

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**PERİTONEAL DİYALİZ HASTALARINDA
PAI-1 GEN DEĞİŞİMLERİNİN
FİBROZİSLE OLAN İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DR. DUYGU ONUR CURA

UZMANLIK TEZİ

İZMİR - 2017

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**PERİTONEAL DİYALİZ HASTALARINDA
PAI-1 GEN DEĞİŞİMLERİNİN
FİBROZİSLE OLAN İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. DUYGU ONUR CURA

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: 2017.KB.SAG.015

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
GRAFİK LİSTESİ.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
ÖZET	1
SUMMARY	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği	5
2.1.1. Tanım.....	5
2.1.2. Epidemiyoloji	6
2.1.3. Etyoloji ve Risk Faktörleri	6
2.1.4. Klinik.....	7
2.1.5. Renal Replasman Tedavisi (RRT).....	7
2.2. Periton Diyalizi.....	8
2.2.1. Periton Zarının Özellikleri.....	8
2.2.2. Periton Diyalizinin Esasları	9
2.2.3. Periton Diyalizi Çeşitleri	10
2.2.4. Periton Diyalizinin Yeterliliği	11
2.2.5. Peritoneal Ultrafiltrasyon Yetersizliği.....	12
2.2.6. Peritoneal Membran Geçirgenliğinin Değerlendirilmesi	13
2.2.7. Periton Diyalizinin Komplikasyonları.....	13
2.3. Peritoneal Fibrozis ve Enkapsüle Peritoneal Sklerozis	14
2.4. Plazminojen Aktivitör İnhibitör-1	16
2.4.1. PAI-1'in Yapı ve Fonksiyonu	17
2.4.2. PAI-1'in Yara İyileşmesindeki Rolü	19
2.4.3. PAI-1 geni	20
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	22
3.1. Hastaların Seçimi.....	22
3.2. Verilerin Toplanması.....	22
3.3. Moleküler Genetik Çalışma.....	23

3.3.1. Hasta Periferik Kan Örneklerinin Alınması	23
3.3.2. Kullanılan Cihazlar.....	24
3.3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	25
3.3.4. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	26
3.3.5. Spektrofotometre ile DNA Miktar ve Saflığının Belirlenmesi.....	27
3.3.6. PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Ters Hibridizasyon Yöntemiyle Değerlendirilmesi	27
3.3.7. SERPINE1 Geni Dizi Analizi	30
3.4. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	36
4. BULGULAR	37
4.1. Hastalara ait Periton Diyalizi parametreleri	37
4.2. PAI-1 4G/5G Polimorfizm Sonuçları	42
4.3. SERPINE1 Geni Dizi Analizi Sonuçları	43
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR.....	58
EKLER	64
Ek 1. Etik Kurul Onayı	64
Ek 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	66
Ek 3. Veri Kayıt Formu	69
Ek 4. Hastaların Kullandıkları Solüsyonlar ve Miktarları	70
Ek 5. Olgulara Ait Bilgiler	72

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. KBY’de GFR ve Albuminüri Düzeylerine Göre Evreleme (9).....	5
Tablo 2. KBY’de Risk Faktörleri	6
Tablo 3. Türkiye’de Renal Replasman Tedavisi Uygulanan Hasta Sayıları (13).....	7
Tablo 4. Periton Diyalizi Solüsyon İçerikleri (31).....	10
Tablo 5. Periton Diyalizinin Komplikasyonları.....	13
Tablo 6. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Markaları	24
Tablo 7. Çalışmada Kullanılan Kitler, İçerdikleri Kimyasal Maddeler ve Markaları	25
Tablo 8. Reaksiyon Karışımları ve İçerikleri.....	27
Tablo 9. PZR Tepkime Koşulları.....	28
Tablo 10. PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Strip Üzerinde Değerlendirilmesi.....	30
Tablo 11. SERPINE1 Geni Primer Dizileri	31
Tablo 12. Reaksiyon Karışımının İçeriği ve Miktarları.....	31
Tablo 13. AmpliTaq Gold® 360 Master Mix Kiti Tepkime Koşulları.....	32
Tablo 14. Agoroz Jel Elektroforezinde Kullanılan Kimyasallar ve Markaları	32
Tablo 15. SERPINE1 Geni Amplifiye Edilen Bölümleri ve Fragment Uzunlukları.....	33
Tablo 16. Birinci Saflaştırma Aşaması Tepkime Koşulları	34
Tablo 17. İkinci PZR Reaksiyon Karışımının İçeriği ve Miktarları	34
Tablo 18. İkinci PZR Tepkime Koşulları	35
Tablo 19. Hastaların Sosyodemografik Verileri, RRT süreleri ve SDBY nedenleri.....	37
Tablo 20. Hastalarda SDBY nedenleri	38
Tablo 21. Hastaların PD verileri	39
Tablo 22. Hastaların PET Sonuçlarına Göre Dağılımı	40
Tablo 23. Hastaların Kt/V Değerlerine Göre Dağılımı.....	40
Tablo 24. Hastaların Kullandıkları Solüsyonlara Göre Dağılımı	41
Tablo 25. Hastaların Peritonit Geçirme Durumlarına Göre Dağılımı.....	42
Tablo 26. Hastalarda PAI-1 4G/5G Polimorfizm Sonuçları.....	42
Tablo 27. Hastalarda PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Genotip Dağılımı.....	43
Tablo 28. Grup 1'deki Hastaların SERPINE1 Gen Değişimlerinin Genotip Dağılımı	44
Tablo 29. Grup 2'deki Hastaların SERPINE1 Gen Değişimlerinin Genotip Dağılımı	44
Tablo 30. Hastalarda Saptanan SERPINE1 Gen Değişimlerinin Gruplara göre Genotip Dağılımları.....	46
Tablo 31. Hasta Grubumuz ve Popülasyonlara göre rs6092 Değişimi Allel Frekansları (86)	53

Tablo 32. Hasta Grubumuz ve Popölasyonlara göre rs2227660 Değişimi Allel Frekansları (87)	54
Tablo 33. Hasta Grubumuz ve Popölasyonlara göre rs2227668 Değişimi Allel Frekansları (88)	54
Tablo 34. Hasta Grubumuz ve Popölasyonlara göre rs41281004 Değişimi Allel Frekansları (90)	55
Tablo 35. Hasta Grubumuz ve Popölasyonlara göre rs2227684 Değişimi Allel Frekansları (92)	56



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. EPS Gelişiminde 'İki Vuruş' Teorisi (3).....	15
Şekil 2. PAI-1'in Görevi	18
Şekil 3. Farklı Organlarda İndüklenen Fibroziste PAI-1'in Olası Rolü (66).....	20
Şekil 4. Amplikonların Agoraz Jel Elektroforez Görüntüsü	33



GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. Hastalarda PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Genotip Dağılım Grafiği.....	43
Grafik 2. Hastalarda rs6092 G>A Değişiminin Genotip Dağılım Grafiği	45



KISALTMALAR

AER	Albumin atılım oranı
AGE	İleri glikasyon son ürünleri
APD	Aletli periton diyalizi
CrCl	Kreatinin klirensi
CREDIT	Kronik böbrek hastalığı Türkiye prevalans çalışması
D/P	Diyalizat/plazma
ddNTP	Dideoksiribonükleozit trifosfat
DEÜTF	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
DM	Diyabetes mellitus
ECM	Ekstrasellüler matriks
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EMT	Epitelyal mezenkimal dönüşüm
EPS	Enkapsüle peritoneal skleroz
FSGS	Fokal segmental glomerüloskleroz
GDP	Glukoz yıkım ürünleri
GFR	Glomerüler filtrasyon hızı
HD	Hemodiyaliz
HIF	Hipoksiyle indüklenebilir faktör
HT	Hipertansiyon
KBH	Kronik böbrek hastalığı
KBY	Kronik böbrek yetmezliği
KDIGO	Kronik böbrek hastalığı değerlendirme ve yönetim klinik uygulama kılavuzu
MCP	Monosit kemotaktik protein
miR	microRNA
MMP	Matriks metalloproteinaz
MN	Membranöz nefropati
MPGN	Membranoproliferatif glomerülonefrit

PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitör-1
PD	Periton diyalizi
PET	Peritoneal eşitleme testi
PF	Peritoneal fibrozis
PKBH	Polikistik böbrek hastalığı
PS	Peritoneal skleroz
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RCL	Reaktif merkez halka
RRF	Rezidüel renal fonksiyon
RRT	Renal replasman tedavisi
SAP	Shrimp alkalın fosfataz
SAPD	Sürekli ayaktan periton diyalizi
SDBY	Son dönem böbrek yetmezliği
SPSS	Statical Package for Social Science
tPA	Doku plazminojen aktivatörü
UF	Ultrafiltrasyon
uPA	Ürokinaz

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince karşılaştığım her sıkıntıda yol gösteren, tezimin planlanmasında ve her aşamasında büyük katkısı olan sayın Prof. Dr. Murat Derya Erçal'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi, beceri ve tecrübeleriyle yetişmemde büyük emekleri olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Ayfer Ülgenalp, Doç. Dr. Elçin Bora, Prof. Dr. Özlem Giray Bozkaya, Doç. Dr. Tufan Çankaya ve Uzm. Dr. Esra Ataman'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda büyük desteği olan DEÜTF Nefroloji Bilim Dalı'ndan sayın Prof. Dr. Taner Çamsarı ve periton diyalizi hemşiresi Güler Nasuhbeyoğlu'na içten teşekkürlerimi sunarım.

Hasta gruplarının oluşturulmasında verdikleri destekten dolayı Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi Nefroloji Bilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Sibel Ersan ve Uzm. Dr. Mehmet Tanrısev'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımındaki değerli yardımları için Uzm. Biyolog Erkan Kaytankaş ve Lab. Teknikeri Orkide Eylen Er'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince dostluklarını ve yardımlarını esirgemeyen sevgili asistan arkadaşlarıma ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalışanı tüm arkadaşlarıma içten teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde sonsuz destekleri olan anne ve babama, her zaman yanımda olan, hayattaki en önemli dayanağım değerli eşim Ceyhun'a ve biricik kızım Zeynep'e sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Duygu Onur Cura

ÖZET

PERİTONEAL DİYALİZ HASTALARINDA PAI-1 GEN DEĞİŞİMLERİNİN FİBROZİSLE OLAN İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Duygu ONUR CURA

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İZMİR

Peritoneal fibrozis (PF), periton diyalizi (PD) hastalarında görülen mortalitesi yüksek bir komplikasyon olan enkapsüle peritoneal skleroza (EPS) zemin hazırlayan patolojik bir süreçtir. PAI-1 (Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1), fibrozis gelişiminde rol oynayan önemli bir moleküldür. Literatürde PAI-1 polimorfizmlerinin birçok doku ve organda meydana gelen fibrozisle ilişkili olduğu gösterilmiştir; ancak PF hastalarında PAI-1 gen değişimleri incelenmemiştir.

Bu çalışmada PAI-1 gen değişimlerini belirlemek ve yatkınlığı olan hastalarda fibrozis gelişmeden önce tedavi modifikasyonunun sağlanması amacıyla PD tedavisi gören 25 hastada, ters hibridizasyon yöntemiyle PAI-1 4G/5G polimorfizmi ve dizi analizi yöntemiyle PAI-1 geninin (SERPINE1) tüm kodlayıcı ekzon ve ekzon intron bileşkeleri incelendi.

Hastalar, PF kuşkusu olan ya da PF geliştirme ihtimali yüksek olanlar (%36) ve PF geliştirme ihtimali düşük olanlar (%64) olmak üzere iki gruba ayrılarak incelendi. PET, Kt/V, kullanılan PD solüsyon içeriği ve peritonit geçirme durumu gibi bulgular açısından iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi. PAI-1 4G/5G değişiminin genotip dağılımı açısından da iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p=1.000$). Dizi analizi yöntemiyle, biri ekzonik olmak üzere (rs6092) toplam 8 gen değişimi saptandı (rs2227660, rs2227668, rs2854233, rs41281004, [rs61553169] // [rs72393109], rs368413856, rs2227684). Bu değişimlerin genotip dağılımları incelendiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi.

Sonuç olarak bu çalışmada peritoneal fibrozis ile PAI-1 gen değişimi arasında ilişki saptanamamıştır. Uzun dönem PD tedavisi gören hastalarda daha geniş çaplı hasta grupları ile çoklu mutasyon tarama teknikleri kullanılarak PF patogenezinin sorumlu diğer moleküllerin de dahil edildiği ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Periton diyalizi, peritoneal fibrozis, PAI-1, SERPINE1 geni

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN PAI-1 GENE CHANGES AND FIBROSIS IN PERITONEAL DIALYSIS PATIENTS

Duygu ONUR CURA, MD

Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of Medical Genetics, İzmir

Peritoneal fibrosis (PF) is a pathological process that leads up to encapsulated peritoneal sclerosis (EPS), which is a complication with high mortality rate, in peritoneal dialysis (PD) patients. PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1) is an important molecule featured in the development of fibrosis. It has been shown in the literature that PAI-1 gene changes are associated with fibrosis in many tissues and organs. However, PAI-1 gene changes in PF patients have not been investigated.

In this study, PAI-1 4G/5G polymorphism was examined by reverse hybridization, and all coding exon and exon-intron components of the PAI-1 gene (SERPINE1) were examined by sequence analysis, in 25 patients undergoing PD treatment, in order to identify PAI-1 gene changes and to provide treatment modification in patients with predisposition before fibrosis develops.

Patients were divided into two groups: those with suspicion of PF or those with a high probability of developing PF (36%) and those with a low probability of developing PF (64%). There was no significant difference between the two groups in findings such as PET, Kt/V, the content of the PD solution used, and having peritonitis. There was also no significant difference in genotype distribution of PAI-1 4G/5G polymorphism between the two groups ($p=1,000$). A total of 8 gene changes (rs2227660, rs2227668, rs2854233, rs41281004, rs61553169, rs368413856, rs2227684) were detected by sequence analysis, one of which was exonic (rs6092). When genotype distributions of these changes were examined, no significant difference was found between the two groups.

In conclusion, this study did not reveal a PAI-1 gene change predisposing to peritoneal fibrosis. There is a need for further studies involving other molecules responsible for PF pathogenesis and multiple mutation screening techniques with larger patient populations in patients undergoing long-term PD treatment.

Key words: Peritoneal dialysis, peritoneal fibrosis, PAI-1, SERPINE1 gene

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Peritoneal fibrozis (PF), son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle periton diyalizi (PD) uygulanan hastalarda görülebilen, çoğunlukla tekrarlayan PD'ye bağlı gelişen, peritoneal inflamasyonla giden, mortalitesi yüksek bir hastalık olan enkapsüle peritoneal skleroza (EPS) ilerleyebilen, PD'nin sonlandırılmasına neden olan ciddi bir komplikasyondur(1). Bu sklerotik süreçte fibrozisin hakim olduğu bir dizi olayın gelişmesi söz konusudur ancak peritoneal sklerozun (PS) patogenezi yapılan çok sayıdaki çalışmaya karşın henüz netleşmemiştir.

Doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve ürokinaz (uPA), plazminojenin güçlü bir proteolitik enzim olan plazmine dönüşümünde görevlidir. SERPIN süper ailesinin bir üyesi olan plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), tPA ve uPA'nın inhibisyonunda rol oynar ve fibrinolitik sistemi inhibe ederek fibrin degradasyonunu önler. Yetersiz fibrin degradasyonuna bağlı ekstraselüler matriks (ECM) birikiminde artış ve peritoneal mezotelyal hücrelerin epitelial mezenkimal dönüşümü (EMT) sonucu miyofibroblast aktivasyonu gerçekleşir (2). Bazı peritoneal diyaliz hastalarında, PD süresi, PD'nin ani kesilmesi, tekrarlayan peritonit atakları ve ultrafiltrasyon yetersizliği gibi nedenler basit sklerozun fibroze ilerlemesine neden olur. Bu hastalarda fibrozis gelişimine genetik yatkınlık olduğu düşünülmektedir (3, 4).

PD kateterinin kendisi inflamasyonu başlatmak için yeterlidir. Ayrıca PD sıvısında düşük pH, yüksek glukoz düzeyleri, hiperozmolarite, Glukoz yıkım ürünleri (GDP) ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE)'nin varlığı; TGF- β ve PDGF gibi birçok büyüme faktörünün salınımını tetikleyerek fibrozis oluşumuna katkıda bulunur. Bu faktörlerin PAI-1 üzerinden kollajen birikimine neden olduğu bilinmektedir (3, 5, 6).

PAI-1 proteinini kodlayan serpin peptidaz inhibitör, clade E (SERPINE1) geni 7q22.1 bölgesinde lokalize olup 8 kodlayıcı ekzon içerir. Fibroze yatkınlığı olan kişilerde fibrozis dokularında ve kanda PAI-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (6). Diyalizatta PAI-1 düzeylerinde artış sonucu intraperitoneal fibrinolitik denge ve su-solüt yük transportunda bozulma olduğu görülmüştür (5). Peritoneal fibrozis geliştiren hastalarda tanıdan 3 yıl önce peritoneal çıkış sıvısında artmış PAI-1 düzeylerinin peritoneal fibrozis gelişiminde bir öngördürücü olabileceği ve PAI-1'in biyolojik gösterge olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (7).

Çalışmamızda, PS geliştiren ve geliştirmeyen, rutin olarak PAI-1 4G/5G polimorfizmi bakılması planlanan PD hastalarında PAI-1 geni dizi analizi yapılması, olası değişimlerin PS geliştiren hastalarla ilişkisi araştırılarak fibrozis gelişiminden önce tedavi modifikasyonlarına katkı verilip verilemeyeceğinin anlaşılmaya çalışılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği

2.1.1. Tanım

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), mortalite ve morbiditesi yüksek küresel bir halk sağlığı sorunudur. Takip ve tedavi gerektirdiğinden yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemesinin yanı sıra ekonomik maliyeti oldukça yüksektir (8). KBY böbreğin sıvı - elektrolit dengesini düzenleme ve metabolik - endokrin işlevlerinde kalıcı, ilerleyici ve geri dönüşümsüz fonksiyon kaybıdır. Global Çıktıları İyileştirme 2012 Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) Değerlendirme ve Yönetme Klinik Uygulama Kılavuzunda (KDIGO) KBY, 3 aydan daha uzun süre devam eden böbrek yapısı ya da fonksiyonunda anormallikler olarak tanımlanmıştır. Hastalarda glomerüler filtrasyon hızında (GFR) azalmanın ($GFR < 60$ ml/min/1.73 m²) yanı sıra albüminüri, idrar sediment anormallikleri, tübüler bozukluğa bağlı elektrolit anormallikleri, histolojik ya da yapısal anormallikler gibi böbrek hasarı belirteçleri mevcuttur. KBY'nin GFR ve albüminüri düzeylerine göre sınıflandırılması **Tablo 1**'de gösterilmiştir (9).

