gün	30.gün	60.gün
<i>1/3 NX</i>	20.1±3.6	24.5±2.1	21.6±1.8	0.5±0.03	0.5±0.08	0.3±0.1
<i>TTNX</i>	25±3.6*	29.8±2.1*	25±4.5*	0.5±0.1	0.5±0.2	0.5 ±0.08
<i>5/6 NX</i>	48±28*	36.5±11*	36±11*	0.7±0.3	0.5±0.1	0.5±0.1
Kontrol	19±2*	20±1.5*	22 ±3*	0,3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.6

(* $p<0.05$)

4.3. Proliferasyon (Ki67) ve Kök Hücre Belirteçleri (CD90-CD150)

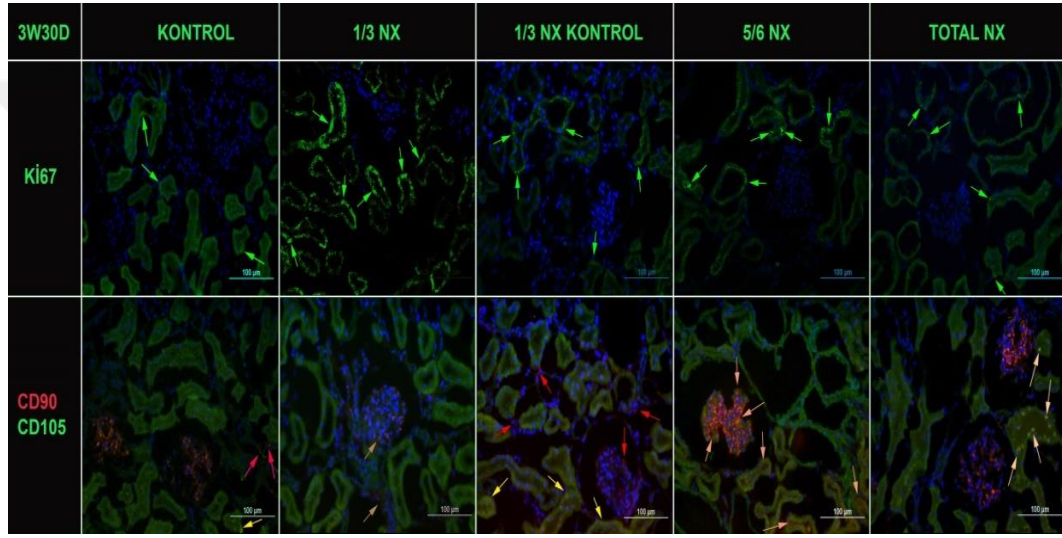
Bulguları

3 haftalık sıçanlarda nefrektomi sonrası 15. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon markerı Ki67 ve kök hücre belirteçleri CD90, CD105 immunofloresan yöntemle incelendi. Proliferasyon belirteci Ki67'nin tubüllerde boyanma gösterdiği 1/3 nefrektomi ve özellikle 5/6 nefrektomi grubunda daha fazla işaretlenme olduğu izlendi. Kök hücre işaretleyicisi olarak kullanılan CD90 ve CD105 boyamalarında; CD90'ın glomerülde şiddetli boyanma gösterdiği, CD105'in ise tubüllerde kuvvetli, glomerülde zayıf olarak boyandığı izlendi. Kök hücre belirteçlerinin 1/3 nefrektomi ve 5/6 nefrektomi gruplarında artmış olduğu, nefrokteminin kök hücre havuzunu artırdığını düşündüren görüntüler elde edildi. Her iki belirtecin işaretlediği kök hücre karakteri gösteren işaretlemeler 5/6 nefrektomi ve tek taraflı total nefrektomi grubunda hem glomerülde, hem de tubüllerde izlendi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Üç haftalık sıçanlarda nefrektomi sonrası 15. günde Ki67 ve CD90-105 boyanmaları. Ki67 sadece tubüllerde izlenirken (yeşil oklar), CD90-105 glomerul ve inter tubüler alandaki stromal hücrelerde izlendi (kırmızı oklar). Yaygın olmamakla birlikte, her ikisinin de boyandığı kök hücreler de (turuncu oklar) izlenmektedir.

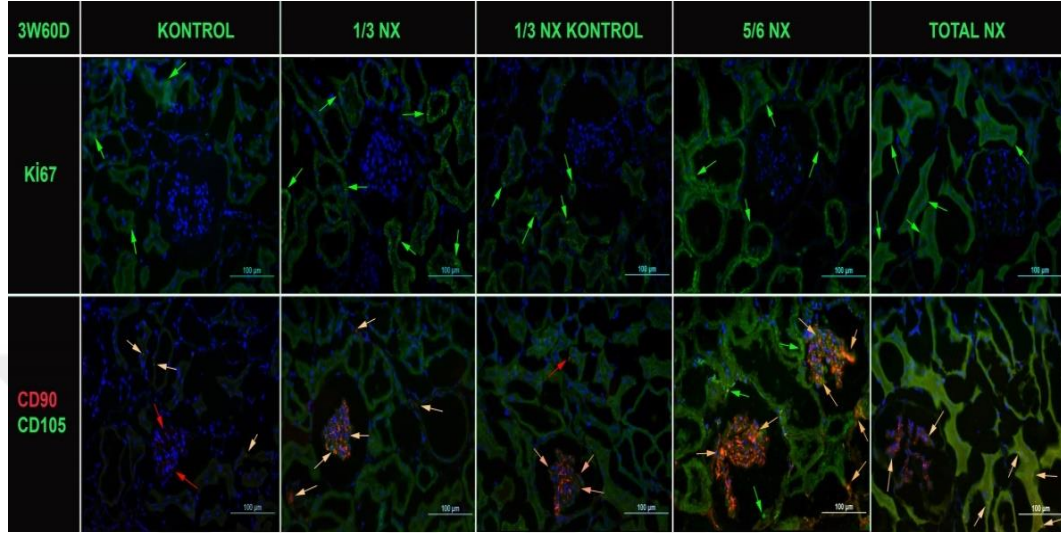
Üç haftalık sıçanlarda nefrektomi sonrası 30. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 ve kök hücre belirteçleri CD90- CD105 immunofloresan boyamaları incelendiğinde; nefrektomi sonrası 15. güne benzer şekilde ancak daha şiddetli boyanmalar belirlendi. Nefrektomi sonrası proliferasyona yönelen hücre miktarının 1/3 nefrektomi ipsilateral, 1/3 nefrektomi kontralateral, 5/6 nefrektomi gruplarında proliferasyonun arttığı ve CD90,-CD105 boyanmasının özellikle glomerülde artmış olduğu izlendi. Bu artışın 30. günde 15. güne göre daha yüksek olduğu belirlendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Üç haftalık sıçanlarda nefrektomi sonrası 30. günde Ki67 ve CD90-105 boyanmaları. Proliferasyon markırı Ki67 (yeşil oklar) ve kök hücre markırları CD90 (kırmızı oklar), CD105, CD90-105 belirteçlerinin her ikisinin de boyandığı kök hücreler (turuncu oklar) izlenmektedir.

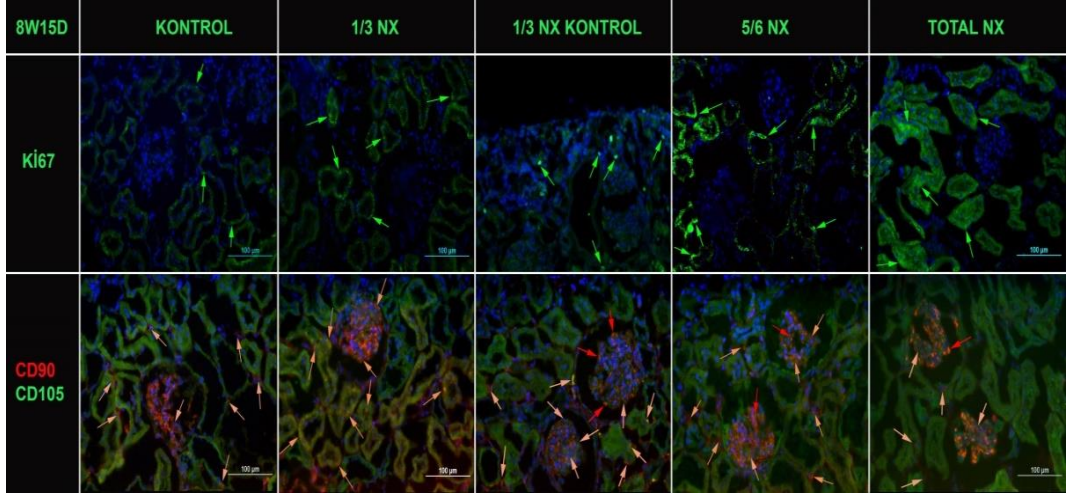
3 haftalık sıçanlarda nefrektomi sonrası 60. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 ve kök hücre belirteçleri CD90-CD105 immunofloresan boyamaları incelendiğinde; Ki67 boyanmalarının nefrektomi sonrası 30. güne benzer şekilde olduğu izlenirken, CD90-105'in birlikte boyandığı kök hücre boyanmalarının 15. ve 30. günlere göre hem glomerülde, hem de intertübüler hücrelerde daha yaygın olduğu görüldü. CD90 boyanması nefrektominin postoperatif 15. gün değerlendirmesinde glomerüllerle sınırlıyken, 30 günden itibaren intersitisyel alanda ve tubüllerde izlenmeye başladığı, 60 günde ise işaretli hücre miktarının daha fazla ve boyanma şiddetinin daha yüksek

olduğu belirlendi. 30. günden itibaren proksimal tubül çaplarında genişlemenin proliferatif hücre aktivasyonunun bir göstergesi olabileceği değerlendirildi (Şekil 4.3).