Tablo 1. KBY'de GFR ve Albuminüri Düzeylerine Göre Evreleme (9)

GFR evreleri	GFR (ml/min/1.73 m ²)	Böbrek fonksiyonu
G1	≥ 90	Normal veya yüksek
G2	60-89	Hafif azalmış
G3a	45-59	Hafif-orta derecede azalmış
G3b	30-44	Orta-ciddi derecede azalmış
G4	15-29	Ciddi derecede azalmış
G5	< 15	Son dönem böbrek yetmezliği
Albuminüri evreleri	AER (mg/gün)	Tanım
A1	< 30	Normal/hafif derecede artmış
A2	30-300	Orta derecede artmış
A3	> 300	Ciddi derecede artmış

GFR: Glomerüler filtrasyon hızı, AER: Albumin atılım oranı

2.1.2. Epidemiyoloji

KBY'nin dünya üzerinde sıklığı %10-16'dır ancak KBY erken ve orta evrelerinde asemptomatik olduğu için hastalığın insidansının daha yüksek olduğu düşünülmektedir (10). Bu oranın 70 yaşın üstündeki bireylerde daha yüksek olduğu, bu durumun yaşla birlikte diyabet ve hipertansiyon prevalansındaki artıştan kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir (11). Türkiye Kronik Böbrek Hastalığı Prevalans Çalışmasına (CREDIT) göre ülkemizde KBY prevalansı genç erişkin popülasyonda %15,7 oranında saptanmıştır (12).

Tedavi gerektiren son dönem böbrek yetmezliğinin (SDBY) insidans ve prevalansı etnik farklılıklar, genetik yatkınlık ve diyabet, hipertansiyon gibi ek hastalıkların varlığına göre değişebilmektedir (11). Ülkemizde ise SDBY prevalansı 10 yıl içinde 2.5 kat civarında artış göstermiştir (13). Bu durumun sebebinin yaş ortalaması ve diyabet sıklığındaki artış olduğu düşünülmektedir.

2.1.3. Etyoloji ve Risk Faktörleri

KBY için risk faktörleri **Tablo 2**'de belirtilmiştir (9, 14). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde diyabet ve hipertansiyon KBY nedenlerinin başında gelirken Asya ve sahra altı Afrika ülkelerinde glomerülonefrit ve bilinmeyen nedenler başı çekmektedir (15). Ülkemizde de zaman içerisinde glomerülonefritlerin oranı azalırken diyabet ve hipertansiyon ilk sıralara yerleşmiştir (13).

Tablo 2. KBY'de Risk Faktörleri

✓	Diabetes Mellitus
✓	Hipertansiyon
✓	İleri Yaş
✓	Obezite
✓	Dislipidemi
✓	Otoimmün hastalıklar
✓	Böbrek kitlesinde azalma
✓	Üriner enfeksiyonlar
✓	Üriner sistem taşları
✓	Üriner sistem obstruksiyonu
✓	Sistemik enfeksiyonlar
✓	Proteinüri
✓	Sigara
✓	İlaç toksisitesi
✓	İrk
✓	Düşük sosyoekonomik durum
✓	Düşük eğitim düzeyi
✓	Düşük doğum ağırlığı
✓	Aile öyküsü

2.1.4. Klinik

KBY neredeyse tüm sistem ve organları etkiler. Klinik bulgular, böbrek yetmezliğinin gelişme hızı ve altta yatan nedene göre değişkenlik gösterir. Çoğu hasta ileri evrelere kadar asemptomatiktir.

Böbreğin ilk bozulan fonksiyonlarından biri olan idrarı konsantre etme yeteneğindeki azalmaya bağlı olarak hastaların ilk semptomu genellikle noktüridir. Hastalar ayrıca anemiye bağlı gelişen halsizlikten yakınır. Böbrek fonksiyonları ileri derecede azalmadan üremik semptomlar görülmez (16, 17).

2.1.5. Renal Replasman Tedavisi (RRT)

SDBY gelişen hastalarda hemodinaminin sağlanması için uygulanan tedavilerdir. Bunlar hemodiyaliz, PD ve böbrek transplantasyonu şeklindedir. Hastaların klinik durumu, sosyokültürel düzeyi ve diğer birçok faktör tedavi seçimini etkiler. Gelişen cerrahi teknikler ve komplikasyonların azaltılması sayesinde böbrek transplantasyonu en gözde tedavi yöntemi olsa da verici sayısının yetersizliği nedeniyle diyaliz bu hastalarda ana tedavi yöntemidir (18).

Tablo 3. Türkiye’de Renal Replasman Tedavisi Uygulanan Hasta Sayıları (13)

	Hemodiyaliz	Periton diyalizi	Böbrek transplantasyonu	Toplam
Sayı	48.900	4.777	8.000	61.677
Yüzde	79,28	7,75	12,97	100,00

Diyaliz, vücutta biriken sıvı ve solüt yükün yarı geçirgen bir membran aracılığıyla vücuttan uzaklaştırılması işlemidir. Diyaliz tedavileri difüzyon (solüt yükün atılımı) ve ultrafiltrasyon (sıvı alınması) prensibine dayanır. Bu tedaviler sıvı-elektrolit yükünü düzenlerken böbreğin endokrin fonksiyonlarını yerine koymakta yetersizdir (19). **Hemodiyaliz** (HD), bir makine ve pompa yardımıyla, diyalizör adı verilen yarı geçirgen membran kullanılarak hasta kanında su-solüt yük dengesinin sağlanmasıdır. Hastadan alınan kan temizlendikten sonra fistül, greft ya da kateter yardımıyla hastaya geri verilir. En çok uygulanan diyaliz tipidir. Standart HD, haftada 3 kere 3-4 saat şeklinde uygulanır. Nokturnal HD ya da günlük HD diğer uygulama şekilleridir.

Diğer bir renal replasman tedavisi olan **böbrek transplantasyonu**, ölen vericiden (kadavradan) ya da canlı donörden alınan böbreğin genellikle alıcının iliak fossasına

retroperitoneal olarak yerleştirilmesi şeklindedir. Transplantasyon için ABO kan grubu uyumu ve HLA doku grubu uyumu aranmaktadır (20) Böbrek transplantasyonu, sağ kalım oranları daha iyi olması, immunsupresif tedavi ve enfeksiyonların kontrolündeki başarılı gelişmeler sayesinde ön planda tercih edilen bir yöntem olmuştur. Kadavradan transplantasyon ile bir yıllık greft ömrü %90, on yıllık greft ömrü ise %40'ın altındadır (11). Canlı donör transplantasyonu ile bu oranlar daha yüksektir. Ülkemizde beyin ölümü bildirimi ve organ bağıışı oranının az olması nedeniyle kadavradan transplantasyon oranı beklenenden düşüktür (21).

2.2. Periton Diyalizi

2.2.1. Periton Zarının Özellikleri

Periton, karın boşluğunu kaplayan yarı geçirgen bir zardır. Karın ön duvarı ve diaframın alt yüzeyini kaplayan parietal periton, abdominal organları kaplayan visseral periton olmak üzere iki kısımdan oluşur. Peritoneal boşluk, peritonun bu iki katmanı arasında uzanır ve mezotelyal hücrelerle kaplıdır. Total yüzey alanı 1-2 m²'dir ve yaklaşık 100 ml seröz sıvı içerir (22). Peritoneal kavitenin drenajı ağırlıklı olarak lenfatik sistem tarafından gerçekleştirilir (23). Peritoneal transport için “üç gözenek modeli” tanımlanmıştır. Protein, immunglobulin gibi büyük moleküller büyük gözeneklerden, üre, kreatinin, glukoz ve sıvıların geçişi küçük gözeneklerden, suyun geçişi ise ultra küçük transsellüler gözeneklerden gerçekleşmektedir (24). Ayrıca ‘en yakın kapiller’ hipotezine göre mezotelyuma daha yakın kapillerin osmotik etkisinin daha büyük olduğu düşünülmektedir. Peritoneal vaskülaritenin bireyler arasında değişkenlik göstermesi, geçirilen peritonit atakları ya da hastanın diabet gibi ek hastalıklarının peritoneal geçirgenlik üzerine etkisi de göz önünde bulundurulmalıdır (25, 26).

Solüt maddelerin çok yoğun oldukları ortamdan az yoğun oldukları ortama geçişine **difüzyon** denir. Üre, kreatin, K⁺, H⁺, HCO₃⁻, fosfat, albümin, proteinler ve toksinler gibi solütlerin peritoneal membrandan geçişi ilk bir saat en hızlıdır. Molekül büyüklüklerine göre zamanla azalarak zarın iki tarafında eşitlenirler. Suyun solüt yükün fazla olduğu tarafa geçişine ise **ultrafiltrasyon** (UF) denir. PD esnasında hipertonik diyaliz solüsyonu ve hipotonik periton kapilleri arasında oluşturulan ozmotik basınç farkının bir sonucudur. UF etkinliği birçok faktörden etkilenebilir. Yansıma katsayısı, diyaliz solüsyonunun periton kapillerine geçişi üzerine ozmotik ajanın etkinliğini yansıtır. Değeri 0 ile 1 arasında değişir.

Düşük değerler diyaliz solüsyonundan hasta vücuduna osmotik ajanın hızlı geçişini gösterir. Yansıma katsayısı glukoz için 0.3'tür. Bir diğer faktör kullanılan ajanın osmotik gradyentidir. PD'de farklı konsantrasyonlardaki dekstroze solüsyonları kullanılmaktadır. Yüksek osmotik konsantrasyona sahip solüsyonlar yüksek gradyente neden olurlar. Diyaliz solüsyonunun peritoneal boşlukta kalma süresi de (dwell) ultrafiltrasyonu etkiler. Diyalizin erken evrelerinde geçiş çok hızlı olduğundan teorik olarak kısa ve sık diyaliz daha etkindir. Uzun süreli diyalizde solütlerin maksimum eşitlenmesi sonrasında etkin klirens gerçekleşmez hatta ultrafiltrasyon tersine dönebilir. Suyun ultrafiltrasyonu esnasında solüt maddelerin de geçişine **konveksiyon** denilmektedir. Periton zarından sıvı ve solüt maddelerin geçişi bu üç yolla olmakta ve PD'nin temelini oluşturmaktadır (24, 27, 28).

2.2.2. Periton Diyalizinin Esasları

Periton diyalizi, bir kateter aracılığıyla periton boşluğuna verilen sıvıların yeterli su-solüt yük geçişi sağlandıktan sonra aynı kateter yardımıyla geri alınmasını sağlayan bir tedavi yöntemidir. Kateter, optimal drenajı sağlamak için bir açık uç noktası ve birkaç yan delikleri olan esnek silikon bir tüptür. Kateterin ekstraperitoneal segmenti genellikle iki adet Dacron balon içerir. Preperitoneal bölgedeki proksimal balon, kateteri yerinde tutarken distal bölgedeki balon ise enfeksiyonlara karşı bariyer olarak işlev görür (29).

Klinik kullanım için çeşitli PD solüsyonları mevcuttur (**Tablo 4**). Solüsyonların içeriği osmotik ajanlar, tampon ve elektrolitler olarak üç kısımda incelenebilir. Elektrolit içeriği üretici firmaya göre değişmektedir (sodyum konsantrasyonu: 132-134 mmol/L, kalsiyum konsantrasyonu: 1.25-1.75 mmol/L, magnezyum konsantrasyonu: 0.25-0.75 mmol/L). Osmotik ajan olarak dekstroze kullanılan solüsyonlar üç farklı glukoz konsantrasyonuna sahiptir (%1.5, %2.5 ve %4.25) ve tampon olarak laktat içerirler. Bu solüsyonların ısı ile sterilizasyonları sırasında GDP'ler meydana gelir. Düşük pH, laktat tampon, hiperosmolarite, osmotik ajan olarak glukoz kullanımı ve GDP artışı nedeniyle dekstroze temelli solüsyonlar lokal ve sistemik toksisiteyle ilişkilidir. Peritoneal membranda kronik değişikliklere neden olarak **enkapsüle peritoneal sklerozu** tetikleyebilir (30, 31). Bu yan etkilerden dolayı yeni solüsyonlar geliştirilmiştir. İkodekstrin onkotik etkiyle ultrafiltrasyonu tetikleyen bir poliglukoz solüsyonudur. Glukozdan daha yavaş absorbe olduğundan UF'yi artırır (32). Aminoasit içeren solüsyonlar beslenme problemi olan hastalarda tercih edilebilir ancak asidoza ve serum üre nitrojen seviyesinde artışa neden olabileceği unutulmamalıdır (31). İki

ya da 3 torbalı nötral pH ve düşük GDP içeren solüsyonların bir torbasında GDP oluşumunu azaltmak için çok düşük pH'ta ısı ile sterilize edilmiş glukoz solüsyonu, alkalen pH'a sahip diğer torba ya da torbalarda tampon ve elektrolitler bulunur. Kullanım öncesi torbalar karıştırılarak nötral pH sağlanır (31, 33).

Tablo 4. Periton Diyalizi Solüsyon İçerikleri (31)

Solüsyon	Osmotik ajan	Osmolalite (mOsm/L)	pH	Torba sayısı	Laktat (mmol/L)	Bikarbonat (mmol/L)	GDP içeriği
Dekstroz temelli solüsyonlar	Glukoz	345-484	5.5	1	35-40	0	Yüksek
Glukozdan fakir solüsyonlar							
Extraneal® (Baxter)	İcodextrin	282-286	5.5	1	40	0	Düşük
Nutrineal® (Baxter)	Aminoasit	365	6.5	1	40	0	Düşük
Nötral pH, düşük GDP'ye sahip solüsyonlar							
Balance® (FMC)	Glukoz	358-511	7.0	2	35	2.5	Düşük
BicaVera® (FMC)	Glukoz	358-511	7.4	2	0	34	Düşük
Gambrosol® Trio (Gambro)	Glukoz	357-483	6.3	3	40	0	Düşük
Physioneal® (Baxter)	Glukoz	344-583	7.4	2	10-15	25	Orta

GDP: Glukoz yıkım ürünü

2.2.3. Periton Diyalizi Çeşitleri

Aletli Periton Diyalizi (APD): Solüsyonların periton içine bir alet yardımıyla verildiği ve boşaltıldığı PD tipidir. Genellikle geceleri hasta uyurken peritoneal boşlukta kısa bekleme süreleri ile 8-10 saat makineye bağlı kalmayı gerektirir. Periton geçirgenliği yüksek olan hastalarda tercih edilir (34). Minimal rezidüel böbrek fonksiyonuna sahip hastalarda yeterli ultrafiltrasyonu sağlamak amacıyla kullanılır. Cihaz ve ekipmanlarının yüksek maliyeti, fazla miktarda diyaliz solüsyonu ihtiyacı ve bazı hastaların gece boyunca makineye bağlı kalmak istememesi nedeniyle farklı modaliteler seçilebilir (35).

Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi (SAPD): Diyaliz sıvısının manüel yöntemle verilip boşaltıldığı, günde 3-5 kez uygulanan ve peritoneal boşlukta devamlı diyaliz sıvısının bulunduğu basit, kullanışlı ve etkili bir yöntemdir (36, 37). Diyaliz solüsyonu periton boşluğuna verildikten sonra set klemple kapatılır ve diyaliz bitiminde solüsyon aynı torbaya boşaltılır. Bu yöntemde UF'nin etkinliği peritonun geçirgenliğiyle ilişkilidir. Periton zarı düşük geçirgenliğe sahipse glukoz emilimi yavaş olacağından osmotik eşitleme geç olacaktır ve iyi bir UF sağlanır. Eğer peritoneal geçirgenlik fazlaysa solüt klirensi iyidir ancak glukozun çabuk emiliminden dolayı osmotik eşitleme erken olacağından UF yetersiz olur (37).

2.2.4. Periton Diyalizinin Yeterliliği

PD'nin amacı biriken atık ürünlerin ve fazla sıvının vücuttan uzaklaştırılmasıdır (38). Yeterlilik kinetik modelle yapılan çeşitli ölçümlerle hesaplanmaktadır. Ancak diyaliz yeterliliğini tam olarak değerlendirebilmek için hastanın sağ kalım süresi ve yaşam kalitesini etkileyen volüm durumunun korunması, kan basıncının kontrolü, kalsiyum-fosfor dengesinin sağlanması, yeterli beslenmenin devamının sağlanması gibi çok sayıda faktörü de göz önünde bulundurmak gerekir (39, 40).

Küçük Solüt Klerensine göre Diyaliz Yeterliliğinin Değerlendirilmesi: Diyaliz yeterliliğinin kinetik analizinde en çok kullanılan ölçüm Kt/V oranının hesaplanmasıdır. Peritoneal Kt, 24 saat süre boyunca drene edilen diyaliz sıvısının üre içeriğinin aynı süreye ait ortalama plazma üre düzeyine bölünmesi sonucu elde edilir. Renal Kt ise 24 saatlik idrara ait üre düzeyinin yine aynı süredeki plazma üre düzeyine bölünmesiyle hesaplanır. Daha sonra bu iki Kt terimi toplanarak toplam Kt değeri elde edilir. Bu toplam Kt değeri, toplam vücut suyu olan V değerine bölünerek günlük Kt/V elde edilir (39, 41). Peritoneal diyaliz hastalarında Kt / V'nin minimum değeri 1.7 olmalıdır (42).

Kreatinin Klirensinin Hesaplanması: Diyaliz yeterliliğinin tayininde Kt/V'ye alternatif olarak kullanılır. Rezidüel renal fonksiyon (RRF) HD'dekine göre daha uzun sürdüğünden ve toplam klirensin büyük kısmından sorumlu olduğundan bu ölçüm periton diyalizinde oldukça önemlidir. (41).

2.2.5. Peritoneal Ultrafiltrasyon Yetersizliği

Uzun dönem PD tedavisi gören hastalarda membran özelliklerinin değişimine bağlı olarak zamanla su ve solüt iletiminde problemler yaşanır. Membran yetersizliğinin en önemli sonuçlarından biri UF yetersizliğidir. UF, plazmadaki suyun hidrostatik ve osmotik basınç farkı nedeniyle periton boşluğuna alınmasıdır. Net UF ise bu suyun dışarıya alınmasıdır. Periton zarının fiziksel ve kimyasal özellikleri kişiler arasında farklılıklar gösterir. Yine uzun zaman içinde PD nedeniyle oluşan değişimler de kişiler arasında farklılıklar gösterir. Periton zarındaki geniş damarsal yüzey, yüksek kreatinin diyalizat / plazma (D/P) oranları oluşturur. Bu UF yetmezliğinin ana nedenidir. İçeriğinde %4,25 dekstroz içeren solüsyonların karın içine verilmesinden 4 saat sonra net UF'nin 400 ml'den az olması ile UF yetersizliğinin kesin tanısı konur (43). UF yetersizliğinin dört tipi tanımlanmıştır

Tip 1- Yüksek geçirgenliğe sahip peritoneal yüzey alanı: Zamanla periton zarında meydana gelen değişikliklere bağlı olarak hızlı transporta bağlı gelişir. UF yetersizliğinin en sık nedenidir. Glukoz ve GDP'lere uzun süre maruz kalma ve peritonit ataklarının kümülatif etkileri, çeşitli proinflatuvar ve anjiyojenik mediatörlerin üretilmesine bu da yeni damar oluşumuna neden olarak peritoneal geçirgenliği artırır (43, 44).

Tip 2- Glukoza bağlı düşük osmotik iletkenlik: UF başarısızlığının ikinci tipinde, glukoza yanıt olarak gelişen düşük osmotik iletkenliğe bağlı su kanallarından yetersiz su geçişı söz konusudur (44).