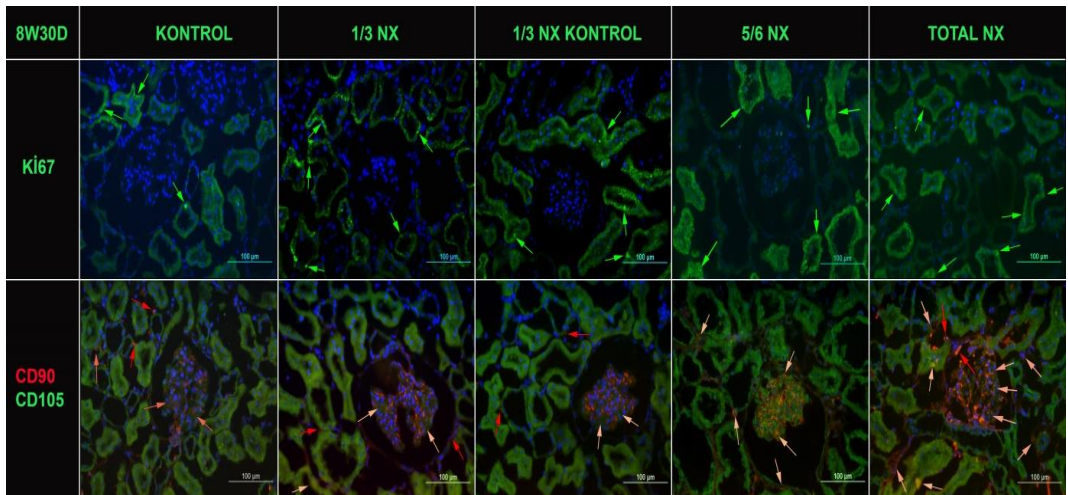
Şekil 4.3. Üç haftalık sıçanlarda nefrektomi sonrası 60. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 (yeşil oklar) ve kök hücre belirteçleri CD90 (kırmızı oklar), CD105 (yeşil oklar) immunofloresan boyamaları görülmektedir. CD90-105 belirteçleri her ikisinin de boyandığı kök hücreler (turuncu oklar) izlenmektedir.

Sekiz haftalık ergin sıçanlarda nefrektomi sonrası 15. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 ve kök hücre belirteçleri CD90, CD105 immunofloresan boyanmaları incelendiğinde; ergin sıçanlarda Ki67 boyanmalarının genç hayvanlardakine benzer olduğu belirlendi. Ki67 pozitif hücrelerin 5/6 nefrektomi grubunda diğer gruplardan daha fazla olduğu belirlendi. CD90-105 boyanmalarıysa genç hayvanlara göre daha yüksek izlendi. Boyanmaların hem tubüllerde, hem de glomerülde daha yaygın ve şiddetli olduğu belirlendi. CD90-105 pozitif kök hücre boyanmalarının 5/6 nefrektomi grubunda intertübüler stromal hücrelerde, glomerüler boyanmaların ise 5/6 nefrektomi ve Total nefrektomi grubunda daha şiddetli ve çok sayıda olduğu belirlendi (Şekil 4.4).



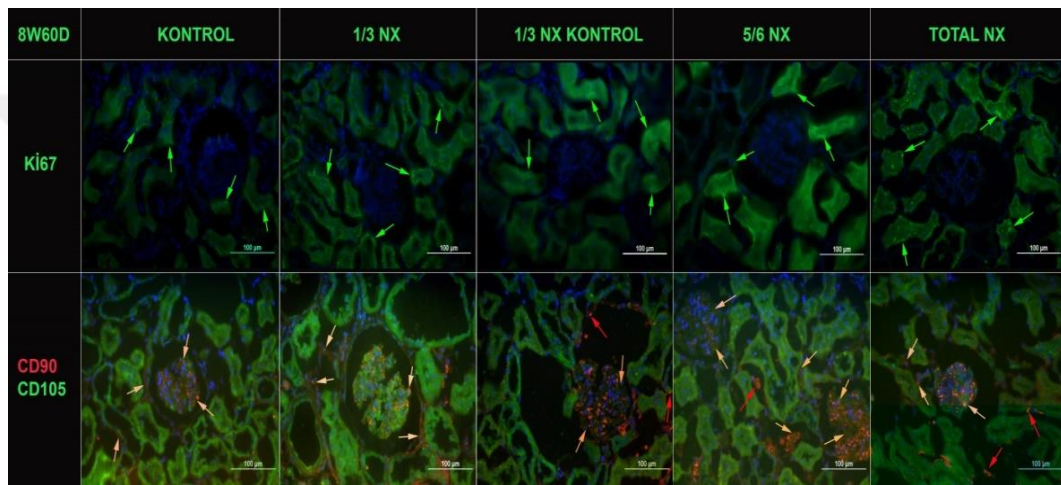
Şekil 4.4. Sekiz haftalık ergin sıçanlarda nefrektomi sonrası 15. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 (yeşil oklar) ve kök hücre belirteçleri CD90 (kırmızı oklar), CD90-105 kök hücre boyanma (turuncu oklar) örnekleri izlenmektedir.

Sekiz haftalık ergin sıçanlarda nefrektomi sonrası 30. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 ve kök hücre belirteçleri CD90, CD105 immunofloresan boyamalarında; Ki67 ekspresyonunun nefrektomize böbreklerde daha şiddetli olduğu görüldü. 1/3 nefrektomi, 1/3 nefrektomi kontrolateral gruplarında daha yoğun olarak izlendi. CD90-105 kök hücre boyanmaları 5/6 nefrektomi grubunda hem intertübüler stromal hücrelerde, hem de glomerülde daha çok ve daha belirgindi (Şekil 4.5).

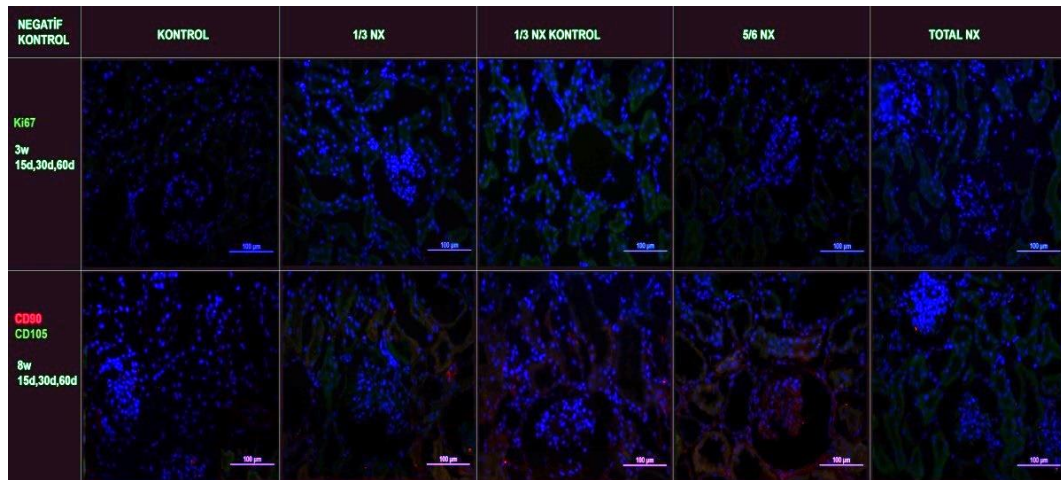


Şekil 4.5. Sekiz haftalık ergin sıçanlarda nefrektomi sonrası 30. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 (yeşil oklar) ve kök hücre belirteçleri CD90 (kırmızı oklar), CD90-105 boyanan kök hücreler (turuncu) izlenmektedir.

Sekiz haftalık ergin sıçanlarda nefrektomi sonrası 60. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 ve kök hücre belirteçleri CD90-CD105 immunofloresan boyanmaları incelendiğinde; Ki67 ekspresyonunun Total nefrektomi grubu dışındaki diğer gruplarda benzer şekilde 30. güne göre daha düşük olduğu belirlendi. CD90-105 pozitif hücrelerin hem glomerülde hem de intertübüler alanda 30. güne nazaran daha fazla olduğu görüldü. CD90-105 pozitif kök hücreleri tek taraflı total nefrektomi ve 5/6 nefrektomi gruplarında daha şiddetli ve fazla sayıda izlendi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Sekiz haftalık ergin sıçanlarda nefrektomi sonrası 60. günde diseke edilen böbrek örneklerinde proliferasyon belirteci Ki67 (yeşil oklar) ve kök hücre belirteçleri CD90 (kırmızı), CD105 (yeşil) immunofloresan boyanmaları, CD90-105 pozitif hücreler (turuncu oklar) görülmektedir.



Şekil 4.7. Gruplara uygulanan Ki67, CD90, CD105 immunflorens boyamalarının negatif boyamaları.