Tip 3- Düşük geçirgenliğe sahip peritoneal yüzey alanı: Peritoneal membrandaki diffüz hipopermeabiliteye bağlı solüt transportu ve ultrafiltrasyonda yetersizlik söz konusudur. Epitelyal mezenkimal dönüşüm sonucu profibrotik mediatörlerin etkisiyle oluşur. Ilımlı formlarında peritoneal membranda basit skleroz görülürken ağır formlarında EPS görülür. Bir yabancı cisim olarak periton kateteri, peritonit atakları, kullanılan diyaliz sıvıları, otoimmün hastalık varlığı, klorheksidin, beta blokerler, endotoksinler bu tip membran yetmezliğinin olası nedenleridir (43).

Tip 4- Total peritoneal sıvı kaybı fazlalığı: Bu tip yetmezlikte peritoneal kaviteden lenfatiklere ve diğer lokal dokulara sıvı absorbsiyonunda artış mevcuttur. İkodekstrin peritoneal kaviteden lenfatiklerle taşındığından ikodekstrinle ultrafiltrasyon yetmezliği peritoneal kaviteden yüksek oranda sıvı absorbsiyonunun indirekt kanıtıdır (43, 44).

2.2.6. Peritoneal Membran Geçirgenliğinin Değerlendirilmesi

Her hastanın peritoneal membran geçirgenliği farklıdır. Bu durum solüt ve sıvı yükünün uzaklaştırılmasını etkiler. Peritoneal membran geçirgenliğini değerlendirebilmek için farklı testler mevcut olup kolay uygulanabilmesi, standart olması, tanı ve prognozu belirlemedeki yararları nedeniyle en yaygın kullanılan test peritoneal eşitleme testidir (PET) (45). Diyalizat ve kandaki glukoz ve kreatinin düzeylerine göre hastalar dört gruba ayrılır:

Yüksek transportlular: Yüksek membran geçirgenliğine sahip olduğundan, üre ve kreatinin klirensi tam ve hızlı bir şekilde sağlanır. Bununla birlikte glukozun hızla kana diffüzyonu sonucu ozmotik gradient kaybolur ve UF yetersizliği meydana gelir.

Yüksek orta transportlular: Bu hastalarda RRF kaybindan sonra bile orta dereceli glukoz konsantrasyonlu diyaliz solüsyonlarıyla yeterli UF sağlanabilir.

Düşük orta transportlular: RRF tamamen kaybolmadıysa SAPD'a standart şekilde devam edilir. Bu hastalarda orta dereceli glukoz konsantrasyonlu diyaliz solüsyonuyla mükemmel UF sağlanabilir.

Düşük transportlular: Bu hastalarda düşük transporta bağlı bozulmuş üre ve kreatinin klirensine eğilim vardır. Glukozun geçişi yavaş olduğundan ozmotik gradient uzun süre korunur ve yeterli UF gerçekleşmiş olur (46-48).

2.2.7. Periton Diyalizinin Komplikasyonları

PD, SDBY olan hastalarda başarılı bir şekilde uygulanabilir olmasına rağmen bu hastalarda uzun dönemde çeşitli komplikasyonlar gelişebilir. PD'nin komplikasyonları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Periton Diyalizinin Komplikasyonları

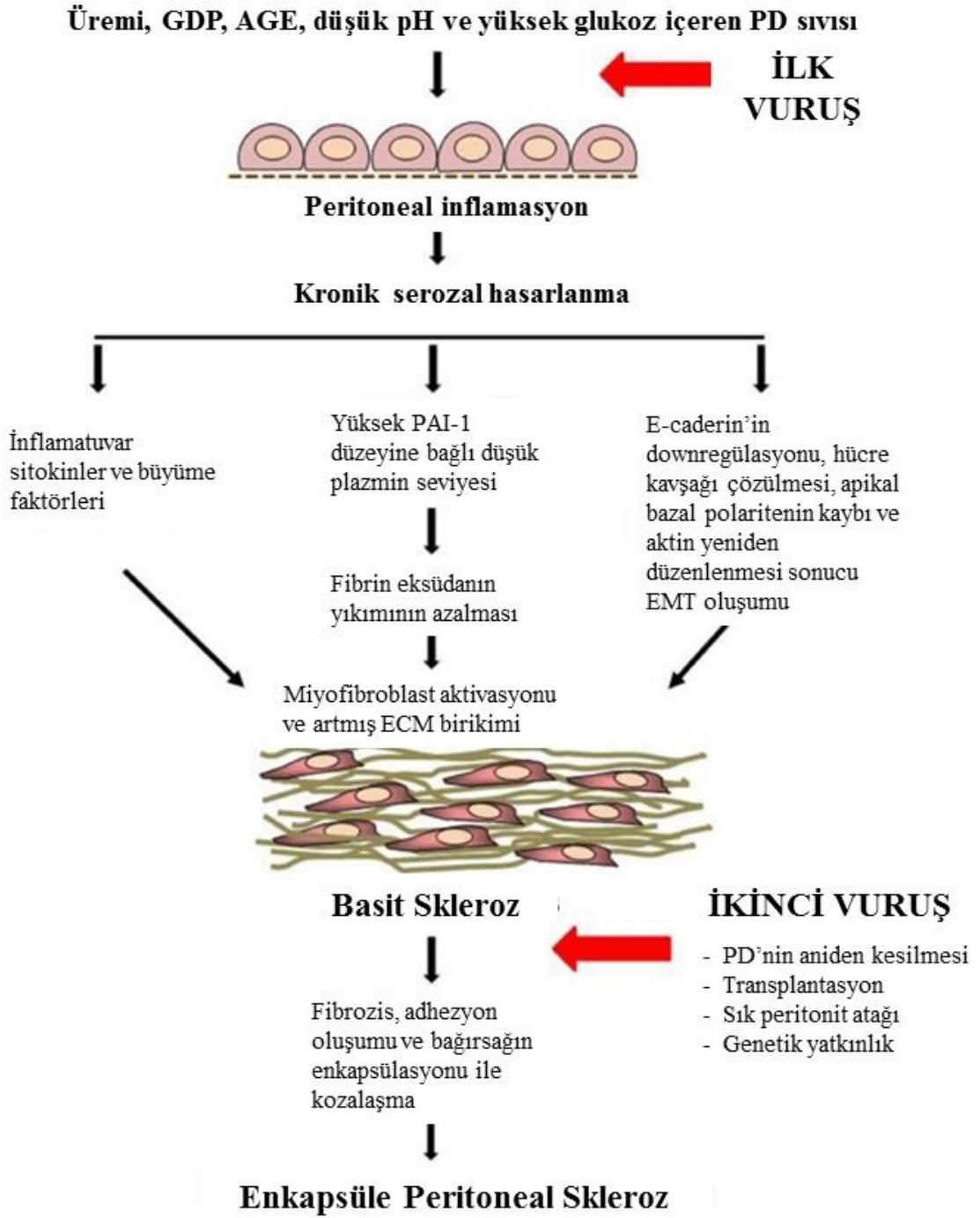
Enfeksiyöz komplikasyonlar (49)	Peritonit, çıkış yeri enfeksiyonu, tünel enfeksiyonu
Metabolik komplikasyonlar (50-52)	Beslenme bozukluğu, glukoz Emilimi, lipid bozuklukları, protein kaybı, sodyum düşüklüğü veya fazlalığı, düşük ve yüksek döngülü kemik hastalığı ve artmış kardiyovasküler hastalıklar
Mekanik komplikasyonlar (51-53)	İçe akım ağrısı, dışa akım yetersizliği, kateter pozisyon bozukluğu, herni oluşumu, karın duvarı ve kateter çevresi sızıntısı, genital ödem, solunumsal yan etkiler (hidrotoraks, solunum fonksiyonlarında değişiklik) sırt ağrısı, ultrafiltrasyon yetersizliği ve EPS

PD tedavisine kronik maruziyet, tekrarlayan peritonit atakları gibi nedenlere bağılı periton yapısında meydana gelen hasar sonucu diyaliz başarısızlığı meydana gelir (54).

2.3. Peritoneal Fibrozis ve Enkapsüle Peritoneal Sklerozis

Normal yara iyileşmesi sürecinde proliferasyon evresinde fibroblast migrasyonu ve granülasyon dokusu meydana gelir. Remodeling esnasında bu fibröz doku normal dokuya dönüşür. Yara iyileşmesi dışında normal dokunun yerini alan fibröz doku nedeniyle organ işlev bozuklukları görülür.

EPS patogenezi ‘iki vuruş’ hipotezi ile açıklanabilir. PF, uzun dönem PD tedavisi gören hastaların periton biyopsilerinde görülen yaygın bir bulgudur. Biyouyumsuz diyaliz solüsyonları, peritonit, üremi gibi kronik inflamasyona neden olan durumlar ilk vuruyu oluşturur ve peritonda serozal hasarlanma meydana gelir (3, 55). Fibrozisin patogeneğinde mezotelyal hücrelerin kaybı, anjiogenez, miyofibroblastların artışı ile birlikte progresif submezotelyal incelleme görülmektedir (54). PD tedavisinden kısa bir süre sonra peritoneal mezotel hücreleri epitelyal fenotiplerini kaybederek mezenkimal karakteristlik kazanmaktadırlar (56). Bu değişim EMT olarak adlandırılır. Epitel hücreleri apikal - bazolateral polaritelerini kaybederek fibroblast benzeri hücrelere dönüşür ve daha migratuvar, invaziv ve fibrojenik hale gelirler (57). PAI-1’in aşırı ekspresyonuna bağılı fibrin birikimi meydana gelir. İnflamatuar sitokinler ve büyüme faktörlerinin salınımı, EMT sonucu miyofibroblast aktivasyonu ile birlikte ECM depozisyonunda artış periton zarında basit skleroz gelişimine neden olur. PD’nin birden kesilmesi, tekrarlayan peritonitler ve genetik yatkınlık gibi nedenler ise ikinci vuruyu oluşturur ve fibrozis ilerleyerek bağırsaklar etrafında enkapsülasyona neden olur. Bu duruma EPS denir (**Şekil 1**) (3). PD ile ilişkili peritoneal fibrozis, peritonun parlaklık kaybından, EPS’ye kadar çeşitli görünümde olabilir (1).



Şekil 1. EPS Gelişiminde 'İki Vuruş' Teorisi (3)

GDP: Glukoz yıkım ürünü, AGE: ileri glikasyon son ürünleri, PD: periton diyalizi, EMT: epitelyal mezenkimal dönüşüm, ECM: ekstrasellüler matriks

Fibrozis, skleroz ve enkapsülasyon terimlerinin net tanımları olmadığından PF'nin tanımını yapmak oldukça zordur (58). Kesin tanı genellikle EPS gelişimi sonrasında histopatolojik incelemeyle konur. Tıkaçıcı ileus varlığında sistemik inflamatuvar yanıtın artması ile oluşan klinik bulgular ve görüntüleme teknikleri ile periton zarının kalınlaştığı, enkapsülasyonun gerçekleştiği, barsak tıkanıklığı, kozalaşma ve kalsifikasyonun geliştiğinin gösterilmesi EPS tanısı için yeterli kabul edilmiştir. Ağırlıklı olarak klinik bulgularla tanı konulmakta iken son çalışmalara göre uzun süre PD'nde kalan ve periton fonksiyonları bozulan hastalarda EPS düşünülmektedir (59).

Peritoneal fibrozis multifaktöriyel bir durumdur ve PD kateteri, kullanılan solüsyonların içeriği (düşük pH, glukoz maruziyeti, hiperosmolite, GDP'ler ve laktat), sistemik faktörler, genetik yatkınlık gibi birçok etkenle ilişkilidir. İnflamatuvar sitokinlerin varlığı, PAI-1'in overekspresyonu sonucu fibrin birikimi ve EMT'ye bağlı miyofibroblast aktivasyonu ile birlikte ekstrasellüler matriks birikiminde artış fibrozis ve neoanjiyogenez oluşumuna neden olur (3). Diyalizat biyobelirteçlerinin ve uzun süreli PD tedavisi sırasında ortaya çıkan inflamatuvar ve fibroz süreçlerde yer alan moleküler yolların araştırılması erken tanı ve tedavi yönetimi açısından oldukça önemlidir (31).

EPS mortalitesi yüksek bir komplikasyon olduğundan EPS gelişiminden önce peritoneal membran hakkında bilgi verecek bir molekül bulmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır.

TGF- β 1, EMT için prototipik bir uyarıcıdır ayrıca myofibroblast farklılaşmasında ana faktördür. Loureiro ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada farelerde TGF- β 1'in intraperitoneal fonksiyonu bloke edilerek periton zarının diyalizata bağlı hasardan korunabileceği gösterilmiştir (60). Peritoneal boşlukta fibrotik yanıtın gen ekspresyon profilini incelemek amacıyla sıçanlarda yapılan bir çalışmada erken dönemde TGF- β 1 ve TGF- β 1 ile uyarılabilir bir gen olan PAI-1 gibi mediatörlerin geç dönemde ise profibrotik genlerin upregüle olduğu gösterilmiştir (61).

Ho-dac-Pannekeet ve ark. mezotelyal hücre kütlelerinin veya hücre döngüsünün bir göstergesi olarak CA-125 molekülü ile PD hastalarında gün gün ve uzun dönemde yaptıkları ölçümler sonucu CA-125 düzeyinde meydana gelen ani düşüşün peritoneal skleroz için alarm işareti olabileceğini belirtmişlerdir (62). EPS için erken tanısal belirteç bulmak amacıyla yapılan bir diğer çalışmada CA-125 düşüklüğü ile beraber lokal inflamasyon belirteci olan IL-6 (İnterlökin-6)'nın yüksek düzeylerinin EPS gelişimi için % 70 duyarlılık ve % 89 özgüllüğe sahip olduğu gösterilmiştir. Goodlad ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise MCP-1 (monocyte

chemotactic protein-1), IL-6, CCL15 (leukotactin) gibi sitokinlerin EPS geliştirecek hastaların diyalizat sıvısında yüksek saptandığı ancak lojistik regresyon modeli üzerinden değerlendirildiğinde iyi tanımlanmış klinik bulgulara (PD süresi, membran transport durumu gibi) üstünlüğü olmadığı gösterilmiştir (63).

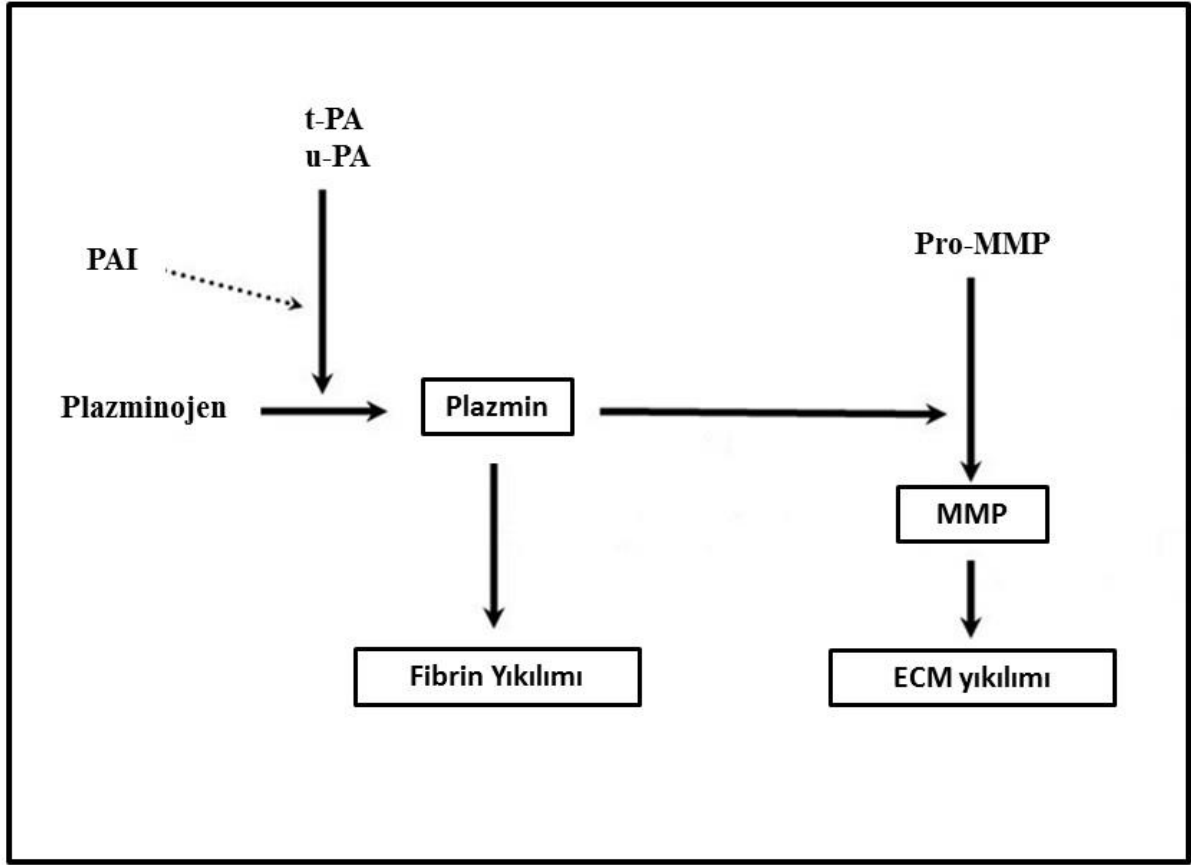
Mezenkimal fenotipik değişim göstermiş peritoneal mezenkimal hücrelerde upregüle olan miR-21 (microRNA-21) ile yapılan bir çalışmada sağlıklı kontrollere kıyasla PD hastalarındaki peritoneal membran biyopsi örneklerinde artmış miR-21 düzeyleri saptanmıştır ayrıca uzun dönem PD gören hastaların diyalizat sıvısında yüksek düzeyde bulunmuştur. miR-21'in peritoneal membrandaki fibrozisin diyalizat sıvısından saptanabilecek bir biyogösterge olarak kullanılabileceğini savunmuşlardır (64).

Bir diğer biyobelirteç adayı olan MMP-9 ile ilgili yapılan bir çalışmada MMP-9'un muhtemelen E-cadherin'in bölünmesi ve b-catenin sinyalinin indüksiyonu yoluyla peritoneal membran hasarına neden olduğu ve bu molekülün periton zarı hasarı için biyobelirteç ve PD hastalarında peritoneal zarın korunması için terapötik bir hedef olabileceği ileri sürülmüştür (65).

2.4.Plazminojen Aktivitör İnhibitör-1

2.4.1. PAI-1'in Yapı ve Fonksiyonu

PAI-1 (serine or cysteine proteinase inhibitor, clade E) plazminojenin güçlü proteolitik enzim olan plazmine dönüşümünde görevli olan tPA ve uPA'nın inhibisyonunda rol oynayan güçlü proteolitik bir enzimdir (**Şekil 2**). PAI-1 yaralanmadan sonra kanamayı verimli bir şekilde durdurarak hemostazda önemli bir rol oynar. uPA / tPA ile PAI-1 etkileşimi, uPA / tPA'nın aktivasyonu, plazmin oluşumu ve plazmin bağımlı matriks metalloproteinaz (MMP) aktivasyonunu engeller. Böylece, PAI-1, ECM proteinlerini proteolitik bozulmadan korur ve yara iyileşmesini hızlandırmaya yardımcı olur (66, 67).