Nefrektomi gruplarında Ki67 boyanmaların değerlendirildiğinde, nefrektomi şiddetinin kalan böbrek kitlesinde proliferatif aktiviteyi harekete geçirdiği, özellikle bu aktivitenin 30 gün civarında daha fazla olduğu belirlendi. Proliferasyonun belirteci Ki67'nin üç haftalık kontrol hayvanlarında erginlerinkinden daha fazla olduğu belirlendi. Bu durum hayvanın büyüme sürecinde olmasıyla ilişkili olarak normal bir durum olarak değerlendirildi. Nefrektomi gruplarında proliferasyon ve kök hücre boyanmalarının nefrektomi şiddetine bağlı olarak daha yüksek bulunmakla beraber 60 günlük örneklerde CD90-105 pozitif kök hücre işaretlenmesinin özellikle glomerül ve intertubler alanlarda 8 haftalık genç hayvanlardan daha fazla olduğu belirlendi (şekil 4.7).



5. TARTIŞMA

Böbrek hastalıkları günümüzde önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Son yapılan çalışmalar, 20 yaş ve üzeri ölümlerin %11'ini böbrek hastalıklarının oluşturduğunu göstermektedir (101). Kompleks bir yapısının olması, yüksek metabolizma hızı, atık ve toksinler böbreği akut hasarlanmalara açık hale getirmekte ve sonuçta geri dönüşümsüz fonksiyon kaybı oluşabilmektedir (102). Her ne kadar diyaliz ve organ nakli bir çözüm gibi görünse de yüksek maliyetli bir tedavi olması, nakil için yeterli donör sayısının olmaması, nakil sonrasında ise uzun dönemde kullanılan immüsupresan ilaçların etkileri, gelişen fibrozis ve tubuler atrofi nedeniyle birçok hastada doku reddine neden olmaktadır (78, 103, 104). Tüm bunlar sağlık araştırmalarını böbrek hastalıklarına daha kalıcı bir çözüm bulmaya itmektedir.

İnsan ya da hayvan kök hücrelerinin parsiyel nefrektomi yapılan sıçanlara intravenöz yoldan verilmesinin hem yara iyileşmesine destek olabildiği, hem de nefrektomize böbrekte adaptif değişiklikler oluşturabildiği gösterilmiştir (11). Uzun zaman boyunca, böbreğin karaciğer gibi rejeneratif özelliğe sahip bir organ olmadığı düşünülmüştür. Ancak son yıllarda organ mühendisliğindeki ilerlemeler bu durumun böyle olmadığını, böbreğin düşünülen aksine kompleks bir yapıya sahip olmakla birlikte rejenerasyon kapasitesi bulunan bir organ olduğunu göstermiştir (105). Böbreğe bu özelliği, farklı kompartmanlarında (renal papilla, glomerül, renal tubül) bulunan kök hücre rezervleri vermektedir (105). *Sagrinati ve ark.* (78), *Angelotti ve ark.* (106), *Bruno ve ark.* (107) yaptıkları çalışmalarda glomerullerde kök hücre nişini, *Lindgren ve ark.* (79) proksimal tubüllerde kök hücre nişini, *Oliver ve ark.* (2004) renal papillada kök hücre nişi olduğunu göstermişlerdir. Ancak böbreğin kompleks bir yapıya sahip olması ve 28'den fazla farklılaşmış hücre içermesi rejenerasyonu daha zor bir hale getirmiştir (109). Bu nedenle rejenerasyonu sağlamak adına birden fazla farklılaşmış hücre verilerek böbreğin rejenerasyonunu sağlamak mümkün olmamıştır. Çalışmalar bir yandan rejenerasyonun tetikleyici ve kontrol mekanizmalarını anlamaya yönelik olmakla birlikte bir yandan da ekzojen materyallerle rejenerasyonun sağlanıp sağlanamayacağı yönünde ilerlemektedir. 2007 yılında *Kim ve ark.* (11,

109) tarafından farklı gestasyonel haftalarda (14.5 - 20.5 hafta) metanefrondan izole edilen f3tal h3creler, parsiyel nefrektomi yapıldıktan sonra kana verilmiş, 3 hafta sonra değerlendirildiğinde ise b3brek doku rejenerasyonun gerçekleşmiş olduğu g3sterilmiştir. *Yu ve ark.* (12) alışmasında deterjan perf3zyonu ile desell3larize hale getirilen b3brek, parsiyel nefrektomi yapılan b3breğe nakledilmiş ve bu dokunun b3breğin rejeneratif belirteçlerini uyardığı (nestin, aquaporin-1 gibi) g3sterilmiştir. Ancak bu uyarılmanın mekanizması hen3z anlaşılamamıştır.

B3breğin rejeneratif kapasitesinin varlığını g3stermeye y3nelik hayvan deneyi modellerinin çoğunluğu iskemi-reperf3zyon hasarına b3breğin vereceği yanıt g3r3lmek 3zere tasarlanmıştır (111, 144). Kullanılan iskemi-reperf3zyon hasarlanması ile b3brekteki k3k h3crelerin varlığı g3sterilmiştir. Ancak farklı yaş gruplarında ve birden fazla farklı nefrektomi modeli kullanılarak yapılan, b3breğin rejeneratif potansiyelini etkileyecek tetik mekanizmasını bu açıdan g3steren çalışma bulunmamaktadır. İskemi sonrasında uyarılacak inflamatuvar h3cre yanıtı b3breğin proliferatif aktivitesine karşı bir etki oluşturacağı ve fibroz kaskadını da uyaracağından, çalışmamızda kullanılan artık b3brek modeli ile b3breklerin doku/vol3m kaybının kendisinde var olan k3k h3cre rezervi 3zerinden rejeneratif yanıtını destekleyici sonuçların elde edilebilecek bir deney modeli oluşturulmuştur. Çalışmamızda, nefrektomi tekniklerinin genel mortalitesi %7,5 olarak saptanmış ve kaybedilen sıçanların yerine yenisi koyularak çalışma başarılı bir şekilde bitirilebilmiştir.

Sıçanlar doğum sonrasında yetişkin ağırlığa ulaşana kadar g3nde ortalama 5-10 g gıda alırlar. İkinci aydan sonra erkek sıçanlar ortalama 250-300 g, dişi sıçanlar ise ortalama 200-250 g olurlar (131, 132). *Ingrid ve ark.* (133) 2015 yılında parsiyel nefrektomi sonrasında b3brekteki fonksiyonel ve histolojik değişiklikleri g3stermek için d3zenledikleri çalışmada, sıçanların erken d3nemde ağırlıklarında azalma olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda nefrektomi sonrasında kilo alımının olduğu ancak sağlıklı sıçanların değerlerine yetişemediği g3r3lm3řt3r. Bu kilo kaybının da literat3r verileri baz alındığında (135), nefrektomi sonrası d3nemde hasar g3ren tub3ller nedeniyle protein kaybı ve elektrolit bozukluklarına bağlı olduğunu d3ř3nd3rm3řt3r.

Davies ve ark. (134) çalışmasında parsiyel nefrektomi sonrasında başlangıçta nefronlarda kompensatuvar hipertrofi ve fonksiyonel adaptasyon (hiperfiltrasyon) gelişmiştir. Daha sonrasında ise tabloya ilerleyici fokal segmental ya da global sklerozla birlikte proteinüri, üremik toksinlerde artış ve böbrek fonksiyonlarında bozulma eklenmiştir. BUN ve kreatinin böbrek hasarlanmasında yaygın olarak kullanılan belirteçlerdir. *Kren ve ark.* (135) yaptıkları bir çalışmada, iki adet segmental damara ligasyon uyguladığı deneysel nefrektomi grubunda kreatinin seviyesini ortalama 0.85 mg/dl, bir damara ligasyon uyguladığı grupta ise ortalama 0.4 mg/dl bulmuştur ve bu değerler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek olarak saptanmıştır. Çalışmamızda ise deney gruplarının kreatinin değerleri, sıçanların yaşları ve nefrektomi tekniklerinden bağımsız olarak tüm postoperatif dönemlerde kontrol gruplarındakiler ile karşılaştırıldığında normal olarak bulunmuştur. Böbrek parankiminin %70'inin (5/6 nefrektomi) uzaklaştırıldığı, *Davies ve ark.* (134), *Mathew ve ark.* (136), *Maizel ve ark.* (137), çalışmalarında postoperatif 30. günden sonra böbrek yetmezliğinin geliştiği görülmüş ve BUN artışını göstermişlerdir. Mevcut çalışmamızda böbrek doku kaybına paralel olarak BUN değerinde artış görülmüş, ancak adaptasyon süresinde 60. güne kadar bu değerde düşme görülmüştür. Bu düşüş böbreğin, başta toksik maddelerin atılımından asıl sorumlu olan proksimal tübüllerin, renal hasarlanmaya karşı proliferatif aktivitesinin artışına bağlı gerçekleştiğini düşündürmektedir.

Oehring ve ark. (119) uranilnitrat toksikasyonu, 5/6 nefrektomi ve her ikisinin birlikte yapıldığı bir deneysel modelde toksik maddede daha fazla olmak üzere, 5/6 nefrektomi sonrasında epitelyal - mezenkimal geçişin arttığını, fibroblastik aktivite artışını da alfa SMA ve vimentin proteinleri ile göstermiştir. Bu çalışma, böbrekteki tamir mekanizmalarının, memelilerde matür dokularda diferansiasyonunun olmaması nedeniyle, rejenerasyon değil rejeneratif hipertrofi olarak belirtilmesi gerektiği belirtmiştir (114).

Bugüne kadar hasarlanmış bir böbreğin erişkin memeli hayvan modellerinde yeniden oluşup oluşmadığını göstermeye yönelik çalışmalar yapılmış, ancak başarılı olunamamıştır (102). Henüz memelilerde yeni nefron oluşumu gösterilemese de alt sınıf vertebralılarda da gösterilmiştir. *Elger ve ark.* (110)

“*Elasmobranch Leucoraja Erinacea*” balığında parsiyel nefrektomi yaptıktan sonra rejenerasyonun olduğunu gösteren bir çalışma yapmıştır. Yapmış oldukları çalışmada yeni nefron oluşumunu sağlayan neonefrojenik bir zon olduğu gösterilmiştir. Bu zon kök hücre benzeri hücreleri barındırmaktadır ve bu zon sayesinde böbrekte hacim kaybı yeni nefronların gelişmesine, hasarlanan böbreğin iyileşip büyümesine yardımcı olmuştur. Her ne kadar böbreğin yeniden kök hücrelerden farklılaşarak geliştiği gösterilemese de, akut böbrek hasarlanması sonrasında böbreğin kendini tamir edebilme kapasitesi sayesinde renal fonksiyonların geri kazanılabileceği düşünülmektedir. Bu geri kazanım hızlı renal proliferasyon yanıtı ile mümkündür. Ancak hasarlanan dokulara yanıt veren hücrelerin hangi kök hücre rezervinden kaynaklandığı net olarak gösterilememiştir (111, 112). Çalışmamızda, 3 haftalık yavru sıçanlarda kök hücre (CD90- 105) boyanması nefrektominin postoperatif 15. gün değerlendirmesinde glomerüllerle sınırlıyken, 30. günden itibaren intersitisyel alanda ve tubüllerde izlenmeye başladığı, 60. günde ise işaretli hücre miktarının daha fazla ve boyanma şiddetinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu da adaptasyon sürecine geç dönemde tüm hücrelerin destek olduğunu düşündürmektedir. Ancak bu deneklerin 3 haftalık olduğu ve büyüme sürecinde olduğu da düşünülmelidir.

Uzun yıllardır böbrek tubül epitelinin hasarlanma sonrasında hemostazını nasıl sağladığı sorusu gündemdedir. Bazı çalışmalar doku yenilenmesinin farklılaşmış hücrelerin bölünmesi ile olduğunu söylerken (123-125), bazı çalışmalar bu tubül epitelyum hücrelerinin kök hücrelerin öncülü gibi davranıp bu şekilde fonksiyon gösterdiğini belirtmiştir (80, 81, 126, 127). 2007 yılında *Alexander ve ark.* (128) tubüllerin proliferatif kapasitesini göstermek üzere düzenlendiği çalışmada hasarlı böbreğe farklılaşmış tubül epitelyum hücrelerinin proliferatif olarak yanıt verdiği, klasik kök hücre döngüsündeki gibi yavaş ya da hızlı döngülü kök hücrelerin rastlanmadığını göstermiştir. Yaptığımız çalışmada ise farklı oranlarda yapılan nefrektominin, nefrektomi sonrası 30. günden itibaren kök hücre rezervinde artış olduğunu gösterilmiştir. 3 haftalık yavru sıçanlarda CD90-105’in birlikte boyandığı kök hücre boyanmalarının 15. ve 30. günlerde 1/3 nefrektomi ve 5/6 nefrektomiye göre hem glomerülde, hem de intertübüler hücrelerde daha yaygın olduğu görülmüştür. Bu kök hücre aktivitesinin

postoperatif 60. günde ise diğer günlere göre daha fazla olduğu görülmüştür. Ergin sıçanlarda ise postoperatif 15. günden itibaren başlayan bu CD90-105 boyanmaları genç hayvanlara göre daha yüksek izlenmiştir. Boyanmaların hem tubüllerde hem de glomerülde daha yaygın ve şiddetli olduğu belirlenmiştir. Bu şiddetli ve çok sayıda olan boyanmaların doku kaybının daha fazla olduğu 5/6 nefrektomi ve total nefrektomi gruplarında belirginleştiği görülmüştür. CD90-105 pozitif kök hücre boyanmalarının 5/6 nefrektomi grubunda intertübüler stromal hücrelerde, glomerüler boyanmaların ise 5/6 nefrektomi ve total nefrektomi grubunda daha şiddetli ve çok sayıda olduğu belirlenmiştir. Bu bağlamda, renal doku tamirinde nefrektomi ile tetiklenen mekanizmaların böbreğin kök hücre rezervini artırarak etkinlik gösterdiğini düşünmekteyiz. *Fine ve ark.* (120) sıçanlara yapılan parsiyel nefrektomi sonrasında, böbrek kütlesinde azalma ile birlikte postoperatif 7-10. günden itibaren geride kalan böbrek dokusunda adaptif hipertrofik büyümeyi göstermiştir. *Benjamin D ve ark.* (113) iskemik böbrek hasarı sonrasında renal tamire ekstratübüler kök hücrelerin katkısının olmadığını gösteren bir çalışma yapmıştır. *Vogetseder ve ark.* (128, 129) böbrekte tübüler proliferasyonun kök hücrelerde herhangi bir değişiklik olmaksızın farklılaşmış hücrelerin proliferasyonu ile gerçekleştiğini göstermiştir. Yine son yaptıkları bir çalışmada renal proksimal tübüllerin proliferatif kapasitesinin hücrelerin, hücre çoğalma döngüsünün G1 fazında bekletmesi, böylece proliferasyon süresinin kısalmasını sağladığını, ancak yine de kök hücrelerde bir değişiklik olmadığını bildirmiştir (130). Yapılan diğer çalışmaların aksine, çalışmamız renal tamir mekanizmasında yalnız tübül ve glomerüllerdeki kök hücrelerin rol almadığını, eş zamanlı olarak intersitisyel kök hücre rezervinin de katkıda bulunduğunu göstermiştir.

Benjamin D. ve ark. (113) 2008 yılında yapmış olduğu bir çalışmada, iskemik renal hasarlanma sonrasında tamir yanıtının sadece tübüler epiteldeki mezenkimal hücrelerin proliferasyonu ile olduğu gösterilmiştir. *Sidorova ve ark.* (114) erken postnatal dönemde tavşanlara yapılan tek taraflı nefrektomi sonrasında glomerüllerde proliferasyon olduğunu göstermiştir. Ancak daha sonra bu bulguyu destekleyecek yeni bir veri bulunmamıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada 3 haftalık süttten kesilmiş yavru ve 8 haftalıktan büyük genç ergin

sıçanlara farklı oranlarda yapılan nefrektomi sonrasında, tüm gruplarda postoperatif 15. günden itibaren artış gösteren parenkimal hücrelerde proliferatif aktivitenin olduğu görülmüştür. 30. günden itibaren ise proksimal tubül çaplarında genişleme olmaya başlamış ve bu bulgu da proliferatif hücre aktivasyonunun bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Proksimal tübüllerdeki bu aşırı proliferatif aktivitenin bu nefron segmentinin metabolik olarak diğer nefron bölümlerine göre daha aktif olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (115-118). Proliferatif etkinlik yavru sıçanlarda 5/6 nefrektomide özellikle daha fazla olarak görülmüştür. 8 haftalık sıçanlarda Ki67 boyanmalarının yavru sıçanlara benzerlik gösterdiği ancak 8. haftada bu artışın azalmış olduğu görülmüştür. Bu durumun renal hasarlanma sonrası fibrotik aktivitenin artışına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Fine (120), 5/6 nefrektomi sonrasında renal kitle azalmasının postoperatif 7-10. günden itibaren geride kalan böbrek dokusunda hipertrofik değişikliklerin oluşmasına neden olduğunu, ancak postoperatif 30. günden itibaren adaptasyon döneminde glomeruler skleroz, tübüler atrofi, hipertansif vasküler değişikliklerle birlikte giden böbrek büyümesinde gerileme, renal hücre çevresinde apoptotik hücrelerin birikimi ve tübüler intersitisyel hasarlanma ve fibrozda artış olduğunu göstermiştir (121, 122). Bu bulgular böbrekte hacimsel azalma sonrasında 8. haftada parenkimal proliferatif aktivitenin sınırlandırılmasını destekler niteliktedir.