Şekil 2. PAI-1'in Görevi

PAI: plazminojen aktivatör inhibitör, t-PA: doku plazminojen aktivatörü, u-PA: ürokinaz, MMP: matriks metalloproteinaz, ECM: ekstrasellüler matriks

PAI-1, vasküler endotel hücreleri, adipositler, makrofajlar, kardiyomiyositler ve fibroblastlar da dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından sentezlenir. Aktive edilmiş ve latent PAI-1'in dolaşımdaki yarı ömrü sırasıyla 32 ve 7 dakikadır (68).

Serpin ailesi proteinleri üç adet β -tabakası ve dokuz adet α -heliks içerir. PAI-1'in iyi karakterize edilmiş iki fonksiyonel alanı, insanlar, fareler ve sıçanlar dahil olmak üzere farklı memelilerde oldukça korunmuş bölgelerdir. Bu alanlardan biri ekzon 3 ve 4 tarafından kodlanan ve PAI-1'in ECM'ye bağlanmasını sağlayan Vitronektin'in yüksek affiniteyle bağlandığı bölgedir. Ekson 8 ile kodlanan PAI-1'in diğer işlevsel alanı, konformasyonel değişikliğe uğrayan ve tPA / uPA aktivitesinin inhibisyonu için gerek duyulan reaktif merkez halkadır (RCL) (66, 69). PAI-1 diğer serpinlerden farklı olarak herhangi bir proteaz gerektirmeksizin latent forma dönüşebilir. PAI-1 üç formda bulunabilir. Aktif formda sekrete edilir ve tPA, uPA ile kovalent kompleks oluşturur. Konformasyonel değişim ile RCL bölgesi

β tabaka içine girerek kendi kendini inhibe eder ve latent forma dönüşmüş olur. Üçüncü non-inhibitör konformasyonda ise tPA ve uPA ayrılmış haldedir (2, 5).

PAI-1'in uPA / tPA / plazmin sisteminin serin proteaz aktivitesini kontrol etmek dışında başka görevleri de vardır. Endotel hücrelerinde artmış PAI-1 seviyelerinin hücre apoptozuna katkıda bulunduğu bilinmektedir (66, 70). PAI-1, şeker hastalığı da dahil olmak üzere metabolik sendromun başlangıcında yer alan insülin reseptörlerinin ve ADAM17'nin Furin bağımlı matürasyon ve aktivasyonunu önler. Bu da yüksek PAI-1 düzeylerinin metabolik sendrom gelişimine katkısının, Furin ve ilişkili diğer proprotein dönüştürücülerin etkileşimi ve inaktivasyonu yoluyla olabileceğini göstermektedir (66, 71). Artmış PAI-1 aktivitesi tromboembolik hastalıklar, ateroskleroz, kanser (anjyogenez ve metastaz) ve çoklu organ fibrozisi gibi birçok patolojik süreçte rol oynar (2, 5, 66).

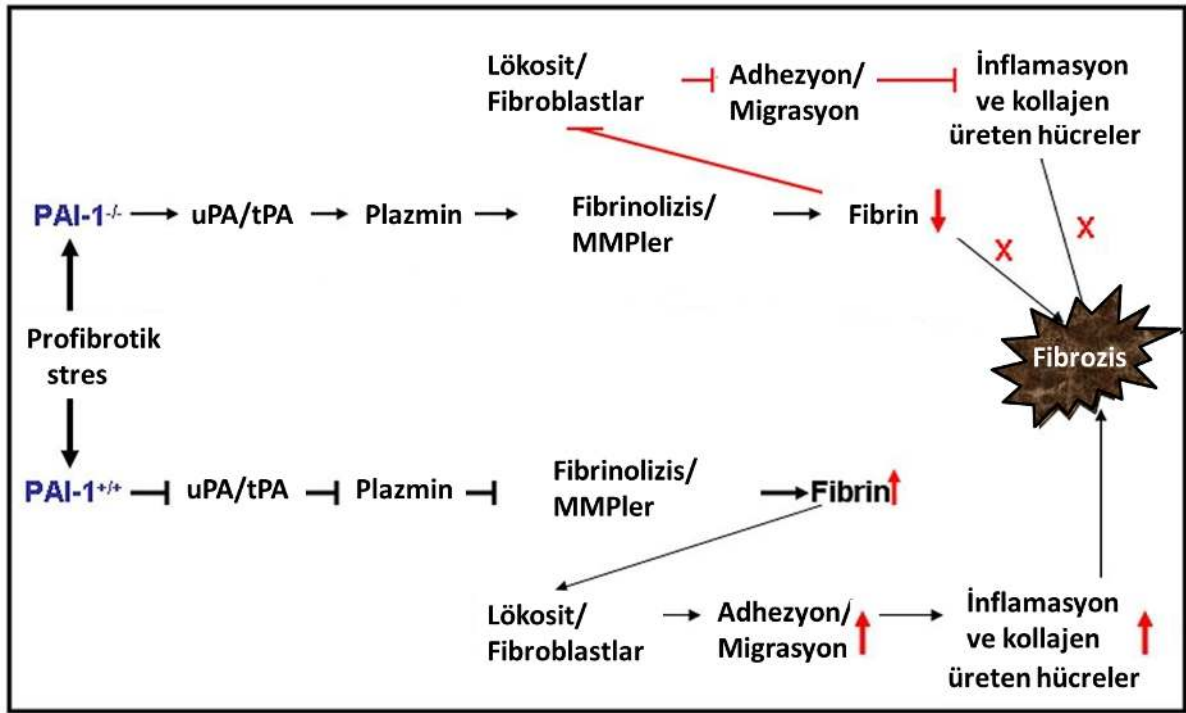
2.4.2. PAI-1'in Yara İyileşmesindeki Rolü

Yaralanmaya tepki olarak yara iyileşmesi sırasında inflamasyon, artmış sitokin / kemokin salınımı, yara bölgesine hücre göçü ve dolaşımdaki mononükleer hücreler / fibroblastların toplanması ve aktivasyonu meydana gelir. Aktive fibroblastlar veya EMT ile fibroblastlar miyofibroblastlara farklılaşır ve yarayı iyileştirmek için kollajen ve fibronektin gibi hücre dışı matriks proteinleri sentezlerler. Uzun süren veya kalıcı inflamasyon profibrotik yolları aktive ederek anormal doku onarımına ve organ işlevini bozan skar veya fibrozise neden olur. Fibrotik dokulardaki yüksek PAI-1 seviyesi doku proteolitik aktivitelerini önleyerek kollajen yıkılımının azalmasına ve doku fibrojenezine katkıda bulunur. Birikmiş kollajenlerin ve diğer matriks proteinlerinin fizyolojik olmayan seviyeleri doku homeostazını bozmaktadır. Dokuda meydana gelen sertlik, kalınlık artışı ve doku elastikiyeti kaybı, doku fibrozisinin patolojik göstergesidir. Fibrinolitik sistemin aktivitesi PAI-1 ile uPA / tPA'nın güçlü inhibisyon etkisine bağlıdır (66).

PAI-1 karaciğer, böbrek, kalp gibi birçok organda meydana gelen fibroziste TGF- β ile birlikte önemli rol oynar. Bir fibrotik cilt lezyonu olan keloid dokularda yaralanmaya bağlı fibroblast proliferasyonu ve dermal bölgede artmış kollajen birikimi mevcuttur. Keloid dokudaki fibroblastlar yüksek PAI-1 ve düşük uPA seviyesi sergilemişlerdir. uPA'nın PAI-1'e değişen oranı, keloid fibroblastlarda fibrin ve diğer ECM proteinlerinin daha az yıkımına neden olur ve böylece dermal fibrojenezine katkıda bulunur (72). Ayrıca keloid dokularda Hipoksiyle indüklenebilir faktör-1A (HIF-1A) molekülü üzerinden kollajen birikiminde

artmış PAI-1 düzeylerinin önemli rol oynadığı gösterilmiştir (6). Adenoviral vektörler kullanılarak normal ve keloid deri fibroblastlarında PAI-1'in aşırı ekspresyonunun yüksek kollajen birikimine, siRNA aracılığıyla PAI-1'in azalmasının da kollajen düzeylerinde düşüşe neden olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular PAI-1'in kollajen düzeylerini kontrol eden, hipertrofik skarlaşmaya katkıda bulunan, önemli bir profibrotik belirteç olduğunu göstermektedir (73).

Bir in vitro modelde uPA yokluğunda veya fazla PAI-1 varlığında yara iyileşme sürecinin olumsuz bir şekilde etkilenmiş olduğu saptanmıştır (74). PAI-1, uPA / tPA / plazmin / MMP'lerin proteolitik aktivitesini, fibrin düzeylerini ve inflamatuvar ve kollajen üreten hücrelerin migrasyonunu kontrol eder. PAI-1 + / + farelerde yüksek seviyedeki fibrin, inflamatuvar ve kollajen üreten hücrelerin artmış adhezyonuna, migrasyonuna ve doku fibrozisine neden olur (Şekil 3) (66).



Şekil 3. Farklı Organlarda İndüklenen Fibroziste PAI-1'in Olası Rolü (66)

PAI: plazminojen aktivatör inhibitör, uPA: ürokinaz, tPA: doku plazminojen aktivatörü, MMP: matriks metalloproteinaz

2.4.3. PAI-1 geni

PAI-1, SERPIN süper ailesinin bir üyesidir. SERPINE1 olarak adlandırılan PAI-1 geni, 7. kromozomun uzun kolunda 22.1 bölgesinde bulunur ve 402 aminoasit uzunluğunda, 45060 Da ağırlığında glikoprotein yapısında bir polipeptidi kodlar.

PAI-1'in aşırı ekspresyonu ya da eksikliği sonucu çeşitli hastalıklar görülür. Aktif PAI-1 düzeyinin kanda 1 IU/ml'den düşük olduğu hereditör PAI-1 eksikliği olan hastalarda kanama epizodları görülür. Bu durum plazminin fazla üretimine bağlı prematüre pıhtı lizisi sonucunda gerçekleşir. Diğer taraftan PAI-1'in fazla üretiminden dolayı fibrinolizisin inhibisyonu sonucu koroner arter hastalıkları ve miyokard infarktüsü riskinde artış meydana gelir (5, 75, 76). Keloid gibi cilt lezyonlarında artan seviyedeki Tip I kollajen, deri fibrozuna katkıda bulunurken, artmış PAI-1'den kaynaklanan bozulmuş bir uPA / tPA / plazmin / MMP proteolitik sistemi dermal fibrojeniz sürecinde önemlidir (77). Ayrıca keloid dokuda anormal düzeylerde saptanan TGF- β , IGF-1 ve PDGF'nin PAI-1 ekspresyonunu tetikleyerek PAI-1 düzeylerinde artışa neden olduğu görülmüştür (6).

Yükselmiş PAI-1 plazma seviyeleri PAI-1 geninin promotöründe 1 bç guanin silinmesi / eklenmesi (4G / 5G) polimorfizmiyle de ilişkilidir. 4G alleli, daha yüksek plazma PAI-1 transkripsiyonu ve aktivitesine neden olur. Her iki allel bir transkripsiyonel aktivatörü bağlar, ancak 5G alleli aynı zamanda bir baskılayıcı protein bağlanma yerine bağlanır. Bağlı baskılayıcı bulunmadığında, 4G allel, PAI-1 transkripsiyonunun artmış bazal seviyesiyle ilişkilidir (78, 79).

PAI-1 gen ekspresyonu ve aktivitesinin sabahın erken saatlerinde zirveye ulaşan sirkadyen salınımıyla düzenlendiği bilinmektedir. Çalışmalar, PAI-1 ekspresyonunun sirkadyen salınımının transkripsiyonel olarak da düzenlendiğini göstermektedir. Plazma PAI-1 konsantrasyonu, 4G/4G homozigot kişilerde sadece sabahları daha yüksektir, bu durum 4G/4G allelinin PAI-1 sentezinin sirkadyen salınımıyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir (66).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Hastaların Seçimi

En az 3 yıldır PD tedavisi gören, radyolojik ve klinik olarak PF kuşkusu olan ya da PF geliştirme ihtimali yüksek olan ve PD tedavisi gören ancak PF geliştirmeyen DEÜTF İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalından 15, Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi Nefroloji Bilim Dalından 10 olmak üzere toplam 25 hasta çalışmaya dahil edildi.

Bu çalışmaya, etik kurul onayı (**Ek 1**) alındıktan sonra, her yaş grubundan en az 3 yıldır PD tedavisi gören, radyolojik ve klinik olarak PF kuşkusu olan ya da PF geliştirme ihtimali yüksek olan ve PD tedavisi gören ancak PF geliştirmeyen, DEÜTF İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Bilim Dalından 15, Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi Nefroloji Bilim Dalından 10 olmak üzere toplam 25 hasta çalışmaya dahil edildi. PAI-1 4G/5G polimorfizmi bakılması amacıyla yönlendirilen hastalardan PAI-1 geni tüm kodlayıcı ekzonların dizi analizlerinin yapılması planlandı. Tüm olgulara ve yakınlarına çalışma hakkında bilgi verildi ve çalışmaya dahil olmayı kabul edenlerden yazılı onam alındı (**Ek 2**).

3.2. Verilerin Toplanması

Bu araştırma kapsamında, PAI-1 4G/5G polimorfizmi bakılması amacıyla başvuran ve PAI-1 geni tüm kodlayıcı ekzonların dizi analizlerinin yapılması planlanan PD hastalarının muayene edilerek ve medikal kayıtları incelenerek elde edilen bilgileri örneği **Ek 3**'de sunulan veri kayıt formuna kaydedildi. Veri kayıt formu, kişisel bilgiler, hastaların bilinen ve daha önce geçirdiği hastalıkları, hastadaki böbrek yetmezliğinin nedeni, KBY ve PD süresi, PD tipi, geçirilen peritonit sayısı, UF değeri /miktarı, Kt/V değeri, PET sonucu, kullanılan diyaliz solüsyonları, hastanın kullandığı ilaçlar ve ateş, yorgunluk, iştah kaybı, bulantı, kusma, dolgunluk hissi, barsak sesleri, karın ağrısı gibi şikayetlerinin mevcut olup olmadığını ve aile ağacını içermektedir.

3.3. Moleküler Genetik Çalışma

PAI-1 geni dizi analizi için aşağıdaki basamaklar yapıldı:

1. Dört ml periferik kan örneğinin etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren steril tüplere alınması
2. Periferik kandan DNA izolasyonu
3. İzole edilen DNA'nın konsantrasyon ve saflığının belirlenmesi
4. PAI-1 4G/5G polimorfizmini içeren bölgenin biyotin ile işaretlenmiş primerlerle amplifiye edilmesi
5. Ters hibridizasyon yöntemi kullanılarak PAI-1 4G/5G polimorfizminin değerlendirilmesi
6. PAI-1 geninin tüm kodlayıcı ekzonlarının ve ekzon intron bileşkelerinin amplifikasyonu [ilk polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) aşaması]
7. Agaroz jel elektroforezinde amplikonların kontrolü
8. İlk saflaştırma aşaması
9. İkinci PZR reaksiyonu
10. İkinci PZR ürünlerinin saflaştırma aşaması
11. Örneklerin kapiller elektroforez cihazına yüklenmesi ve uygun programlar yardımıyla analizin değerlendirilmesi

3.3.1. Hasta Periferik Kan Örneklerinin Alınması

DEÜTF Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı ve Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi Nefroloji Bilim Dalı'nda takip edilen hastalardan SERPINE1 geni dizi analizi için dört ml periferik kan örneği, EDTA içeren tüplere alındı. Hastaların kanları DNA izolasyonu yapılmaya kadar +4°C'de saklandı.

3.3.2. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları **Tablo 6** 'da verilmiştir.

Tablo 6. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Markaları

Cihazlar	Marka
Mikrosantrifüj	Eppendorf
Isı bloğu	P. selecta
Otomatik pipet seti	Finnipipette
Vorteks	IKA MS 3 basic mini vortex
Spektrofotometre	Nanodrop ND-1000
Hassas terazi	Denver
Mikrodalga fırın	Arçelik
Yatay elektroforez tankı	Hybaid
Jel görüntüleme cihazı	Syngene
Termal döngü cihazı	Mastercycler Gradient-Eppendorf
PZR kabini	Thermo
Kapiller elektroforez cihazı	Applied Biosystem 3130 Genetic Analyzer
Buzdolabı	Arçelik
Derin dondurucu	Altus
Auto-Lipa	Tecan

3.3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler ve markaları **Tablo 7** 'de verilmiştir.

Tablo 7. Çalışmada Kullanılan Kitler, İçerdikleri Kimyasal Maddeler ve Markaları

Kullanılan Kit Adı	İçerdiği Kimyasal Maddeler	Marka
High Pure PCR Template Preparation kiti	- Binding buffer (6 M guanidin HCl, 10 mM üre, 10 mM Tris-HCl, %20 Triton X-100 (v/v), pH:4,4) - Proteinase K - Inhibitor removal buffer (5 M guanidin-HCl, 20 mM Tris-HCl, pH:6,6) - Washing buffer (20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH:7,5) - Elution buffer (10 mM Tris buffer, pH 8.5) - High Pure filtre tüpleri	Roche
CVD StripAssay® kiti	Lizis solüsyonu - GEN^xTRACT Resin - Amlifikasyon miski A - Amlifikasyon miski B - Taq Dilution Buffer - DNAT (%1,6 NaOH) - Typing Trays - Teststripleri - Hibridizasyon Buffer - Wash Solution A - Konjugat Solüsyonu (streptavidin – alkale fosfat) - Wash Solution B - Color Developer (Nitroblue tetrazolim ve 5-bromo-4-kloro-3-indol fosfat)	ViennaLab Diagnostics GmbH
Taq DNA Polymerase	Taq DNA Polymerase (5U/ul)	Biomatik
AmpliTaq Gold® 360 Master Mix	- AmpliTaq Gold® 360 Master Mix - 360 GC Enhancer	Thermofisher Scientific
5xTune up™ solüsyonu	5xTune up™ solüsyonu	NanoHelix
ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup kiti	- Exonuclease I - Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) - Buffer	Affymetrix
BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kiti	BigDye terminator v3.1 cycle	Applied Biosystems
	1X Dilution buffer Dye saving solution	NanoHelix
ZR DNA Sequencing Clean-up Kiti	- Sequencing binding buffer - Zymo-Spin™ IB kolonları - Sequencing wash buffer	Zymo Research

3.3.4. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, organik açıdan bozulmamış olan hücrelerde özel teknikler aracılığıyla DNA molekülünün ortaya çıkarılmasıdır. Bu çalışmada periferik kandan spin kolon yöntemi ile “High Pure PCR Template Preparation (Roche™)” kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. Protokol kit içeriğinde belirtilen standartlara göre gerçekleştirildi:

1) Her hasta için 1,5 ml’lik steril, kapaklı bir mikrosantrifüj tüpü numaralandırılıp hasta ismi üzerine yazıldı. Tüplere hastalara ait 200 µl periferik kan örneği konuldu. Üzerlerine sırasıyla 200 µl “binding buffer” ve 40 µl proteinaz K (kullanım öncesi liyofilize halde bulunan proteinaz K 4,5 ml distile suda çözüldü) eklendi ve vorteks karıştırıcı yardımıyla 2-3 sn karıştırıldı.