Bu çalışma, renal doku kaybı sonrasında böbrekteki kök hücrelerle ilişkili adaptasyon mekanizmasını anlamak amacıyla yapıldı. Bu amaca yönelik olarak farklı oranlarda yapılan parsiyel / total nefrektominin ve yaş faktörünün böbrek fonksiyonları, kök hücre rezervi ve parankimal hücre proliferasyonuna etkisi sıçanlarda oluşturulan bu deneysel modelin yukarıdaki bölümlerde belirtilen sonuçlarının gelecek araştırmalar için kaynak olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda preoperatif kontrol ve deney gruplarının kan örneklerinin alınmamış olması ve yalnızca biyokimyasal parametrelerden BUN ve kreatinin çalışılması, kök hücre ve proliferasyon belirteçlerinin istatistiksel olarak değerlendirilememesi ve nefrektominin geç dönem etkilerini gösterememesi, çalışmamızın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada elde edilen veriler literatürdeki bilgiler ile birlikte değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- Kontrol gruplarında sıçanların ağırlık değişimleri hem yaşlara, hem de nefrektomi türlerine göre anlamlı değişiklik göstermemiştir. Nefrektomi gruplarında ise ağırlık artışının kontrollere göre anlamlı olarak daha az olduğu görülmüştür ($p<0.05$). 5/6 nefrektomi yapılan hem 3 haftalık hem de 8 haftalık sıçanların 60. gündeki ağırlıkları 1/3 ve tek taraflı total nefrektomi yapılanlar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$). Bu durumun nefrektomi sonrasında sıvı alımının kısıtlanmaması, özel diyet verilmemesi sonucunda gelişmiş olabileceğini düşündürmüştür.
- Nefrektomi sonrasında böbrek yetmezliği belirteçleri olan BUN ve kreatinin değerlendirmesinde; diğer çalışmalara paralel olarak erken dönemde BUN sonuçlarının tüm nefrektomilerde kontrol gruplarına anlamlı olarak yüksek olduğu ancak 60. gün değerlendirmesinde düşüş olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar tubüler ve glomerüler proliferatif aktivitenin artışıyla uyumluluk göstermiştir. Kreatinin değerleri ise tüm gruplarda kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte normal sınırlar içerisinde saptanmıştır.
- Böbrek eski dönemlerde düşünüldüğünün aksine rejenerasyon kapasitesine sahiptir. Bunu da renal tubül, renal papilla ve glomerülde yer alan kök hücreler sağlamaktadır.
- Böbreğe rejeneratif kapasiteyi yapısında bulundurduğu kök hücreler vermektedir. Yapılan tek bir çalışmada renal hasarlanma sonrasında yeniden böbrek oluşumu bir balık türünde gösterilebilinmiştir. Her ne kadar çalışmamızda tam bir rejenerasyon gösterilmiş olmasa da, parsiyel nefrektomi böbreğin kök hücre rezervini artırarak rejeneratif aktivitesinin varlığını göstermiştir. Mevcut deney modelimizde gösterildiği üzere kök hücre rezervi vizüel olarak değerlendirildiğinde postoperatif 15. gün artışın başladığı, 60. günde ise en yüksek düzeyine ulaştığı görülmüştür.

- Farklı nefrektomi teknikleri sonrasında kök hücre rezervinde artış, parenkimal proliferatif aktiviteye paralel olarak en fazla doku kaybının olduğu 5/6 nefrektomide görülmüştür. Bu artışı tek taraflı total nefrektomi izlemiştir.
- Böbrekteki bu rejeneratif kapasiteyi destekleyici bulgular, farklı nefrektomiler sonrasında ilk olarak 15. gün değerlendirmesinde tubüllerde başlamıştır. 30. ve 60. günlerde glomerül ve interstisyel hücrelerdeki artışın da eklenmesiyle devam etmiştir. Bu kök hücre rezervindeki artış birçok eski çalışmada yalnızca tubül epitelinde gösterilmiştir.
- Parsiyel nefrektomi sonrasında proliferatif aktivite üç haftalık sıçanlarda daha fazla iken kök hücre rezervinde artış, sekiz haftalık sıçanlarda daha fazla olarak görülmüştür. Proliferatif aktivitenin yüksek olmasını hayvanın büyüme sürecinde olmasıyla ilişkili olarak normal bir durum olarak değerlendirilmiştir.
- Kök hücrelerin rejeneratif kapasitesini gösterebilmesi için bir uyarana ihtiyacı vardır. Henüz bu uyarının net mekanizmasının ne olduğu eski yapılan çalışmalarda anlaşılamamakla birlikte, çalışmamızda da gösterdiğimiz üzere böbrek doku kaybı nedenlerden birini oluşturmaktadır. Farklı oranlarda yapılan nefrektomi modelleri göstermiştir ki böbrek hacminin %30 kaybı bile kontrol gruplarına göre kök hücre rezervi ile birlikte tubüler, glomeruler ve interstisyel hücrelerin proliferatif aktivitelerinin artışına katkıda bulunmuştur. Bu artış hacim kaybının 15. gününde başlamış, 30. gün en yüksek düzeyine ulaşmıştır. Ancak 60. günde bir azalma göstermiştir. Bu da renal tamir mekanizmalarının hasarlanma sonrasında eş zamanlı büyümeye karşı mekanizmaları da uyardığını düşündürmüştür.
- Böbreğin kök hücre nişleri ve rejenerasyonu uyaracak yolları bulduktan sonra bundan sonraki aşamanın bu kök hücrelerin diferansiasyon yollarının bulunması gerektiğini ve çalışmaların bu yönde devam etmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

7. ÖZET

Parsiyel / Total Nefrektomi Yapılan Sıçanlarda İpsilateral ve Kontralateral Böbrekteki Kök Hücre Rezervinin Değerlendirilmesi

Bu çalışma, renal doku kaybı sonrasında böbrekteki kök hücrelerle ilişkili adaptasyon mekanizmasını anlamak amacıyla yapıldı. Bu amaca yönelik olarak farklı oranlarda yapılan parsiyel / total nefrektominin ve yaş faktörünün böbrek fonksiyonları, kök hücre rezervi ve parankimal hücre proliferasyona etkisi sıçanlarda oluşturulan deneysel bir model üzerinde araştırıldı.

Çalışmamızda sütten kesilmiş 3 haftalık yavru sıçanlar ve 8 haftalık ergin genç sıçanları içeren 2 ana grup oluşturuldu. Her grubun kendi içerisinde kontrol ve deney grubu mevcuttu. Kontrol grupları kendi yaş grubu içerisinde 3 gruba ayrıldı ve her bir kontrol grubunda 10 erkek sıçan kullanıldı. Deney grubu ise kendi yaş grubu içerisinde 9 gruba ayrılıp, her grupta 6 erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlara tek taraflı total nefrektomi, 1/3 nefrektomi ve 5/6 nefrektomi yapılarak postoperatif 15, 30 ve 60. gün değerlendirmeleri yapıldı. Deneyin başlangıcında ve sonunda sıçanların ağırlıkları ölçüldü. Deney sonlandırılmadan kan ve böbrek örnekleri alınarak biyokimyasal ve immünohistokimyasal değerlendirilmeleri yapıldı. Biyokimyasal parametre olarak kan örneklerinde BUN ve kreatinin ölçümleri yapıldı ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Doku örneklerinde ise kök hücre rezervi immünfloresan çift boyamayla (CD90 ve CD105), proliferasyon ise immünohistokimyasal olarak Ki67 boyamasıyla vizüel olarak değerlendirildi.

Çalışmamızda kontrol grubundaki sıçanları ağırlık değişimleri hem yaşlara hem de nefrektomi türlerine göre anlamlı değişiklik göstermedi. Deney grubunun preoperatif ve postoperatif ağırlık ölçümlerinde sıçanlarda ağırlık artışı kontrollere göre daha az olmakla birlikte farklar istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). 5/6 nefrektomi yapılan hem 3 haftalık hem de 8 haftalık sıçanların 60. gündeki ağırlıkları 1/3 ve tek taraflı total nefrektomi yapılanlar ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$).

Parsiyel/total nefrektomi sonrasında BUN değerleri tüm nefrektomi gruplarında, kontrol gruplarına göre artış göstermekle birlikte bu artış yalnızca 1/3

nefrektomi yapılan sıçanlarda anlamlı olarak bulunmadı. 5/6 nefrektomi grubunda BUN değeriindeki artış postoperatif 15. gün diğer gruplara göre daha belirgindi. Deney gruplarının kreatinin değeri ise sıçanların yaşları ve nefrektomi tekniklerinden bağımsız olarak tüm postoperatif dönemlerde kontrol gruplarındakiler ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Her iki yaş grubu ve tüm postoperatif dönemler göz önüne alındığında, en fazla kök hücre rezervinin 5/6 nefrektomi yapılan 8 haftalık sıçanlarda olduğu bulundu. Çalışmamızda, en yüksek proliferatif aktivite tek taraflı total nefrektomi ve 5/6 nefrektomi yapılan gruplarda saptandı. Bu artış postoperatif 15. günde tubüllerde başlamış, 60. günde en yüksek düzeyine ulaşarak glomerül ve interstisyel hücrelerde de görülmüştür. Yaş gruplarına göre yapılan değerlendirmede proliferatif aktivitenin 3 haftalık sıçanlarda daha fazla olduğu bulundu.

Bu deneysel çalışma, böbreklerin doku/volüm kaybına kendisinde var olan kök hücre rezervi üzerinden rejeneratif yanıt verebileceğini desteklemiştir. Bu yanıt, böbreği ilgilendiren ve doku/volüm kaybına yol açan klinik durumların önlenmesi ve giderilmesi için bir potansiyel taşımaktadır. Ancak bu bulguların daha ileri deneysel ve klinik araştırmalarla irdelenmesine gereksinim vardır.

Anahtar kelimeler: Sıçan, parsiyel nefrektomi, kök hücre

8. ABSTRACT

Assessment of Cell Reserve in the Ipsilateral and Contralateral Kidney After Partial / Total Nephrectomy

In this study, In order to understand the adaptation mechanism of the kidney after partial / total nephrectomy performed at different rates, The effect of age factor on reserve and proliferation was evaluated experimentally to determine whether the stem cell reserve increased in the renal compensatory mechanism and whether there was a difference in the effect of nephrectomy on reserve and proliferation.

In our study, 2 main groups were formed, including 3 week old pups and 8 week old rats. Each group had its own control and experiment group. Control groups were divided into 3 groups in their age group and 10 male rats were used in each control group. Experimental group was divided into 9 groups in their age group and 6 male rats were used in each group. The rats underwent single-sided total nephrectomy, 1/3 nephrectomy and 5/6 nephrectomy, and post-operative 15, 30 and 60 day evaluations were performed. The weights of the rats were measured at the beginning and end of the experiment. Biochemical and immunohistochemical evaluations of blood and kidney samples were made before the end of the experiment. BUN and creatinine measurements were done as biochemical parameters and statistically compared. In the tissue samples, the stem cell reserve was evaluated by immunofluorescence double staining (CD90 and CD105), and the proliferation was visualized by immunohistochemical Ki67 staining.

In our study, weights of rats in the control group did not show any significant change with respect to both age and nephrectomy types. The preoperative and postoperative weight measurements of the experimental group were significantly lower than the weight increase controls ($p < 0.05$). Weights on day 60 of both 3-week and 8-week rats with 5/6 nephrectomy were significantly lower than 1/3 and unilateral total nephrectomy ($p < 0.05$).

BUN values after partial/total nephrectomy increased in all nephrectomy groups compared to control groups, but this increase was not found significant in only 1/3 nephrectomized rats. The increase in BUN in the 5/6 nephrectomy group was more prominent on the 15th postoperative day than in the other groups. Creatinine values of the experimental groups were not significantly different in all postoperative periods, regardless of the age of the rats and nephrectomy techniques, when compared to the control groups ($p > 0.05$).

Given both age groups and all post-operative periods, we found that the most stem cell reserve was in 8-week-old rats with 5/6 nephrectomy. In our study, the highest proliferative activity was detected in unilateral total nephrectomy and 5/6 nephrectomy groups. This increase was observed in glomeruli and interstitial cells, reaching the highest level on day 60, in tubules at postoperative 15th day. Proliferative activity was found to be higher in the 3-week-old rats than in the age-matched rats.

This experimental study supports that the kidneys may respond to tissue / volume loss regeneratively through its own stem cell reserve. This response has potential for prevention and treatment of kidney-related and clinical conditions leading to tissue / volume loss. However, these findings need further experimental and clinical investigations.

Key words: Rat, partial nephrectomy, stem cell

9. KAYNAKLAR

1. Jha V, Garcia- Garcia G, Iseki K, Li Z, Nacker S, Platter B, et al. Chronic kidney disease, global dimension and perspectives. *Lancet* 2013; 382: 260-72.
2. Karellas ME, O'Brien MF, Jang TL, Bernstein M, Russo. Partial nephrectomy for selected renal cortical tumors of > 7 cm. *BJU Int* 2010; 106: 1484-7.
3. Gupta GN, Peterson J, Thakore KN, Pinto PA, Linehan WM. Oncological outcomes of partial nephrectomy for multifocal for multifocal renal cell carcinoma greater than 4 cm. *J Urol* 2010; 184: 59-63.
4. Barlow LJ, Korets R, Laudano M, Mckiernan JC. Predicting renal functional outcomes after surgery for renal cortical tumors: a multifactorial analysis. *BJU Int* 2010; 106: 489-92.
5. Breau RH, Crspen PL, Jimenez RE, Lohse GM, Blute ML. Outcome of stage T2 or greater renal cell cancer treated with partial nephrectomy. *J Urol* 2010; 183: 903-8.
6. Lane BR, Gill ISS. 7 year oncological outcomes after laparoscopic and open partial nephrectomy. *J Urol* 2010; 183: 473-9.
7. Lane BR, Fergany AF, Weight GJ, Campbell SG. Renal functional outcomes after functional nephrectomy with extend ischemic intervals are better than after radical nephrectomy. *J Urol* 2010; 184: 1286-90.
8. Shimamura T, Morrison AB. A progressive glomerulosclerosis occurring in partial five-sixths nephrectomized rats. *Am J Pathol* 1975; 79(1): 95-106.
9. Fedorova LV, Tamirisa A, Kennedy DJ, Haller ST, Budnyy G, Shapiro L, Malhotra D. Mitochondrial impairment in the five-sixth nephrectomy model of chronic renal failure: proteomic approach. *BMC Nephrology* 2013; 14: 209.
10. Saxen L. Organogenesis of the Kidney. 19th ed. Cambridge 1987; 240.
11. Kim SS, Gwak SJ, Han J, Park HJ, Park MH, Song KW, et al. Kidney tissue reconstruction by fetal kidney cell transplantation: effect of gestation stage of fetal kidney cells. *Stem Cells* 2007; 25: 1393-401.

12. Yu YL, Shao YK, Ding YQ, Lin KZ, Chen B, Zhang HZ, et al. Decellularized kidney scaffold- mediated renal regeneration. *Biomaterials* 2014; 35: 6822-8.
13. Baltimore MD. Clinically Oriented Anatomy, Bobel Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore USA 2007; 279-349.
14. Yıldırım M. Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Gray's Anatomi. Ankara 2011; 359.
15. Yıldırım M. Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Gray's Anatomi. Ankara; Elsevier Limited 2011; 355-9.
16. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Ankara: Güneş Kitapevi 1997; 392-8.
17. Tekelioğlu M. Genel Tıp Histolojisi. İstanbul: Beta Basım Yayım 1998; 251-9.
18. Eroschenko VP. Di Fiore Histoloji Atlası. İstanbul, Palme Yayıncılık 2000; 251-9.
19. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji, Çeviri editörü Prof. Dr. Yener Aytekin. İstanbul, Barış Kitapevi 1993; 975-95.
20. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Ankara, Güneş Kitapevi 1997; 392-8.
21. Anthony L. Mescher. Junqueira's Basic Histology Text & Atlas. 13th Edition, McGraw-Hill Education, 2013. <http://necdetersoztip.blogspot.com.tr/2016/04/uriner-sistem-histolojisi.html>
22. Moore KL, Persaud TVN. The Developing Human: Clinically Oriented Embryology. 5th Edition. Saunders: Philadelphia Elsevier 1993; 243-6.
23. Başaklar C. Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları. Ankara, Palme Yayıncılık 2006; 1199-204.
24. Başaklar C. Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları. Ankara, Palme Yayıncılık 2006; 1200-4.
25. Yaviloglu N, Bayraktar Y, Ergenekon E. Nefrektomi endikasyonları ve olguların seçimi. *The Eurasian J Medicine* 69; 251-7.
26. Kubba AK, Hollins GW, Deane RF. Nephrectomy: changing indications, 1960-1990. *Br J Urology* 1994; 74: 274-8.
27. Nash PA, Bruce JE, McAninch JW. Nephrectomy for traumatic renal injuries. *J Urology* 1995; 153: 609-11.

28. Andonian S, Janetscheck G, Lee BR. Laparoscopic partial nephrectomy: an update on contemporary issues. *Urol Clin N Am* 2008; 35: 385-96.
29. Herr HW. Partial nephrectomy for unilateral renal carcinoma and a normal contralateral kidney. *J Urol* 1999; 161: 33-5.
30. Fergany AF, Hafez KS, Novick AC. Long-term results of nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: 10 year follow up. *J Urol* 2000; 163: 442-5.
31. Moll V, Becht E, Ziegler M. Kidney preserving surgery in renal tumors: Indications, techniques and results in 152 patients. *J Urology* 1993; 150: 319-23.
32. Ramon J, Goldwasser B, Raviv G, Jonas P, Many M. Long term results of simple and radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *Cancer* 1991; 67: 2506-11.
33. Ljunberg B, Cowan N, Hanbury DC, Hora M, Kuczyk MA, Merseburger AS, et al. Guidelines on renal cell carcinoma. European Association of Urology Guidelines 2012 edition.
34. Willimas CR, Pinto PA. Laparoscopic partial nephrectomy. Atlas of laparoscopic urologic surgery, first edition. Eds; Bischoff JT, Kavoussi LR, Philadelphia, Saunders 2007; 110-20.
35. Ghannam S, Bouffi C, Djouad F, Jorgensen C, Noel D. Immunosuppression by Mesenchymal Stem Cells: Mechanisms and Clinical Applications. *Stem Cell Research & Therapy* 201; 1-2.
36. Bongso A, Richards M. Best Practice Res Clinical Obstetric Gynaecology 2004; 18(6): 827-42.
37. Dinçer F. Ord. Prof. Dr. Süreyya Tahsin Aygün'ün Hayatı ve Bilimsel Çalışmaları. *AÜ Vet Fak Derg* 1982; 29(1-2): 256-76.
38. Mc Culloch EA, Till JE. Perspectives on the properties of stem cells. *Nat Med.* 2005; 11(10): 1026-8.
39. Bruder SP, Fink DJ, Caplan AI. Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy. *J Cell Biochem* 1994; 56(3): 283-94.