2) Tüpler ısı bloğuna konuldu ve 72°C’de 10 dk inkübe edildi.

3) Süre bitiminde, tüplerin üzerine 100 µl izopropanol eklendi ve pipetaj yapıldı. Sonrasında tüplerdeki karışımlar içlerinde “high püre” filtre bulunan 2 ml’lik toplama tüplerine aktarıldı.

4) 8000 x g devirde 1 dk santrifüj edildi.

5) “High püre” filtreli tüpler yeni toplama tüplerine aktarıldı ve önceki toplama tüpleri atıldı. “High püre” filtreli tüpler üzerine 500 µl “inhibitor removal buffer” eklendi.

6) 8000 x g devirde 1 dk santrifüj edildi.

7) “High püre” filtreli tüpler yeni toplama tüplerine alındı ve önceki toplama tüpleri atıldı. “High püre” filtreli tüpler üzerine 500 µl washing buffer eklendi.

8) 8000 x g devirde 1 dk santrifüj edildi.

9) “Washing buffer” ile yıkama işlemi 2 defa tekrar edildi.

10) “High püre” filtreli tüpler yeni toplama tüplerine alındı ve üzerine herhangi bir çözelti eklenmeden 13000 x g devirde 1 dk santrifüj edildi.

11) “High püre” filtreli tüp daha önceden numaralandırıp hasta isimlerini yazdığımız mikrosantrifüj tüplerine alındı ve önceki toplama tüpleri atıldı.

12) “High püre” filtreli tüpler üzerine daha önceden 72°C’ye ısıtılan elution buffer’dan 100 µl eklendi ve oda ısısında 2 dk inkübasyona bırakıldı.

13) Inkübasyon sonrasında 8000 x g devirde 1 dk santrifüj edildi.

14) “High püre” filtreli tüpler atıldı.

15) Elde edilen DNA’lar saflıkları ve konsantrasyonları belirlendikten sonra, Parafilmle ağzıları kapatılarak DNA saklama kutularına konulup -20°C’de saklandı.

3.3.5. Spektrofotometre ile DNA Miktar ve Saflığının Belirlenmesi

Spektrofotometre, DNA, RNA, oligonükleotidler gibi ışık absorpsiyonu yapabilen maddelerin sıvı solüsyonlar içindeki miktarı hakkında kantitatif bilgi verir. Çözeltiden belirli spektrumlarda ışık geçirilir ve çözelti tarafından ne kadar ışığın absorbe (A) edildiği belirlenir. DNA ve RNA 260 nm’de ve proteinler 280 nm’de ışığı maksimum absorbe ettiği için A260/A280 oranı kullanılarak nükleik asitlerin saflığı hesaplanabilir. Saflığı, analiz için uygun olan DNA 1,8-2 değerlerinde A260/A280 oranına sahiptir. Bu değer aralığından daha az olan oranlar protein kontaminasyonunu gösterirken üzerindeki değerler RNA miktarının fazla olduğunu gösterir.

İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflığı spektrofotometrede (NanoDrop) ölçüldü. Saflık ve konsantrasyonlarında problem olan DNA’lar tekrar izole edildi.

3.3.6. PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Ters Hibridizasyon Yöntemiyle Değerlendirilmesi

Olgulara ait DNA örneklerinde PAI-1 4G/5G polimorfizmi, CVD StripAssay® (ViennaLab Diagnostics GmbH, Vienna, Austria) kiti kullanılarak ters hibridizasyon yöntemi ile belirlendi. Bu yöntem, hedef genlerin biyotin işaretli primerler ile multipleks PZR sonrasında nitroselüloz membranlar (stripler) üzerindeki tamamlayıcı problemleri ile hibridizasyonu ve konjugat-substrat reaksiyonu ile bu membranların (stripler) gösterilmesine dayanır.

3.3.6.1. In vitro Amplifikasyon (PZR)

Olgulardan elde edilen DNA örneklerinin PZR ile amplifikasyonu için her örnek için iki ayrı reaksiyon karışımı hazırlandı. Reaksiyon karışımları ve içerikleri **Tablo 8**’de verilmiştir.

Tablo 8. Reaksiyon Karışımları ve İçerikleri

Solüsyon	Miktar	Solüsyon	Miktar
Amplifikasyon miksi A	15 µl	Amplifikasyon miksi B	15 µl
Taq DNA Polimeraz	0.4 µl	Taq DNA Polimeraz	0.4 µl
Taq Dilution Buffer	4.6 µl	Taq Dilution Buffer	4.6 µl
DNA (~100 ng)	5 µl	DNA (~100 ng)	5 µl
Toplam	25 µl	Toplam	25 µl

İstenilen bölgelerin amplifikasyonu için hazırlanan reaksiyon karışımları termal döngü cihazına yerleştirilerek PZR işlemi gerçekleştirildi. PZR tepkime koşulları **Tablo 9**'da verilmiştir.

Tablo 9. PZR Tepkime Koşulları

Aşama	Başlangıç denatürasyonu	Denatürasyon	Primer bağlanması	Uzama	Son uzama	Bekleme
Sıcaklık	94°C	94°C	58°C	72°C	72°C	4°C
Süre	2 dk	15 sn	30 sn	30 sn	3 dk	
Döngü sayısı	1	35			1	∞

3.3.6.2. Hibridizasyon

1. Çalışma öncesi auto-lipa cihazı hazırlandı.

2. Hibridizasyon ve wash A solüsyonu ısı bloğu üzerine yerleştirildi. Diğer Solüsyonlar da uygun yerlere yerleştirildi ve içlerine kendi tüpleri konuldu.

- Kanal 1 (yeşil) :Hibridizasyon buffer (45°C)
- Kanal 2 (mavi) :Wash solution A (45°C)
- Kanal 3 (turuncu) :Wash solution B
- Kanal 4 (kırmızı) : Konjugat solüsyonu
- Kanal 5 (beyaz) :Distile su
- Kanal 6 (sarı) : Developer Solüsyonu

3. Uygun program seçilerek cihaz 45°C'ye kadar ısıtıldı.

4. Traydeki kuyucukların üst köşesine 13'er µl DNAT ve her iki PZR ürününden 13'er µl konularak pipetaj yapıldı.

5. Bütün örnekler kanallara konulduktan sonra hasta sayısı cihaza girildi.

6. Parlak yüzeyleri alta gelecek şekilde her kuyucuğa bir adet strip yerleştirildi (toplam hasta sayısı kadar).

7. Auto-lipa cihazında hibridizasyon programı başlatıldı.

8. Cihaz tarafından kuyucuklara 1'er ml Hibridizasyon Buffer konuldu ve 45°C'de 30 dakika çalkalanarak inkübe edildi.

9. İnkübasyon sonrası Hibridizasyon Buffer cihaz tarafından kuyucuklardan boşaltıldı.

10. Cihaz tarafından her bir kuyucuğa 1'er ml Wash solution A (45°C) ilave edilerek 10 saniye bekletildi ve kuyucuklar boşaltıldı

11. Cihaz tarafından her bir kuyucuğa 1'er ml Wash solution A (45°C) konulup 15 dakika çalkalanarak inkübe edildi ve kuyucuklar boşaltıldı.

12. Bir önceki basamak tekrarlandı.

13. Her bir kuyucuktaki strip üzerine cihaz tarafından 1'er ml konjugat solüsyonu eklenerek 15 dakika çalkalanıp inkübe edildi. Konjugat solüsyonu boşaltıldı.

14. Her bir kuyucuğa cihaz tarafından 1 ml wash solüsyonu B ilave edilerek 10 saniye inkübe edildi ve kuyucuklar boşaltıldı.

15. Her bir kuyucuğa cihaz tarafından 1 ml wash solüsyonu B konulup 5 dakika çalkalanarak inkübe edildi ve kuyucuklar boşaltıldı.

16. Bir önceki basamak tekrarlandı.

17. Her bir strip üzerine cihaz tarafından 1'er ml 'color developer' solüsyonu eklendi ve karanlıkta bantların oluşması için 15 dakika çalkalanarak inkübe edildi.

18. 'Color developer' ortamdan tamamen uzaklaştırıldı. Üzerinde bantlar oluşan stripler 2 kez distile su ile yıkanarak kurutuldu.

3.3.6.3. Ters Hibridizasyon Sonuçlarının Yorumlanması

Hibridizasyon sonrası, stripler değerlendirme kağıtlarına üstte kırmızı altta yeşil markırlar gelecek şekilde yapıştırılarak yorumlandı. Stripin en üst kırmızı markerının altındaki bant kontrol bandıdır ve bütün striplerde çıkması gerekir. CVD StripAssay® kiti PAI-1 4G/5G polimorfizmi dışında Faktör V Leiden, Faktör V R2, Protrombin G20210A, Faktör 13V34L, β -Fibrinojen -455 G/A, GP3A L33P, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, ACE InDel, ApoB R3500Q ve Apo E (E2, E3, E4) polimorfizmlerini de içermektedir. Strip üzerinde bu polimorfizlerin olduğu toplam 26 bölge vardır. PAI-1 4G/5G polimorfizmi 11 ve 12 numaralı bölgelerde oluşan bantlara bakılarak değerlendirilir (**Tablo 10**).

Tablo 10. PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Strip Üzerinde Değerlendirilmesi

11. Bölge	12. Bölge	Sonuç
Pozitif	Pozitif	PAI-1 4G/5G
Pozitif	Negatif	PAI-1 5G/5G
Negatif	Pozitif	PAI-1 4G/4G
Negatif	Negatif	Çalışma tekrar edilmeli

3.3.7. SERPINE1 Geni Dizi Analizi

3.3.7.1. SERPINE1 Geninin Amplifikasyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu, hedeflenmiş DNA bölgesinin, bu bölgeye özgü primerler (oligonükleotidler) ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimi kullanılarak seçici olarak çoğaltılması işlemidir. Üç temel basamak içerir: denatürasyon, primer bağlanması ve uzama (sentez). Bu üç basamak bir PZR döngüsünü oluşturur. DNA'nın iki ipliğini bir arada tutan hidrojen bağlarının kırılmasını içeren denatürasyon basamağı 94-95°C'de gerçekleşir. Isıya dayanıklı Taq DNA polimeraz enzimi, optimum çalışma sıcaklığı olan 72°C'de, ortamdaki nükleotidleri kullanarak zincirin 5' ucundan 3' ucuna doğru uzamasını sağlar. Yaklaşık 2 dk süren bir PZR döngüsü 35 kez tekrar edilir ve hedef DNA'nın 235 kopyası elde edilmiş olur.

SERPINE1 geninin tüm kodlayıcı ekzonları ve ekzon intron bileşkeleri, bu bölgeleri kapsayacak primerler kullanılarak PZR ile çoğaltıldı. SERPINE1 geninin 8 kodlayıcı ekzonu vardır. Bazı ekzonların küçük olmasından dolayı bu ekzonlar birleştirilerek SERPINE1 geni toplam altı bölüm olarak çalışıldı.

3.3.7.1.1. Primerlerin Sulandırılması

İlk olarak, SERPINE1 genini amplifiye etmek için kullanılacak primerlerin (**Tablo 11**) stok çözeltileri hazırlandı. Bu işlem için liyofilize haldeki primerler hedef konsantrasyon 100 pmol/μl olacak şekilde distile suda çözündürüldü ve 100 μl'lik primer çözeltisi hazırlandı. Tüm çözeltiler -20°C'de muhafaza edildi.

Tablo 11. SERPINE1 Geni Primer Dizileri

Ekzon	“Forward” primer (5’->3’)	“Reverse” primer (5’->3’)
2	TGTCATGGTCTCTTCCTGCAC	TGTAGTGGGAAGAAGATGGGG
3	TAGCCCCCATCCATCAGAGT	CTTAAAGCATCCAGCCCTTTGT
4	GGGACTCCGGGAAACATCTA	GGTATTCCTTGGGAGACCCC
5	ACAGGGGATACCCAAAAGCC	ATGTCCTGCAAGCATCACAGA
6-7	TCTGGCCACTTGATTCGGG	GTCCCAAGCCCGTTTTCCAG
8-9	CAGTGCCAGCATCCCTCTGTT	CAGGTGGAGACTAGGGAGTTTG

3.3.7.1.2. Reaksiyon Karışımının Hazırlanması ve PZR koşulları

SERPINE1 geni AmpliTaq Gold® 360 Master Mix kiti kullanılarak amplifiye edildi. Protokol kit içeriğinde belirtilen standartlara göre gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımında kullanılan malzemeler ve miktarları **Tablo 12**’de verilmiştir.

Tablo 12. Reaksiyon Karışımının İçeriği ve Miktarları

Kullanılan malzeme	Miktar
AmpliTaQ Gold® 360 Master Mix	12 µl
5xTune up solüsyonu	3 µl
Forward primer	1 µl
Reverse primer	1 µl
Distile su	3-x
DNA (60-90 ng/µl olacak şekilde)	x
Toplam Hacim	20 µl

Elde edilen karışım termal döngü cihazına yerleştirilerek PZR işlemi gerçekleştirildi. PZR tepkime koşulları **Tablo 13**’de verilmiştir.

Tablo 13. AmpliTaq Gold® 360 Master Mix Kiti Tepkime Koşulları

Aşama	Başlangıç denatürasyonu	Denatürasyon	Primer bağlanması	Uzama	Son uzama	Bekleme
Sıcaklık	95°C	95°C	60°C	72°C	72°C	4°C
Süre	10 dk	30 sn	30 sn	60 sn	7 dk	
Döngü sayısı	1	35			1	∞

3.3.7.1.3. Agaroz Jel Elektrofözezi ile Amplikonların Kontrolü

PZR reaksiyonu sonucu elde edilen amplikonlar %2'lik agaroz jelde 120 voltta (V) yaklaşık 20 dk yürütüldü ve doğru bölgelerin amplifiye olup olmadığının kontrolü yapıldı. Kullanılan kimyasallar **Tablo 14**'te verilmiştir.

Tablo 14. Agoroz Jel Elektrofözezinde Kullanılan Kimyasallar ve Markaları

Malzeme	Marka
Agaroz	Sigma
Etidyum bromür	Sigma
Orange G	Biological Industries
DNA marker	Fermentas, pBR322 DNA/BsuRI Marker, 5
0.5xTris borat EDTA (TBE) tampon solüsyonu	AppliChem® (Tris-Hydrochlorid), Sigma (EDTA), Amresco® (borik asit)

3.3.7.1.4. Jelin Hazırlanışı ve Elektrofözeze Aşaması

1) 0,7 gr agaroz ve 35 ml 0,5XTBE, 100 ml'lik erlenmayer içine konulup, mikrodalga fırında eriyene kadar ısıtıldı.

2) Çözeltide berrak görünüm sağlandığında 1,8 µl etidyum bromür ilave edildi ve iyice karıştırılarak jel tepsisine döküldü ve jelin donması beklendi.

3) Jel tamamen donduktan sonra elektrofözeze tankına yerleştirildi.

4) Parafilm üzerinde, 4 µl PZR ürünü ile 4 µl Orange G karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi.

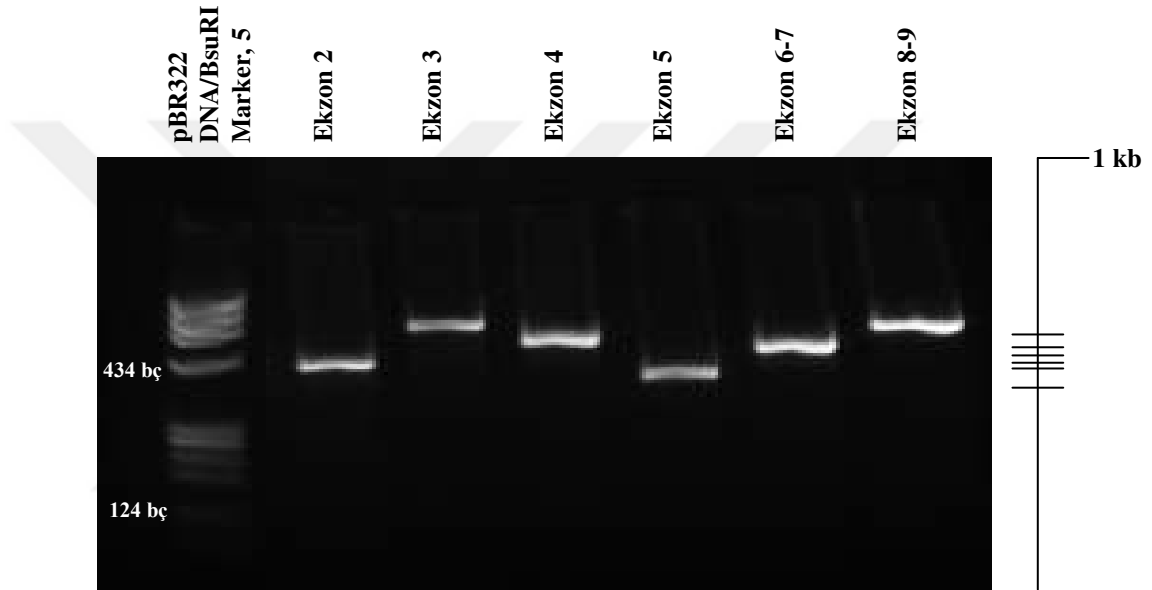
5) Amplikonların doğruluğunu kontrol etmek için her jele marker yüklendi.

6) Örnekler jelde 120 V akımda 20 dk yürütülerek beklenen baz çifti uzunluğuna göre ayrılması sağlandı. Her bir bölümde kaç baz çiftlik (bç) bölge çoğaltıldığı **Tablo 15**'te verilmiştir.

Tablo 15. SERPINE1 Geni Amplifiye Edilen Bölümleri ve Fragment Uzunlukları

Ekzon	2	3	4	5	6-7	8-9
Fragment uzunluğu (bp)	565	797	663	454	585	698

7) Süre bitiminde jel, görüntüleme cihazı aracılığıyla bağlı olduğu bilgisayardaki Genesnap programı kullanılarak fotoğraflandı (Bkz. Şekil 4).



Şekil 4. Amplikonların Agoraz Jel Elektroforez Görüntüsü

8) Uygun amplifiye olmayan amplikonlar için ilk PZR aşaması tekrar edildi ve tekrar jel kontrolü yapıldı.

3.3.7.2. PZR Ürünlerinin Enzimatik Yöntem ile Saflaştırılması

Uygun şekilde amplifiye olan ürünler, dNTP'leri, tek zincirli DNA ipliklerini ve primerleri uzaklaştırmak için “ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup (Affymetrix™)” kiti kullanılarak pürifiye edildi. Kit içeriğinde bulunan “Exonuclease I” enzimi tek zincirli DNA ipliklerini ve primerleri uzaklaştırırken “Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP)” enzimi ortamdaki fazla dNTP'leri uzaklaştırır. Protokol kit içeriğinde belirtilen standartlara göre gerçekleştirildi:

1) Her bir reaksiyon için, 2 µl ExoSAP-IT reaktifi ile 5 µl PZR ürünü 0,2 ml'lik steril PZR tüplerine konuldu ve pipetaj ile karıştırıldı.