40. Tavassoli M, Crosby WH. Transplantation of marrow to extramedullary sites. *Science*. 1968 Jul 5; 161(3836): 54-6. Tavassoli M, Friedenstein A. Hemopoietic stromal microenvironment. *Am J Hematol* 1983; 15(2): 195-203.
41. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation* 1974; 17(4): 331-40.
42. Dexter TM, Moore MA, Sheridan AP. Maintenance of hemopoietic stem cells and production of differentiated progeny in allogeneic and semiallogeneic bone marrow chimeras in vitro. *J Exp Med* 1977; 145(6): 1612-6.
43. Owen M, Friedenstein AJ. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Found Symp* 1988; 136: 42-60.
44. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284(5411): 143-7.
45. Bianco P, Robey PG, Paul J. Simmons' Mesenchymal Stem Cells: Revisiting History, Concepts, and Assays. *Cell Stem Cell* 2008; 2(4): 313-9.
46. Andrews PW, Martin MM, Bahrami AR, Damjanov I, Gokhale P, Draper JS. Embryonic stem (ES) cells and embryonal carcinoma (EC) cells: opposite sides of the same coin. *Biochem Soc Trans* 2005; 33(Pt 6): 1526-30.
47. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292(5819): 154-6.
48. Park SS, Byeon YE, Ryu HH, Kang BJ, Kim Y, Kim WH, et al. Comparison of canine umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell transplantation times: involvement of astrogliosis, inflammation, intracellular actin cytoskeleton pathways, and neurotrophin-3. *Cell Transplant* 2011; 20(11-12): 1867-80.
49. Bongso A, Lee EH. *Stem Cells: From Bench to Bedside*. 1st ed. Singapore: World Scientific 2005; 14-35.

50. Wu KE, Derivation of Pluripotent Stem Cells from Cultured Human Primordial Germ Cells (1998), by John Gearhart et al. Embryo Project Encyclopedia. Arizona: Arizona Board of Regents 2010; 480: 965-8927.
51. Thompson LM, Ceja ME, Yang SP. Stem cell transplantation for treatment of sickle cell disease: bone marrow versus cord blood transplants. American Journal of Health-System Pharmacy 2012; 69(15): 1295-302.
52. Yamanaka S, Takahashi K. Induction of pluripotent stem cells from mouse fibroblast cultures. Tanpakushitsu Kakusan Koso 2006; 51(15): 2346-51.
53. French AJ, Adams CA, Anderson LS, Kitchen JR, Hughes MR, Wood SH. Development of human cloned blastocysts following somatic cell nuclear transfer with adult fibroblasts. Stem Cells 2008; 26(2): 485-93.
54. Chung Y, Klimanskaya I, Becker S, Li T, Maserati M, Lu SJ, et al. Human Embryonic Stem Cell Lines Generated without Embryo Destruction Cell Stem Cell 2008; 2(2): 103-90.
55. Guhr A, Kurtz A, Friedgen K, Löser P. Current state of human embryonic stem cell research: an overview of cell lines and their use in experimental work. Stem Cells 2006; 24(10): 2187-91.
56. Lovell-Badge R. The future for stem cell research. Nature 2001; 414(6859): 88-91.
57. Bosch TC. Hydra and the evolution of stem cells. Bioessays 2009; 31(4): 478-86.
58. Agata K, Umesono Y. Brain regeneration from pluripotent stem cells in planarian. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 2008; 363(1500): 2071-8.
59. Pfister D, De Mulder K, Philipp I, Kualess G, Hroudá M, Eichberger P, et al. The exceptional stem cell system of *Macrostomum lignano*: screening for gene expression and studying cell proliferation by hydroxyurea treatment and irradiation. Front Zool 2007; 4-9.
60. Solter D. From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research. Nat Rev Genet 2006; 7(4): 319-27.
61. Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji, Çev Ed. AC Başaklar. Ankara, Palme Yayınları 2005; 507. Doğan T. Fonksiyonel Anatomi. 9. ed. İstanbul, Güneş Kitapevi 2013; 261.

62. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger CA, Scott MP, et al. Molecular Cell Biology. New York: WH Freeman and Company 2004; 1050.
63. Lanza R, Klimanskaya I. Essential Stem Cell Methods. USA: Academic Press Elsevier 2009; 608.
64. Khalturin VI. A study of small magnitude seismic events during 1961-1989 on and near the Sts. Pageoph 2001; 158: 143-72.
65. Institute of Medicine, 1998, Stem Cells and the Future of Regenerative Medicine, National Academy Press, Washington 2005; 5(800): 624-42.
66. Akar AR, Arat M, Beksaç M, Can A, Çamurdanoğlu BZ, Çetinkaya DU, et al. Türkiye Bilimler Akademisi Raporları (20). Ankara 2009; 113.
67. Schöler HR, Knoepffler N, Schipanski D, Sorgner SL. The Potential of Stem Cells: An Inventory. Humanbiotechnology as Social Challenge 2007; 28: 978.
68. Deliloğlu Sİ, Özen MÖ, Sözer P, Lüleci İ. Kök hücreler ve doku mühendisliği. Sağlıkta Birikim 2009; 1[5]: 143-68.
69. Polak JM, Bishop AE. Stem cells and tissue engineering: past, present, and future, Ann NY Acad Sci 2006; 1068: 352–66.
70. Kapinas K, Grandy R, Ghule P, Medina R, Becker K, Pardee A, et al. The abbreviated pluripotent cell cycle. J Cell Physiol 2013; 228: 9-20.
71. Winslow T, Kibiuk L, Duckwall C. Medical and Scientific illustrations. 2001.
72. Carr AJF, Smart MJK, Ramsden CM, Powner MB, Cruz L, Coffey PJ. Development of human embryonic stem cell therapies for age-related macular degeneration. Trends in Neurosciences 2013; 36(7): 385-95.
73. Barry FP, Murphy J M. Mesenchymal Stem Cells: Clinical applications and biological characterization. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2004; 36: 568-84.
74. Ghannam S, Bouffi C, Djouad F, Jorgensen C and Noël D. Immunosuppression by mesenchymal stem cells: mechanisms and clinical applications. Stem Cell Research & Therapy 2010; 1: 2-6.

75. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. *Cytotherapy* 2006; 8: 315-7.
76. Nasef A, Fouillard L, El-Taguri A, Lopez M, Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Lipbyan J Med* 2007; 190-201.
77. Mizrak D, Brittan M, Alison MR. CD133: molecule of the moment. *J Pathol* 2008; 214: 3-9.
78. Sagrinati C, Netti GS, Mazzinghi B. Isolation and characterization of multipotent progenitor cells from the bowman's capsule of adult human kidneys. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2443-56.
79. Lindgren D, Bostrom AK, Nilsson K. Isolation and characterization of progenitor-like cells from human renal proximal tubules. *Am J Pathol* 2011; 178: 828-37.
80. Oliver JA, Maarouf O, Cheema FH, Martens TP, Al-Awqati Q. The renal papilla is a niche for adult kidney stem cells. *J Clin Invest* 2004; 114: 795-804.
81. Maeshima A, Yamashita S, Nojima Y. Identification of renal progenitor like tubular cells that participate in the regeneration processes of the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 3138-46.
82. Nishimura M, Naito S. Tissue-specific mRNA expression profiles of human ATP-binding cassette and solute carrier transporter superfamilies. *Drug Metab Pharmacokinet* 2005; 20: 452-77.
83. Sweetman D, Munsterberg A. The vertebrate spalt genes in development and disease. *Dev Biol* 2006; 293: 285-93.
84. Nishinakamura R. Stem cells in the embryonic kidney. *Kidney Int* 2008; 73: 913-7.
85. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multiline age potential of adult mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-7.
86. Barry FP, Boynton RE, Haynesworth S, Murphy JM, Zaia J. The monoclonal antibody SH-2, raised against human mesenchymal stem cells,

- recognizes an epitope on endoglin (CD105). *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 265: 134–9.
87. Barry F, Boynton R, Murphy M, Zaia J. The SH-3 and SH-4 Antibodies Recognize Distinct Epitopes on CD73 from Human Mesenchymal Stem Cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 519–24.
 88. Keating A. Mesenchymal Stromal Cells. *Current Opinion in Hematology* 2006; 13: 419-25.
 89. Ma LJ, Fogo AB. Model of robust induction of glomerulosclerosis in mice: importance of genetic background. *Kidney Int* 2003; 64: 350–5.
 90. Fogo A, Yoshida Y, Glick AD. Serial micropuncture analysis of glomerular function in two rat models of glomerular sclerosis. *J Clin Invest* 1988; 92: 322.
 91. Hamada Y, Kono TN, Moriguchi Y, Higuchi M, Fukagawa M. Alteration of mRNA expression of molecules related to iron metabolism in adenine-induced renal failure rats: a possible mechanism of iron deficiency in chronic kidney disease patients on treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(6): 1886-91.
 92. Deniz H, Oğütmen B, Cakalağaoğlu F, Tuğlular S, Ozener C, Akoğlu E. Inhibition of renin angiotensin system decreases fibro genetic cytokine expression in tacrolimus nephrotoxicity in rats. *Transplant Proc* 2006; 38: 483-6.
 93. Yamate J, Ishida A, Tsujino K, Tatsumi M, Nakatsuji S, Kuwamura M, Kotani T, Sakuma S. Immunohistochemical Study of Rat Renal Interstitial Fibrosis Induced by Repeated Injection of Cisplatin, with Special Reference to the Kinetics of Macrophages and Myofibroblasts. *Toxicol Pathol* March 1996; 24(2): 199-206.
 94. Debelle FD, Nortier JL, De Prez EG, Garbar CH, Vienne AR, Salmon IJ, Deschodt-Lanckman MM, Vanherweghem JL. Aristolochic acids induce chronic renal failure with interstitial fibrosis in salt-depleted rats. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(2): 431-6.
 95. Ortega A, Rámila D, Ardura JA, Esteban V, Ruiz-Ortega M, Barat A, Gazapo R, Bosch RJ, Esbrit P. Role of parathyroid hormone-related protein

- in tubulointerstitial apoptosis and fibrosis after folic acid-induced nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(6): 1594-603.
96. Aslan K. Macroanatomic investigations on the intrarenal segmentation of the renal artery in the Mongrel dog. *Vet Bil Derg* 1995; 11: 149-54.
 97. Constantinescu GM. *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals-Textbook and Color Atlas*. Schautter GmbH, Stuttgart-Germany 2004; 365-73.
 98. Alan A. Beyaz Deney Farelerinde Böbrek ve Böbreküstü Bezinin Arterial Vaskularizasyonunun, Makroanatomik, Subgros ve Scanning Elektron Mikroskopik Olarak Araştırılması. Doktora Tezi. Erciyes Üniv Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Anatomi Programı. Kayseri-Türkiye 2011.
 99. Aksoy G, Kürtül I, Özcan S, Aslan K, Özüdoğru Z. Intrarenal arteries and their patterns in the Tuj sheep. *Vet Med Czech* 2004; 49: 57-60.
 100. Banchaabouchi M, Marescau B, D'Hooge R. Biochemical and histopathological changes in nephrectomized mice. *Metabolism* 1998; 47: 355-61.
 101. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). National Chronic Kidney Disease Fact Sheet; 2010 May 26.
 102. Scott R, Sandeep G. Kidney regeneration and the role of stem cells. *Organogenesis* 2011; 7(2): 135-9.
 103. Amiel GE, Atala A. Current and future modalities for functional renal replacement. *Urol Clin North Am* 1999; 26: 235-46.
 104. Hammerman MR. Xenotransplantation of developing kidneys. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283: 601-6. Kim BS, Mooney DJ, Atala A. Genitourinary system. In: Lanza RP, Langer R, Vacanti J eds. *Principles of Tissue Engineering*. San Diego: Academic Press 2000; 655- 67.
 105. Franquesaa M, Flaquerb M, Cruzadob JM, Grinyo JM. Kidney regeneration and repair after transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2013; 18: 191-6.
 106. Angelotti ML, Ronconi E, Ballerini L. Characterization of renal progenitors committed toward tubular lineage and their regenerative potential in renal tubular injury. *Stem Cells* 2012; 30: 1714-25.

107. Bruno S, Camussi G. Isolation and characterization of stem cells in human glomeruli. *Methods Mol Biol* 2012; 879: 367–80.
108. Oliver JA, Maarouf O, Cheema FH. The renal papilla is a niche for adult kidney stem cells. *J Clin Invest* 2004; 114: 795–804.
109. Kim SS, Gwak SJ, Han J, Park HJ, Park MH, Song KW, et al. Kidney tissue reconstruction by fetal kidney cell transplantation: effect of gestation stage of fetal kidney cells. *Stem Cells* 2007; 25(6): 1393-401.
110. Elger M, Hentschel H, Litteral J, Wellner M, Kirsch T, Luft FC, Haller H. Nephrogenesis is induced by partial nephrectomy in the elasmobranch *Leucoraja erinacea*. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(6): 1506-18.
111. Humphreys BD, Bonventre JV. The contribution of adult stem cells to renal repair. *Nephrol Ther* 2007; 3: 3–10.
112. Imai E, Iwatani H. The continuing story of renal repair with stem cells. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2423–4.
113. Benjamin D, Humphreys M, Todd V, Akio K, Joshua WM, Savuth S, et al. Intrinsic Epithelial Cells Repair the Kidney after Injury. *Cell Stem Cell* 2008; 2: 284–91.
114. Sidorova V. The postnatal growth and restoration of internal organs in vertebrates. Lakeland, TN: PSG Publishing Company Inc., 1978.
115. Fujigaki Y, Goto T, Sakakima M, Fukasawa H, Miyaji T, Yamamoto T, Hishida A. Kinetics and characterization of initially regenerating proximal tubules in S3 segment in response to various degrees of acute tubular injury. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 41–50.
116. Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant induced renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: 552–63.
117. Sabolic I. Common mechanisms in nephropathy induced by toxic metals. *Nephron Physiol* 2006; 104: 107–14.
118. Trevisan A, Cristofori P, Fanelli G. Glutamine synthetase activity in rat urine as sensitive marker to detect S3 segment-specific injury of proximal tubule induced by xenobiotics. *Arch Toxicol* 1999; 73: 255–62.

119. Oehring H, Widder J, Appenroth D, Jirikowski GF, Fleck C. Ultrastructural and ultra immunohistochemical changes upon partial nephrectomy and uranyl intoxication in the rat kidney. *Exp Toxicol Pathol* 2013; 65(4): 441-9.
120. Fine L. The biology of renal hypertrophy. *Kidney International* 1986; 29(3): 619–34.
121. Miskell CA, Simpson DP. Hyperplasia precedes increased glomerular filtration rate in rat remnant kidney. *Kidney International* 1990; 37(2): 758–66.
122. Kliem V, Johnson RJ, Alpers CE, Yoshimura A, Couser WG, Koch KM, Floege J. Mechanisms involved in the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis in 5/6-nephrectomized rats. *Kidney International* 1996; 49(3): 666–78.
123. Bonventre JV. Dedifferentiation and proliferation of surviving epithelial cells in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 55–61.
124. Houghton DC, Hartnett M, Campbell-Boswell M, Porter G, Bennett W. A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am J Pathol* 1976; 82: 589–612.
125. Witzgall R, Brown D, Schwarz C, Bonventre JV. Localization of proliferating cell nuclear antigen, vimentin, c-Fos, and clusterin in the postischemic kidney. Evidence for a heterogeneous genetic response among nephron segments, and a large pool of mitotically active and dedifferentiated cells. *J Clin Invest* 1994; 93: 2175–88.
126. Gupta S, Verfaillie C, Chmielewski D, Kren S, Eidman K, Connaire J, et al. Isolation and characterization of kidney-derived stem cells. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3028–40.
127. Dekel B, Zangi L, Shezen E, Reich-Zeliger S, Eventov-Friedman S, Katchman H, et al. Isolation and characterization of nontubular sca-1_{lin}-multipotent stem/progenitor cells from adult mouse kidney. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3300–14.
128. Vogetseder A, Palan T, Bacic D, Kaissling B, Le Hir M. Proximal tubular epithelial cells are generated by division of differentiated cells in the healthy kidney. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 292: 807–13.

129. Vogetseder A, Karadeniz A, Kaissling B, Le Hir M. Tubular cell proliferation in the healthy rat kidney. *Histochem Cell Biol* 2005; 124: 97–104.
130. Vogetseder A, Picard N, Gaspert A, Walch M, Kaissling B, Hir ML. Proliferation capacity of the renal proximal tubule involves the bulk of differentiated epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 294: 22–8.
131. Yavru N, Yavru S. Deney Hayvanları. Selçuk Ü Veteriner F Yayınları, Konya 2000.
132. Harkness, JE, Wagner JE. *The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*, fourth edition. Williams & Wilkins USA 1995.
133. Racanicchi I, Oliveira A, Barbieri RL, Dellê H, Duarte IS, Leme PS. Experimental models of renal dysfunction in female rats. Functional and histological aspects after unilateral nephrectomy or ligation of right renal vein with kidney preservation. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2015; 30: 12.
134. Davies MR, Lund RJ, Hruska KA. BMP-7 is an efficacious treatment of vascular calcification in a murine model of atherosclerosis and chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1559–67.
135. Kren S, Hostetter TH. The course of the remnant kidney model in mice. *Kidney International* 1999; 56: 333–7.
136. Mathew S, Lund RJ, Strebeck F, Tustison KS, Geurs T, Hruska KA. Reversal of the a dynamic bone disorder and decreased vascular calcification in chronic kidney disease by sevelamer carbonate therapy. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 122–30.
137. Maizel J, Six I, Slama M, Tribouilloy C, Sevestre H, Poirot S, et al. Mechanisms of aortic and cardiac dysfunction in uremic mice with aortic calcification. *Circulation* 2009; 119: 306–13.
138. Mitchell MA, Tully TN. *Manual of exotic pet practice*. 2nd edit. St Louis, Missouri: Saunders Elsevier 2009; 235-43.
139. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, Daniel AU, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell* 2002; 13: 4279-95.

140. Keating A. Mesenchymal Stromal Cells. *Current Opinion in Hematology* 2006; 13: 419-25.
141. Le Blanc K, Ringdén O. Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells and Clinical Experience. *J Internal Medicine* 2007; 13: 69-80.
142. Greene EC. *Anatomy of the Rat*. Philadelphia. Hafner Publishing Company, New York and London. Chapter VII. Circulatory System 1963; 199.
143. Demir R. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş*. Ankara, Palme Yayıncılık 2006; 365-80.
144. Liu H, Wu R, Jia RP, Zhong B, Zhu JG, Yu P, et al. Ischemic preconditioning increases endothelial progenitor cell number to attenuate partial nephrectomy induced ischemia / reperfusion injury. *PLoS One*. 2013; 8(1).