2) Elde edilen karışım termal döngü cihazına yerleştirilerek tepkime gerçekleştirildi. Tepkime koşulları **Tablo 16**'da verilmiştir.

Tablo 16. Birinci Saflaştırma Aşaması Tepkime Koşulları

Aşama	Enzim İnkübasyon	Enzim inhibisyonu	Bekleme
Sıcaklık	37°C	80°C	4°C
Süre	30 dk	15 dk	∞
Döngü sayısı	1	1	

3.3.7.3. İkinci PZR Reaksiyonu

İkinci PZR aşamasında “BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing” kiti kullanıldı. Protokol kit içeriğinde belirtilen standartlara göre gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımında kullanılan malzemeler ve miktarları **Tablo 17**'de gösterilmiştir.

Tablo 17. İkinci PZR Reaksiyon Karışımının İçeriği ve Miktarları

Kullanılan malzeme	Miktar
BigDye Terminator v3.1 Cycle [dideoksiribonükleozit trifosfatları (ddNTP) ve AmpliTaq DNA polimerazı içerir]	1 µl
Dye saving	3 µl
1Xdilution buffer (PZR için gerekli kimyasalları içerir)	2 µl
Forward veya Reverse primer	1 µl
Distile su	2 µl
Saflaştırılmış PZR ürünü	1 µl

Üçüncü ekzon ve 8- 9. ekzonu içeren bölümler için ikinci PZR reaksiyonu hem “forward” hem “reverse” primerler kullanılarak iki ayrı reaksiyon şeklinde gerçekleştirildi. Ekzon 4'ü içeren bölüm için “reverse” primerler kullanıldı. Diğer bölümler için “forward” primerler kullanıldı. PZR tüplerindeki karışımlar otomatik ısı döngü cihazına yerleştirilerek tepkime gerçekleştirildi. PZR tepkime koşulları **Tablo 18**'de verilmiştir.

Tablo 18. İkinci PZR Tepkime Koşulları

Aşama	Başlangıç denatürasyonu	Denatürasyon	Primer bağlanması	Uzama	Bekleme
Sıcaklık	96°C	96°C	50°C	60°C	4°C
Süre	1 dk	10 sn	5 sn	4 dk	∞
Döngü sayısı	1	25			

3.3.7.4. İkinci PZR Ürünlerinin Saflaştırılması

PZR sonrası bağlanmayan floresan boyaları, ddNTP'ler ve diğer PZR bileşenlerini ortamdan uzaklaştırmak amacıyla ikinci saflaştırma aşaması “ZR DNA Sequencing Clean-up Kit™” kiti kullanılarak yapıldı. Protokol kit içeriğinde belirtilen standartlara göre gerçekleştirildi:

- 1) 220 µl “sequencing binding buffer” ile PZR ürünü 0,2 ml’lik PZR tüplerine konuldu ve pipetaj yapılarak karıştırıldı.
- 2) Karışım, toplama tüpüne yerleştirilen “Zymo-Spin™ IB” kolonlarına aktarıldı.
- 3) 10000 x g devirde 30 sn santrifüj edildi.
- 4) Kolona 320 µl “sequencing wash buffer” eklendi ve 12600 x g devirde 40 sn santrifüj edildi.
- 5) “Zymo-Spin™ IB” kolonu, 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı ve önceki toplama tüpü atıldı.
- 6) Kolon matriksine denk gelecek şekilde 20 µl distile su eklendi ve 13000 x g devirde 30 sn santrifüj edildi.
- 7) “Zymo-Spin™ IB” kolon atıldı. Kapiller elektroforez cihazına yüklenmeye hazır ürünü içeren mikrosantrifüj tüpü +4 °C’de muhafaza edildi.

3.3.7.5. PZR Örneklerinin Kapiller Elektforez Cihazına Yüklmesi

Saflaştırılan PZR örnekleri, kapiller elektforez cihazı (Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer)'na uygun 96 kuyucuklu plaklara her bir kuyuya bir örnek gelecek şekilde sırasıyla yerleştirildi ve POP-7 polimeri kullanılarak yürütüldü.

3.3.7.6. Kapiller Elektforez Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Örneklerin analizi, "CLC Genomics Workbench 3.6.5" ve "Sequencing Analysis 5.2" yazılım programları kullanılarak yapıldı. Elektforez sonucu elde edilen pikler renklerine göre analiz edildi. Elektferogramda, yeşil renk adenin, siyah renk guanin, kırmızı renk timin ve mavi renk sitozin bazını gösterir. Analiz sonuçları, ilgili genin referans dizisi ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.4. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

İstatistik analizleri SPSS (Statistical Package for Social Science) 15.0 istatistiksel paket programı kullanılarak yapıldı. Sayımla belirtilen değişkenlerin iki grup karşılaştırılmasında Fisher Kesin Test kullanıldı. Ölçümle belirtilen değişkenler Mann Whitney U Testi ile karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hastalara ait Periton Diyalizi parametreleri

Hastalara ait sosyodemografik veriler, SDBY nedenleri ve RRT süreleri **Tablo 19**'da verilmiştir.

Tablo 19. Hastaların Sosyodemografik Verileri, RRT süreleri ve SDBY nedenleri

	Yaş	Cinsiyet	RRT süresi (yıl)	SDBY nedeni
Olgu 1	49	Kadın	5	Bilinmiyor
Olgu 2	70	Erkek	8	HT
Olgu 3	64	Kadın	10	İntertisyel nefrit
Olgu 4	68	Erkek	10	Bilinmiyor
Olgu 5	47	Erkek	5	DM, HT
Olgu 6	68	Erkek	5	Gut nefropati
Olgu 7	75	Kadın	7	HT
Olgu 8	49	Erkek	3,5	Bilinmiyor
Olgu 9	50	Kadın	6	FSGS
Olgu 10	55	Erkek	5	PKBH
Olgu 11	65	Kadın	5	Bilinmiyor
Olgu 12	68	Kadın	8	HT
Olgu 13	54	Kadın	8	MPGN
Olgu 14	57	Erkek	21	FSGS
Olgu 15	45	Erkek	3	HT ve DM
Olgu 16	61	Kadın	7	Bilinmiyor
Olgu 17	70	Kadın	5	HT
Olgu 18	39	Kadın	21	Bilinmiyor
Olgu 19	53	Kadın	6	HT
Olgu 20	59	Erkek	4	HT
Olgu 21	36	Kadın	20	Nefrotoksik ilaç kullanımı
Olgu 22	47	Kadın	5	Bilinmiyor
Olgu 23	57	Kadın	3	Polikistik tek böbrek
Olgu 24	65	Erkek	5	HT
Olgu 25	64	Kadın	3	Bilinmiyor

HT: hipertansiyon, DM: diyabetes mellitus, FSGS: fokal segmental glomerüloskleroz, PKBH: polikistik böbrek hastalığı, MPGN: membranoproliferatif glomerülonefrit

PF öntanısı ile izlenen 25 hastanın 10'u (%40) erkek, 15'i (%60) kadın olup, yaş ortalaması $57,4 \pm 10,3$ (36 yaş - 75 yaş) idi.

Bu hastaların SDBY nedenleri **Tablo 20**'de gösterilmiştir.

Tablo 20. Hastalarda SDBY nedenleri

SDBY nedeni	Hasta Sayısı	%
HT	7	28
Glomerülonefrit	4	16
DM, HT	2	8
PKBH	2	8
Gut nefropati	1	4
İlaça bağlı nefrotoksisite	1	4
Bilinmiyor	8	32

SDBY: son dönem böbrek yetmezliği, HT: hipertansiyon, DM: diyabetes mellitus, PKBH: polikistik böbrek hastalığı

Hastaların PD izlem süreleri ortalama $62,36 \pm 31,9$ (36-181) ay olarak saptandı. Onbir hasta (%44)'nin PD tedavi süresi 60 ay ve üzerindeydi. Hastaların 15 (%60)'inde PD ilk ve tek tedavi yöntemi iken 10 (%40) hastada öncesinde ya da sonrasında HD ve/veya renal transplantasyon öyküsü mevcuttu. Bir hasta tedavisinin bir döneminde PD ile birlikte HD tedavisi almakta idi. Peritoneal yetmezlik ya da diğer nedenlerle PD sonlandırılan hasta sayısı 5 (%20) idi. Hastaların PD için kullandıkları yöntemler; 10 (%40)'unda SAPD, 15 (%60)'inde APD idi (**Tablo 21**).

Tablo 21. Hastaların PD verileri

	PD süresi (ay)	PD tipi	PET sonucu	Kt/V	Peritoneal CrCl	Peritoneal UF miktarı (mL)	24 saatlik peritoneal UF (mL)
Olgu 1	41	APD	LA	1,6	20,57	200	1600
Olgu 2	62	APD	HA	1,92	47,81	-70	1200
Olgu 3	111	APD	HA	2,47	45,39	157	650
Olgu 4	92	APD	HA	2,06	43,41	300	1000
Olgu 5	54	APD	HA	2,91	52,15	-200	300
Olgu 6	62	APD	LA	3,32	45	160	850
Olgu 7	77	APD	HA	2,45	47,10	90	950
Olgu 8	40	APD	H	2,52	59,14	0	1200
Olgu 9	64	SAPD	HA	2,07	51,68	500	1200
Olgu 10	60	APD	LA	2,35	47,28	400	750
Olgu 11	60	SAPD	LA	2,62	37,08	260	100
Olgu 12	78	SAPD	LA	2,49	43,89	300	0
Olgu 13	98	APD	HA	2,34	47,98	100	600
Olgu 14	181	APD	H	1,98	55,95	126	800
Olgu 15	36	APD	H	3,34	103,51	973	400
Olgu 16	51	SAPD	LA	1,91	42,97	300	500
Olgu 17	54	SAPD	HA	2,49	47,76	1650	1000
Olgu 18	36	APD	HA	1,73	28,2	0	800
Olgu 19	43	SAPD	LA	2,71	47,13	500	700
Olgu 20	42	APD	H	3,15	33	1500	1200
Olgu 21	39	APD	LA	2,15	44,33	250	700
Olgu 22	41	SAPD	L	3,01	41,85	850	200
Olgu 23	40	SAPD	HA	2,41	41,19	830	2200
Olgu 24	57	SAPD	L	3,05	11,84	1050	2000
Olgu 25	40	SAPD	LA	1,9	40,69	250	900

PD: periton diyalizi, PET: peritoneal eşitleme testi, CrCl: kreatinin klirensi, APD: aletli periton diyalizi, SAPD: sürekli ayaktan periton diyalizi, H: yüksek transportlular, HA: yüksek orta transportlular, LA: düşük orta transportlular, L: düşük transportlular

Hastalar PET sonrası peritoneal UF miktarları açısından değerlendirildiğinde UF miktarı 16 hastada (%64) 400 ml'den az olarak bulunmuştur (**Tablo 22**).

Hastalar PD süresi ve PET sonrası peritoneal UF miktarı açısından değerlendirildiğinde, 60 ay ve daha uzun süredir PD tedavisi gören, PET sonrası peritoneal UF miktarı 400 ml altında olan 9 (%36) hasta mevcuttu. Bu hastalar peritoneal fibrozis kuşkusu olan ya da

peritoneal fibrozis geliştirme ihtimali yüksek olan hastalar olarak değerlendirildi (**Grup 1**). PET sonrası peritoneal UF miktarı 400 ml ve üzerinde olan, 60 aydan daha kısa süredir PD tedavisi gören hastalar ise peritoneal fibrozis geliştirme ihtimali düşük olan grup (**Grup 2**) olarak değerlendirildi. Hastaların 5 (%20)'inin klinik olarak EPS tanısı mevcut olup PD tedavisi sonlandırılmıştı. Bir hastanın divertikül perforasyonu, birinin de volvulus nedeniyle eksitus olduğu öğrenildi.

Peritoneal membran geçirgenliğini değerlendirmek amacıyla PET yapılan hastaların sonuçlara göre karşılaştırılması **Tablo 22**'de verilmiştir. Grup 1'de sadece 1 hastanın (Olgu 14) yüksek geçirgenlik özelliğine sahip olduğu saptandı.

Tablo 22. Hastaların PET Sonuçlarına Göre Dağılımı

	Grup 1		Grup 2		Toplam	
PET	n	%	n	%	n	%
H	1	11,1	3	18,8	4	16
HA	5	55,6	5	31,3	10	40
LA	3	33,3	6	37,5	9	36
L	0	0	2	12,5	2	8
Toplam	9	100	16	100	25	100

PET: peritoneal eşitleme testi, H: yüksek transportlular, HA: yüksek orta transportlular, LA: düşük orta transportlular, L: düşük transportlular, n: hasta sayısı

Hastalar için hesaplanan Kt/V değerlerine bakıldığında, 9 hastanın (%36) 2,2'nin altında 16 hastanın (%64) 2,2 ve üzerinde değere sahip olduğu saptandı (**Tablo 20**). Grup 1'de 6 (%66,7) hasta 2,2 ve üzerinde değere sahip iken 3 (%33,3) hastanın Kt/V değeri 2,2'nin altında idi. Grup 2'de 11 (%68,8) hasta 2,2 ve üzerinde değere sahip iken 5 (%31,3) hastanın Kt/V değeri 2,2'nin altında saptandı (**Tablo 23**). Kt/V değeri açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (p=1,000).

Tablo 23. Hastaların Kt/V Değerlerine Göre Dağılımı

	Grup 1		Grup 2		Toplam		
Kt/V	n	%	n	%	n	%	p
2,2 ve üzerinde	6	66,7	11	68,8	17	68	1,000
2,2'nin altında	3	33,3	5	31,3	8	32	
Toplam	9	100	16	100	25	100	

n: hasta sayısı

Hastaların peritoneal CrCl değerleri **Tablo 21**'de verilmiştir. Ortalama peritoneal CrCl $45,07 \pm 15,9$ (11,84-103,51) olarak hesaplandı. Grup 1'deki hastaların ortalama peritoneal CrCl $45,95 \pm 4,99$ (37,08-55,95), Grup 2'deki hastaların ortalama peritoneal CrCl $44,58 \pm 19,83$ (11,84-103,51) idi. Peritoneal CrCl açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,462$).

Hastaların kullandıkları solüsyonlar ve glukoz miktarları **Ek 4**'te verilmiştir. Hastaların 7 (%28)'si sadece %1,5 glukoz içeriğine sahip solüsyon kullanırken 18 (%72) hasta osmolaritesi daha yüksek olan solüsyonlardan kullanmaktaydı. Grup 1'de 2 (%22,2) hasta sadece %1,5 glukoz içeriğine sahip solüsyon kullanırken, 7 (%77,8) hasta daha hiperosmolar solüsyon kullanmaktaydı. Grup 2'de ise 5 (%31,3) hasta sadece %1,5 glukoz içeriğine sahip solüsyon kullanırken, 11 (%68,8) hasta osmolaritesi daha yüksek olan solüsyonlardan kullanmaktaydı (**Tablo 24**). Hastaların kullandıkları solüsyonlar açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=1,000$).

Tablo 24. Hastaların Kullandıkları Solüsyonlara Göre Dağılımı

	Grup 1		Grup 2		Toplam		
Solüsyon içeriği	n	%	n	%	n	%	p
Sadece %1,5 glukoz içeren solüsyon kullananlar	2	22,2	5	31,3	7	28	1,000
%2,5, %4,25 veya ekstraneal kullananlar	7	77,8	11	68,8	18	72	
Toplam	9	100	16	100	25	100	

n: hasta sayısı

Yirmidört saatlik peritoneal UF miktarı 16 hastada (%64) 400 ml'den az, 9 (%36) hastada 400 ml ve üzeri olarak saptanmıştır (**Tablo 21**).

PF için tetikleyici faktör olan peritonit atakları açısından hastalar değerlendirildiğinde 6 (%24) hastanın PD süresi boyunca en az bir kere peritonit atağı geçirdiği öğrenildi. Grup 1'deki hastaların 6 (%66,7)'si hiç peritonit atağı geçirmemişken, 3 (%33,3)'ü en az bir kere peritonit geçirmişti. Grup 2'deki hastaların ise 13 (%81,3)'ü hiç peritonit geçirmemişken, 3 (%18,8) hastanın PD süresi boyunca en az bir kere peritonit geçirdiği saptandı (**Tablo 25**).

Peritonit atakları açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,630$).

Tablo 25. Hastaların Peritonit Geçirme Durumlarına Göre Dağılımı

Peritonit atağı	Grup 1		Grup 2		Toplam		p
	n	%	n	%	n	%	
Hiç geçirmeyenler	6	66,7	13	81,3	19	76	0,630
En az bir kere geçirenler	3	33,3	3	18,8	6	24	
Toplam	9	100	16	100	25	100	

n: hasta sayısı

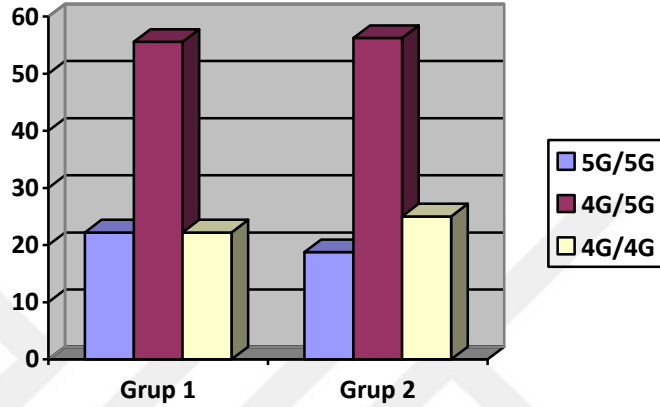
4.2. PAI-1 4G/5G Polimorfizm Sonuçları

PAI-1 4G/5G polimorfizmi, bireylerde 5G/5G, 4G/5G ve 4G/4G olmak üzere üç farklı genotip halinde bulunmaktadır. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalarda PAI-1 4G/5G polimorfizmi değerlendirildi. Hastaların %20 (n=5)'sinde 5G/5G genotipi, %56 (n=14)'sında 4G/5G genotipi ve %24 (n=6)'ünde 4G/4G genotipi saptandı (**Tablo 26**).

Tablo 26. Hastalarda PAI-1 4G/5G Polimorfizm Sonuçları

Grup 1	PAI-1 4G/5G	Grup 2	PAI-1 4G/5G
Olgu 2	5G/5G	Olgu 1	5G/5G
Olgu 3	4G/5G	Olgu 5	5G/5G
Olgu 4	4G/4G	Olgu 8	4G/4G
Olgu 6	4G/5G	Olgu 9	4G/5G
Olgu 7	4G/5G	Olgu 10	4G/5G
Olgu 11	4G/4G	Olgu 15	4G/5G
Olgu 12	4G/5G	Olgu 16	4G/4G
Olgu 13	5G/5G	Olgu 17	4G/5G
Olgu 14	4G/5G	Olgu 18	4G/5G
		Olgu 19	5G/5G
		Olgu 20	4G/5G
		Olgu 21	5G/5G
		Olgu 22	4G/5G
		Olgu 23	4G/5G
		Olgu 24	4G/5G
		Olgu 25	5G/5G

Grup 1’de hastaların %22,2 (n=2)’sinde 5G/5G genotipi, %55,6 (n=5)’sında 4G/5G genotipi ve %22,2 (n=2)’sinde 4G/4G genotipi saptanmıştır. Grup 2’de ise 5G/5G genotipine sahip 3 (%18,75) hasta, 4G/5G genotipine sahip 9 (%56,25) hasta ve 4G/4G genotipine sahip 4 (%25) hasta bulunmaktaydı (**Grafik 1**). Hastaların genotip dağılımı **Tablo 27**’de verilmiştir. Bu polimorfizmin genotip dağılımı açısından iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir (p=1.000).



Grafik 1. Hastalarda PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Genotip Dağılım Grafiği

Tablo 27. Hastalarda PAI-1 4G/5G Polimorfizminin Genotip Dağılımı

	Grup 1		Grup 2		Toplam		
PAI-1 4G/5G	n	%	n	%	n	%	p
5G/5G	2	22,2	3	18,75	5	20	1.000
4G/5G ve 4G/4G	7	77,8	13	81,25	20	80	
Toplam	9	100	16	100	25	100	

n: hasta sayısı

Çalışmamızda grubumuzdaki PAI-1 4G/5G polimorfizminin allel frekansları hesaplandığında 4G allel frekansı %52 (n=26) ve 5G allel frekansı %48 (n=24) olarak bulundu. Grup 1’de 4G allel frekansı %50 (n=9), 5G allel frekansı %50 (n=9) iken grup 2’de 4G allel frekansı %53,1 (n=17) ve 5G allel frekansı %46,9 (n=15) idi.

4.3. SERPINE1 Geni Dizi Analizi Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalarda SERPINE1 geni dizi analizi yöntemi ile değerlendirildiğinde kodlayıcı ekzon ve ekzon-intron bileşkelerinde hiçbir hastada protein

fonksiyonunu bozabilecek bir değişim saptanmadı. Hastalarda, daha önce tanımlanmış, toplam 8 değişim saptandı. Bu değişimlerin 6 (%75)'sı intron 3-4 bölgesinde yer almaktaydı. Kalan değişimlerin biri ekzon 2'de, diğeri intron 4-5 bölgesindeydi. Değişimlerin 6 (%75)'sı tek nükleotid değişimi iken bir tane insersiyon, bir tane de delesyon tipi değişim saptandı. Çalışmamızda dizi analizi ile saptanan gen değişimlerinin Grup 1 ve Grup 2'de hastalara göre genotip dağılımları **Tablo 28** ve **Tablo 29**'da verilmiştir.

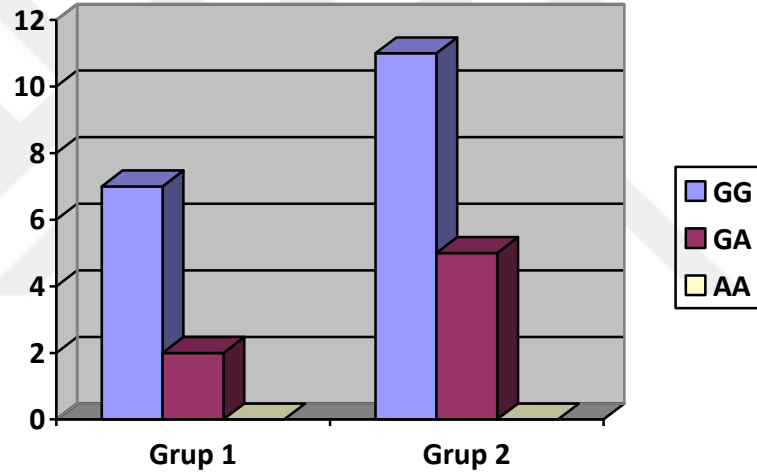
Tablo 28. Grup 1'deki Hastaların SERPINE1 Gen Değişimlerinin Genotip Dağılımı

	rs6092 G>A	rs2227660 G>A	rs2227668 A>G	rs2854233 A>C	rs41281004 C>T	[rs61553169] // [rs72393109] -/CAA	rs368413856 CAA/-	rs2227684 G>A
Olgu 2	GA	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 3	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 4	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	AA
Olgu 6	GA	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 7	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 11	GG	GA	AG	CC	CC	-/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 12	GG	GA	AG	CC	CC	-/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 13	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 14	GG	GA	AG	CC	CT	-/CAA	CAA/CAA	GG

Tablo 29. Grup 2'deki Hastaların SERPINE1 Gen Değişimlerinin Genotip Dağılımı

	rs6092 G>A	rs2227660 G>A	rs2227668 A>G	rs2854233 A>C	rs41281004 C>T	[rs61553169] // [rs72393109] -/CAA	rs368413856 CAA/-	rs2227684 G>A
Olgu 1	GA	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 5	GG	GA	AG	CC	CC	-/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 8	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	AA
Olgu 9	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 10	GG	GA	AG	CC	CT	-/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 15	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 16	GG	GA	AG	CC	CC	-/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 17	GA	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 18	GA	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 19	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 20	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 21	GG	AA	GG	CC	CC	-/CAA	CAA/-	AA
Olgu 22	GG	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 23	GA	AA	GG	CC	CC	CAA/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 24	GA	GA	AG	CC	CC	-/CAA	CAA/CAA	GG
Olgu 25	GG	GA	AG	CC	CC	-/CAA	CAA/CAA	GG

Çalışmada saptanan tek ekzonik değişim olan ve 2. ekzonda yer alan rs6092 G>A (p.A15T) tek nükleotid değişimi 7 hastada heterozigot olarak saptandı. SERPINE1 geni rs6092 G>A tek nükleotid değişimi için genotip dağılımlarına bakıldığında, hastaların %72'sinde (n=18) GG genotipi; %28'inde (n=7) GA genotipi saptandı. AA genotipi hiçbir hastada saptanmadı. Grup 1'de 7 hasta (%77,8) GG genotipine sahipken 2 (%22,2) hastada GA genotipi saptandı. Grup 2'de ise GG genotipine sahip 11 (%68,8) hasta, GA genotipine sahip 5 (%31,2) hasta bulunmaktaydı (**Grafik 2** ve **Tablo 30**). rs6092 değişimi genotip dağılımı açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi (p=1,000).



Grafik 2. Hastalarda rs6092 G>A Değişiminin Genotip Dağılım Grafiği

Tablo 30. Hastalarda Saptanan SERPINE1 Gen Değişimlerinin Gruplara göre Genotip Dağılımları

	Grup 1		Grup 2		Toplam		p
rs6092 G>A	n	%	n	%	n	%	
GG	7	77,8	11	68,8	18	72	1,000
GA	2	22,2	5	31,2	7	28	
AA	0	0	0	0	0	0	
rs2227660 G>A	n	%	n	%	n	%	1,000
GG	0	0	0	0	0	0	
GA	3	33,3	5	31,2	8	32	
AA	6	66,7	11	68,8	17	68	1,000
rs2227668 A>G	n	%	n	%	n	%	
AA	0	0	0	0	0	0	1,000
AG	3	33,3	5	31,3	8	32	
GG	6	66,7	11	68,7	17	68	
rs41281004 C>T	n	%	n	%	n	%	1,000
CC	8	88,9	15	93,7	23	96	
CT	1	11,1	1	6,3	2	4	
TT	0	0	0	0	0	0	1,000
[rs61553169] // [rs72393109] -/CAA	n	%	n	%	n	%	
-/-	0	0	0	0	0	0	1,000
-/CAA	3	33,3	6	37,5	9	36	
CAA/CAA	6	66,7	10	62,5	16	64	
rs2227684 G>A	n	%	n	%	n	%	1,000
GG	8	88,9	14	87,5	22	88	
GA	0	0	0	0	0	0	
AA	1	11,1	2	12,5	3	12	1,000
Toplam	9	100	16	100	25	100	

n: hasta sayısı

Grup 1’de GA genotipine sahip iki hastada klinik olarak EPS tanısı mevcuttu. Hastalardan birinin PD tedavisi sonlandırılmıştı. Diğer hasta ise volvulus nedeniyle eksitus olmuştu. Çalışmamızda saptanan rs6092 G>A tek nükleotid değişimi 7 hastada tek allelde mevcuttu. Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında G allel frekansı %86 (n=43) ve A allel frekansı %14 (n=7) olarak bulundu. Grup 1’de G allel frekansı %88,9 (n=16), A allel frekansı %11,1 (n=2) iken grup 2’de G allel frekansı %84,4 (n=27) ve A allel frekansı %15,6 (n=5) idi.

SERPINE1 geni intron 3-4’te yer alan rs2227660 G>A nükleotid değişimi 17 hastada homozigot olarak saptandı. Bu çalışmadaki rs2227660 G>A tek nükleotid değişimi için

genotip dağılımlarına bakıldığında, %32'sinde (n=8) GA genotipi %68'inde (n=17) AA genotipi saptandı. GG genotipi hiçbir hastada saptanmadı. Grup 1'de 3 hasta (%33,3) GA genotipine sahipken 6 (%66,7) hastada AA genotipi saptandı. Grup 2'de ise GA genotipine sahip 5 (%31,2) hasta, AA genotipine sahip 11 (%68,8) hasta bulunmaktaydı (**Tablo 30**). rs2227660 değişimi genotip dağılımı açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi (p=1,000).

Grup 1'de AA genotipine sahip hastaların 4'ünde klinik olarak EPS tanısı mevcuttu ve bu hastalardan biri divertikül perforasyonu, biri de volvulus nedeniyle eksitus olmuştu. Grup 2'de GA genotipine sahip 5 hastanın 4'ünde PET sonrası peritoneal UF miktarı 400 ml'nin altında idi.

rs2227660 G>A tek nükleotid değişimi 8 hastada tek allelde, 17 hastada her iki allelde mevcuttu. Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında G allel frekansı %16 (n=8) ve A allel frekansı %84 (n=42) olarak bulundu. Grup 1 'de G allel frekansı %16,6 (n=3), A allel frekansı %83,4 (n=15) iken grup 2'de G allel frekansı %15,6 (n=5) ve A allel frekansı %84,4 (n=27) idi.

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan rs2227668 A>G nükleotid değişimi 17 hastada homozigot olarak saptandı. Bu çalışmadaki rs2227668 A>G tek nükleotid değişimi için genotip dağılımlarına bakıldığında, hastaların %32'sinde (n=8) AG genotipi; %68'inde (n=17) GG genotipi saptandı. AA genotipi hiçbir hastada saptanmadı. Grup 1'de 3 hasta (%33,3) AG genotipine sahipken 6 (%66,7) hastada GG genotipi saptandı. Grup 2'de ise AG genotipine sahip 5 (%31,3) hasta, GG genotipine sahip 11 (%68,7) hasta bulunmaktaydı (**Tablo 30**). rs2227668 değişimi genotip dağılımı açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi (p=1,000).

Grup 1'de GG genotipine sahip 6 hastanın 4'ü rs2227660 AA genotipine sahip 4 hasta ile aynı kişilerdi ve bu hastalarda klinik olarak EPS tanısı mevcuttu. Grup 2'de AG genotipine sahip 5 hastanın 4'ü rs2227660 GA genotipine sahip 4 hasta ile aynı kişilerdi ve bu hastalarda PET sonrası peritoneal UF miktarı 400 ml'nin altında idi.

rs2227668 A>G tek nükleotid değişimi 8 hastada tek allelde, 17 hastada her iki allelde mevcuttu. Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında A allel frekansı %16 (n=8) ve G allel frekansı %84 (n=42) olarak bulundu. Grup 1 'de A allel frekansı %16,6 (n=3), G allel frekansı %83,4 (n=15) iken grup 2'de A allel frekansı %15,6 (n=5) ve G allel frekansı %84,4 (n=27) idi.

Çalışmamızda rs2227660 G>A ve rs2227668 A>G tek nükleotid değişimlerinin birlikte kalıtılma eğilimi gösterdiğini tespit ettik.

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan rs2854233 A>C nükleotid değişimi tüm hastalarda homozigot olarak saptandı. Bu çalışmadaki rs2854233 A>C tek nükleotid değişimi için genotip dağılımlarına bakıldığında, hastaların %100'ünde (n=25) CC genotipi saptandı. AA genotipi ve AC genotipi hiçbir hastada saptanmadı.

rs2854233 A>C tek nükleotid değişimi tüm hastalarda her iki allelde mevcuttu. Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında A allel frekansı %0 (n=0) ve G allel frekansı %100 (n=50) olarak bulundu.

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan rs41281004 C>T tek nükleotid değişimi 2 hastada heterozigot olarak saptandı. Bu çalışmadaki rs41281004 C>T tek nükleotid değişimi için genotip dağılımlarına bakıldığında, hastaların %92'sinde (n=23) CC genotipi; %8'inde (n=2) CT genotipi saptandı. TT genotipi hiçbir hastada saptanmadı. Grup 1'de 8 hasta (%88,9) CC genotipine sahipken 1 (%11,1) hastada CT genotipi saptandı. Grup 2'de ise CC genotipine sahip 15 (%93,7) hasta, CT genotipine sahip 1 (%6,3) hasta bulunmaktaydı (**Tablo 30**). rs41281004 değişimi genotip dağılımı açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi (p=1,000).

Grup 1'de CT genotipine sahip hasta (olgu 14), peritoneal eşitleme testine göre yüksek geçirgenliğe sahipti ve klinik olarak EPS tanısı mevcuttu. Ayrıca bu hasta 181 ay ile çalışma grubumuzdaki en uzun PD süresine sahip hasta idi.

rs41281004 C>T tek nükleotid değişimi 2 hastada tek allelde saptandı. Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında C allel frekansı %96 (n=48) ve T allel frekansı %4 (n=2) olarak bulundu. Grup 1 'de C allel frekansı %94,5 (n=17), T allel frekansı %5,5 (n=1) iken grup 2'de C allel frekansı %96,9 (n=31) ve T allel frekansı %3,1 (n=1) idi.

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan [rs61553169] // [rs72393109] -/CAA insersiyon değişimi 16 hastada homozigot olarak saptandı. Bu çalışmadaki [rs61553169] // [rs72393109] -/CAA insersiyon değişimi genotip dağılımlarına bakıldığında, hastaların %36'ında (n=9) -/CAA genotipi; %64'ünde (n=16) CAA/CAA genotipi saptandı. -/- genotipi hiçbir hastada saptanmadı. Grup 1'de 3 hasta (%33,3) -/CAA genotipine sahipken 6 (%66,7) hastada CAA/CAA genotipi saptandı. Grup 2'de ise -/CAA genotipine sahip 6 (%37,5) hasta, CAA/CAA genotipine sahip 10 (%62,5) hasta bulunmaktaydı (**Tablo 30**). [rs61553169] //

[rs72393109] değişimi genotip dağılımı açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p=1,000$).

Grup 1’de CAA/CAA genotipine sahip 6 hastanın 4’ü rs2227660 AA ve rs2227668 GG genotipine sahip 4 hasta ile aynı kişilerdi ve bu hastalarda klinik olarak EPS tanısı mevcuttu. Grup 2’de -/CAA genotipine sahip 6 hastanın 4’ünde PET sonrası peritoneal UF miktarı 400 ml’nin altında idi.

[rs61553169] // [rs72393109] -/CAA insersiyon değişimi 16 hastada her iki allelde, 9 hastada tek allelde saptandı. Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında - allel frekansı %18 ($n=9$) ve CAA allel frekansı % 82 ($n=41$) olarak bulundu. Grup 1 ‘de - allel frekansı %16,6 ($n=3$), CAA allel frekansı %83,4 ($n=15$) iken grup 2’de - allel frekansı %18,75 ($n=6$) ve CAA allel frekansı %81,25 ($n=26$) idi.

Olgu 21 hariç rs2227660 G>A ve rs2227668 A>G tek nükleotit değişimlerinin homozigot olduğu 16 hastada rs61553169 ya da rs72393109 -/CAA değişiminin de homozigot olduğu tespit edildi.

SERPINE1 geni intron 3-4’te yer alan rs368413856 CAA/- delesyon değişimi sadece bir hastada (olgu 21) heterozigot olarak saptandı. Bu hasta Grup 2’de yer almaktaydı. Çalışmamızdaki rs368413856 CAA/- delesyon değişimi genotip dağılımlarına bakıldığında, hastaların %4’ünde ($n=1$) CAA/- genotipi; %96’sında ($n=24$) CAA/CAA genotipi saptandı. -/- genotipi hiçbir hastada saptanmadı.

rs368413856 CAA/- delesyon değişimi 1 hastada tek allelde saptandı. Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında CAA allel frekansı % 98 ($n=49$) ve - allel frekansı %2 ($n=1$) olarak bulundu.

Bu değişimi taşıyan Olgu 21’in diğer allelinde [rs61553169] // [rs72393109] -/CAA insersiyon değişimi olduğunu saptadık. [rs61553169] // [rs72393109] -/CAA insersiyon değişimini heterozigot taşıyan diğer tüm olgularda rs2227660 G>A ve rs2227668 A>G tek nükleotit değişimleri de heterozigot saptandı.

SERPINE1 geni intron 4-5’te yer alan rs2227684 G>A nükleotid değişimi 3 hastada homozigot olarak saptandı. Bu çalışmadaki rs2227684 G>A tek nükleotid değişimi için genotip dağılımlarına bakıldığında, hastaların %88’inde ($n=22$) GG genotipi; %12’sinde ($n=3$) AA genotipi saptandı. GA genotipi hiçbir hastada saptanmadı. Grup 1’de 8 hasta (%88,9) GG genotipine sahipken 1 (%11,1) hastada AA genotipi saptandı. Grup 2’de ise GG genotipine sahip 14 (%87,5) hasta, AA genotipine sahip 2 (%12,5) hasta bulunmaktaydı

(**Tablo 30**). rs2227684 değişimi genotip dağılımı açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi ($p=1,000$).

Grup 1’de AA genotipine sahip hastada (Olgu 4) klinik olarak EPS tanısı mevcuttu. Grup 2’de AA genotipine sahip hastalarda (Olgu 8 ve 21) ise PET sonrası peritoneal UF miktarları 400 ml’nin altında idi.

rs2227684 G>A tek nükleotid değişimi 3 hastada her iki allelde saptandı. Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında G allel frekansı %88 ($n=44$) ve A allel frekansı %12 ($n=6$) olarak bulundu. Grup 1 ‘de G allel frekansı %88,9 ($n=16$), A allel frekansı %11,1 ($n=2$) iken grup 2’de G allel frekansı %87,5 ($n=28$) ve A allel frekansı %12,5 ($n=4$) idi.



5. TARTIŞMA

Peritoneal UF yetersizliği membran yetersizliğinin en önemli sonuçlarından biridir. Beş yıldan uzun süre PD tedavisi gören hastalarda %30 oranında UF yetersizliği gelişebilmektedir (43). Bizim çalışmamızda literatürdeki verilere benzer şekilde beş yıl ve daha uzun süre PD tedavisi gören ve UF yetersizliği olan hasta sıklığı %36 idi.

Literatürde peritoneal membran durumu ile PAI-1 düzeyleri arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar mevcuttur. Peritoneal membran değişimleri için bir biyobelirteç olarak kollajen yıkımında görevli zimojen olan MMP-2 ve PAI-1'in incelendiği bir çalışmada PF'nin derecesi ile MMP-2 düzeyi arasında anlamlı bir ilişki olduğu, PAI-1 düzeylerinin PD süresi ile birlikte artma eğilimi gösterdiği ve bu iki molekülün biyobelirteç olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır (7).

Lin ve ark. tarafından yapılan ve PD sırasında ölçülen PAI-1'in intraperitoneal fibrinolitik dengeyi yansıtabileceğini bildiren bir çalışma rapor edilmiştir. Bu ekip, diyalizat PAI-1 seviyeleri ile peritonit atakları arasında bir korelasyon gözlemlemiş ve diyalizattaki yükselmiş PAI-1 seviyelerinin muhtemelen PAI-1'in lokal üretimi ve salınımından kaynaklandığı sonucuna varmışlardır. Ayrıca, tekrarlayan peritonit ataklarını PAI-1'in periton içinde artması ile ilişkilendirmişlerdir (80).

EPS gelişen hastaların erken tanısal belirteç olarak diyaliz çıkış sıvısında MMP-2 ve PAI-1 düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada 4 yıl süresince tekrarlayan ölçümlerde EPS geliştiren hastalarda kontrol grubuna kıyasla PAI-1 düzeylerinde artış saptanırken MMP-2 düzeylerinde fark saptanmamıştır. Tanıdan 3 yıl öncesinde artmış PAI-1 düzeyleri saptanan hastalarda EPS gelişmiştir. Çalışmacılar, PAI-1'in PF izleminde yardımcı olan ve EPS için bir biyobelirteç olarak kullanılabilen bir molekül olduğunu belirtmişlerdir (81).

Biz de bu çalışmalardan yola çıkarak en az üç yıldır PD tedavisi gören PF kuşkusu olan ya da PF geliştirme ihtimali yüksek olan hastalarda ve PF geliştirme ihtimali düşük olan hastalarda SERPINE1 gen değişimlerinin PF ile ilişkisini araştırmak amacıyla PAI-1 4G/5G polimorfizmini ters hibridizasyon yöntemiyle ve SERPINE1 geninin tüm kodlayıcı ekzon ve ekzon-intron bileşkelerini DNA dizi analizi yöntemiyle taradık ve protein fonksiyonunu bozan bir değişim saptamadık.

PAI-1 4G/5G polimorfizmi, SERPINE1 geninin promotor bölgesinde bulunan bir insersiyon delesyon polimorfizmidir. En sık rastlanan allel 5G allelidir. Bu bölgede bir

nükleotitin silinmesi 4G alleleline neden olur [rs1799889(-)]. Yapılan çalışmalarda 4G allelinin birçok doku ve organda fibrozisle ilişkili olduğu görülmüştür. Membranöz nefropati (MN), intersitisyel inflamasyon ve ilerleyici fibrozis ile giden bir hastalıktır. Chen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 4G allelinin varlığı, MN hastalarında renal bozulma, artmış kardiyovasküler risk ve diğer vasküler olaylarla ilişkili bulunmuştur (82). Rérolle ve arkadaşları tarafından böbrek nakil vakalarında 304 donör ve 337 alıcı ile gerçekleştirilen bir çalışmada donörde bulunan PAI-1 polimorfizminin greft ömrünü etkilediğini ve 4G/4G genotipine sahip donörün greft kaybı için bağımsız bir risk faktörü olduğunu saptamışlardır (58). Kim ve arkadaşları tarafından 88 idiyopatik intersitisyel pnömoni hastasıyla gerçekleştirilen bir çalışmada ise 4G/4G genotipinin nonspesifik intersitisyel pnömoni alt grubu ile daha fazla ilişkili olduğu gösterilmiştir (83). Artmış PAI-1 düzeylerinin ciltte keloid doku oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir. Keloid hastalarıyla yapılan bir çalışmada, PAI-1 plazma düzeylerinin keloid hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve 4G/4G genotipinin keloid geliştirmeye yatkınlık yarattığı bildirilmiştir (84).

Çalışmamızda hastaların %20'sinde 5G/5G genotipi, %56'sında 4G/5G genotipi ve %24'ünde 4G/4G genotipi mevcuttu. Grup 1 'de 5G/5G genotipi %22,2, 4G/5G genotipi %55,6 ve 4G/4G %22,2 sıklıkta saptandı. Grup 2'de ise 5G/5G genotipi %18,75, 4G/5G genotipi %56,25 ve 4G/4G genotipi %25 sıklıkta idi. PAI-1 4G/5G polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edilmedi. Allel frekansları açısından değerlendirildiğinde 4G allel frekansı %52 ve 5G allel frekansı %48 olarak bulundu. Grup 1'de 4G allel frekansı %50, 5G allel frekansı %50 iken grup 2'de 4G allel frekansı %53,1 ve 5G allel frekansı %46,9 olarak benzerdi. PAI-1 4G/5G polimorfizmi için veritabanlarında popülasyon allel frekansları hakkında bilgi bulunmamaktadır.

SERPINE1 geni 2. ekzonda yer alan rs6092 G>A tek nükleotid değişiminde cDNA düzeyinde 43. nükleotit olan guaninin adenine transisyonu (4:c.43G>A) sonucu peptit zincirinde alanin aminoasitini kodlayan 15. kodon, treonin aminoasitini kodlayan başka bir kodona (p.A15T) dönüşmektedir. Bu değişim klinik önemi açısından değerlendirildiğinde patojenitesine ilişkin veritabanlarında çelişkili yorumlar bulunmaktadır. 'Clinvar' veri tabanında PAI-1 eksikliği için '*likely benign*' ve '*pathogenic*' olarak tanımlanmıştır. '*Pathogenic*' yorumu için kaynak olarak literatürde tek bir çalışma mevcuttur. Bu çalışmada yaşam boyu kanama atakları, cerrahi ve travmatik bölgelerde uzamış kanama şikayetleri olan, kan PAI-1 düzeyleri düşük saptanan bir hastaya PAI-1 geni dizi analizi yapılmış ve rs6092

G>A tek nükleotid değişimi heterozigot olarak bulunmuştur. Bu değişimin klinik önemini saptamak için restriksiyon endonükleaz analizi ile 60 sağlıklı kontrolde bu değişim değerlendirilmiş ve hepsinde normal saptanmıştır. Ayrıca Çin hamster yumurtalık hücre serileri vahşi tip ve mutant plazmidlerle transfekte edilmiş, mutant kültürlerdeki PAI-1 aktivitesi ve antijen seviyeleri vahşi türün yaklaşık % 70'i olarak bulunmuştur ve hücre lizatlarındaki PAI-1 protein seviyelerinin vahşi tipli mutant plazmidlerle eşit olduğu görülmüştür (85). Fiziksel ve karşılaştırmalı değerlendirmelerle değişimin protein fonksiyonundaki etkisini öngördüren veri tabanı olan 'PolyPhen'de bu değişim 'benign' olarak kayıtlıdır. Dizi homolojisi ve alternatif aminoasitler arasındaki fizikokimyasal benzerliğine göre protein fonksiyonu üzerinde değişiklik etkisini tahmin etmekte kullanılan 'SIFT' veri tabanında 'tolerated' (zararsız) olarak tanımlanmıştır. Gen ürünü / proteindeki varyantın etkisini tahmin etmek için bir dizi siliko analiz gerçekleştiren 'Mutation Taster' veri tabanında ise 'polymorphism' (muhtemelen zararsız) olarak kaydedilmiştir.

Hem veritabanlarının bu değişimi genel olarak zararsız kabul etmesi hem de bu değişimi taşıyan hastalarda iki grup arasında anlamlı fark saptanmaması nedeniyle biz de bu değişimi iyi huylu bir değişim olarak kabul ettik.

rs6092 için popülasyon çalışmalarına göre, tüm popülasyonlarda G allel frekansı %93, A allel frekansı %7 olarak bildirilmiştir (86). Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında G allel frekansı %86 (n=43) ve A allel frekansı %14 (n=7) olarak bulundu. Coğrafi dağılımlara göre popülasyon allel frekanslarına bakıldığında grubumuzun allel frekansları, Avrupa ve Asya popülasyonlarının allel frekanslarına yakındı (**Tablo 31**).

Tablo 31. Hasta Grubumuz ve Popülasyonlara göre rs6092 Değişimi Allel Frekansları (86)

Popülasyon	G allel frekansı	A allel frekansı
Tüm Popülasyonlarda	%93	%7
Afrika	%100	%0
Amerika	%92	%8
Doğu Asya	%90	%10
Avrupa	%90	%10
Güney Asya	%90	%10
Çalışmamızda	%86	%14

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan rs2227660 G>A nükleotid değişimi (4:c.505+340G>A) guaninin adenine transisyonuna neden olarak yanlış anlamlı bir varyant oluşturmaktadır. rs2227660 G>A değişiminin allel frekans dağılımı tüm popülasyonlarda G

alleli için %11, A alleli için %89'dur (87). Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında G allel frekansı %16 ve A allel frekansı %84 olarak bulundu. Coğrafi dağılımlara göre popülasyon allel frekanslarına bakıldığında grubumuzun allel frekansları, Afrika ve Avrupa popülasyonunun allel frekansına yakındı (**Tablo 32**).

Tablo 32. Hasta Grubumuz ve Popülasyonlara göre rs2227660 Değişimi Allel Frekansları (87)

Popülasyon	G allel frekansı	A allel frekansı
Tüm Popülasyonlarda	%11	%89
Afrika	%18	%82
Amerika	%10	%90
Doğu Asya	%5	%95
Avrupa	%14	%86
Güney Asya	%8	%92
Çalışmamızda	%16	%84

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan rs2227668 A>G nükleotid değişimi (4:c.506-301A>G) adeninin guanine transisyonuna neden olarak yanlış anlamlı bir varyant oluşturmaktadır. rs2227668 A>G tek nükleotid değişimine ait popülasyon çalışmaları incelendiğinde, tüm popülasyonlarda A allel frekansı %10, G allel frekansı %90'dır (88). Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında A allel frekansı %16 ve G allel frekansı %84 olarak bulundu. Coğrafi dağılımlara göre popülasyon allel frekanslarına bakıldığında grubumuzun allel frekansları, Avrupa popülasyonunun allel frekansına yakındı (**Tablo 33**).

Tablo 33. Hasta Grubumuz ve Popülasyonlara göre rs2227668 Değişimi Allel Frekansları (88)

Popülasyon	A allel frekansı	G allel frekansı
Tüm Popülasyonlarda	%10	%90
Afrika	%12	%88
Amerika	%10	%90
Doğu Asya	%5	%95
Avrupa	%14	%86
Güney Asya	%8	%92
Çalışmamızda	%16	%84

Çalışmamızda rs2227660 G>A ve rs2227668 A>G tek nükleotit değişimlerinin birlikte kalıtılma eğilimi gösterdiğini tespit ettik. Literatürde bu iki değişimin birlikte kalıtıldığına dair çalışma bulunmamaktadır.

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan rs2854233 A>C nükleotid değişimi (4:c.506-286A>C) adeninin sitozine transversiyonuna neden olarak yanlış anlamlı bir varyant oluşturmaktadır. rs2854233 A>C tek nükleotid değişimine ait popülasyon çalışmaları incelendiğinde, tüm popülasyonlarda A allel frekansı %0, C allel frekansı %100'dür (89). Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında A allel frekansı %0 (n=0) ve C allel frekansı %100 (n=50) olarak bulundu. Coğrafi dağılımlara göre tüm popülasyonlardaki allel frekansları çalışma grubumuzdaki ile aynı şekilde A alleli için %0 ve C alleli için %100'dü (89).

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan rs41281004 C>T nükleotid değişimi (4:c.506-138C>T) sitozinin timine transisyonuna neden olarak yanlış anlamlı bir varyant oluşturmaktadır. rs41281004 C>T tek nükleotid değişimine ait popülasyon çalışmaları incelendiğinde, tüm popülasyonlarda C allel frekansı %96, T allel frekansı %4'tür (90). Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında C allel frekansı %96 ve T allel frekansı %4 olarak bulundu. Coğrafi dağılımlara göre popülasyon allel frekanslarına bakıldığında grubumuzun allel frekansları, Amerika popülasyonunun allel frekansı ile aynıydı (**Tablo 34**).

Tablo 34. Hasta Grubumuz ve Popülasyonlara göre rs41281004 Değişimi Allel Frekansları (90)

Popülasyon	C allel frekansı	T allel frekansı
Tüm Popülasyonlarda	%96	%4
Afrika	%89	%11
Amerika	%96	%4
Doğu Asya	%100	%0
Avrupa	%97	%3
Güney Asya	%99	%1
Çalışmamızda	%96	%4

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan [rs61553169] // [rs72393109] -/CAA insersiyon değişimi (4:c.506-48_506-46dup) 7 CAA tekrarı içeren trinükleotid tekrar bölgesinde CAA insersiyonu ile 8 CAA tekrarına neden olan bir intronik varyant oluşturmaktadır. rs61553169 -/CAA insersiyon değişimi için veritabanlarında popülasyon allel frekansları hakkında bilgi bulunmamaktadır. rs72393109 -/CAA insersiyon değişimi için Güney Afrika popülasyonunu kapsayan tek popülasyon çalışması bulunmaktadır (Bushman popülasyonu) ve bu popülasyondaki - allel frekansı %50, CAA allel frekansı %50'dir (91). Çalışma grubumuzdaki allel frekanslarına bakıldığında Güney Afrika popülasyonundan farklı olarak - allel frekansı %18 ve CAA allel frekansı % 82 olarak bulundu.

SERPINE1 geni intron 3-4'te yer alan rs368413856 CAA/- delesyon değişimi (4:c.506-48_506-46del) 7 CAA tekrarı içeren trinükleotid tekrar bölgesinde CAA delesyonu nedeniyle 6 CAA tekrarına neden olan bir intronik varyant oluşturmaktadır. rs368413856 CAA/- delesyon değişimi için veritabanlarında popülasyon allel frekansları hakkında bilgi bulunmamaktadır. Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında CAA allel frekansı %98 ve - allel frekansı %2 olarak bulundu.

SERPINE1 geni intron 4-5'te yer alan rs2227684 G>A nükleotid değişimi (4:c.701-45G>A) guaninin adenine transisyonuna neden olarak yanlış anlamlı bir varyant oluşturmaktadır. rs2227684 G>A tek nükleotid değişimine ait popülasyon çalışmalarına göre, tüm popülasyonlarda G allel frekansı %57, A allel frekansı %43'tür (92). Çalışma grubumuzdaki allel frekansları hesaplandığında G allel frekansı %88 ve A allel frekansı %12 olarak bulundu. Grup 1 ve Grup 2'deki allel frekanslarının dağılımı da her iki grubun toplam allel frekansları ile benzer saptandı. Coğrafi dağılımlara göre popülasyon allel frekanslarına bakıldığında grubumuzun G allel frekansı diğer poplasyonlara göre yüksek saptandı (**Tablo 35**).

Tablo 35. Hasta Grubumuz ve Poplasyonlara göre rs2227684 Değişimi Allel Frekansları (92)

Popülasyon	G allel frekansı	A allel frekansı
Tüm Popülasyonlarda	%57	%43
Afrika	%51	%49
Amerika	%71	%29
Doğu Asya	%54	%46
Avrupa	%55	%45
Güney Asya	%60	%40
Çalışmamızda	%88	%12

Bu alışma PD hastalarında SERPINE1 gen değişimlerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Hastalarda peritoneal fibrozise yatkınlığa neden olan bir değişim saptayamayamamızın en önemli nedeninin hasta sayısının azlığı olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca hastalarda plazma ya da diyaliz çıkış sıvısında PAI-1 ekspresyon düzeyi bakamamış olmamız çalışmamızın bir diğer kısıtlılığıdır. PF patogenezinin sorumlu PAI-1 molekülü yanı sıra birçok inflamatuvar sitokin ve büyüme faktörleri rol oynamaktadır. Bu moleküllerin tümünün aynı anda taranabildiği yeni nesil dizileme gibi teknikler kullanılarak PF patogenezi aydınlatılarak yatkınlığı olan hastalarda tedavi modifikasyonu gerçekleştirilebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- 1) Çalışma ile literatürde PF’de PAI-1 gen değişimleri ilk kez araştırılmıştır.
- 2) PD hastalarında, SERPINE1 geni dizi analizinde, biri ekzonik olmak üzere 8 gen değişimi olduğu görülmüştür.
- 3) rs2227660 G>A ve rs2227668 A>G tek nükleotid değişimlerinin birlikte kalıtılma eğilimleri olduğu saptanmıştır.
- 4) SERPINE1 gen değişimleri allel frekansları açısından değerlendirildiğinde rs6092 G>A, rs2227660 G>A, rs2227668 A>G, rs2854233 A>C ve rs41281004 C>T değişimlerinin allel frekanslarının popülasyon çalışmalarıyla uyumlu olduğu görülmüştür.
- 5) rs2227684 G>A değişiminde G allel frekansı diğer popülasyonlara göre yüksek saptanmıştır.
- 6) [rs61553169] // [rs72393109] -/CAA ve rs368413856 CAA/- değişimleri için literatürde yeterli popülasyon çalışmasının mevcut olmadığı görülmüştür. Çalışmamızdaki allel frekans sıklıkları Grup 1 ve Grup 2’de benzer saptanmıştır.
- 7) PAI-1 gen değişimleri ile PF arasında ilişki bulunamamıştır.
- 8) İlişkinin bulunamamış olmasının nedeninin olgu sayısının az olmasıyla açıklanabileceği düşünülmüştür.
- 9) PD hastalarında PF’ye yatkınlık yaratan PAI-1 gen değişimi saptanmaması PF’nin multifaktöriyel bir durum oluşu ile de açıklanabilir.
- 10) PF gelişiminde birçok inflamatuvar ve profibrotik molekül rol oynamakta olup bu moleküllerin tümündeki genetik değişimlerin incelenebileceği çoklu mutasyon tarama teknikleri kullanarak ve olası hastalarda bu moleküllerin periton çıkış sıvısında ekspresyon durumu değerlendirilerek bireyler arası farklılıkların nedenlerinin açıklanabileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Mactier RA. The spectrum of peritoneal fibrosing syndromes in peritoneal dialysis. *Advances in peritoneal dialysis Conference on Peritoneal Dialysis*, 2000;16:223-8.
2. Rouch A, Vanucci-Bacque C, Bedos-Belval F, Baltas M. Small molecules inhibitors of plasminogen activator inhibitor-1 - an overview. *European journal of medicinal chemistry*, 2015;92:619-36.
3. Moinuddin Z, Summers A, Van Dellen D, Augustine T, et al. Encapsulating peritoneal sclerosis-a rare but devastating peritoneal disease. *Frontiers in physiology*, 2014;5:470.
4. Siddique I, Brimble KS, Walkin L, Summers A, et al. Genetic Polymorphisms and Peritoneal Membrane Function. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*, 2015;35(5):517-29.
5. Malgorzewicz S, Skrzypczak-Jankun E, Jankun J. Plasminogen activator inhibitor-1 in kidney pathology (Review). *International journal of molecular medicine*, 2013;31(3):503-10.
6. Shih B, Bayat A. Genetics of keloid scarring. *Archives of dermatological research*, 2010;302(5):319-39.
7. Barreto DL, Coester AM, Struijk DG, Krediet RT. Can effluent matrix metalloproteinase 2 and plasminogen activator inhibitor 1 be used as biomarkers of peritoneal membrane alterations in peritoneal dialysis patients? *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*, 2013;33(5):529-37.
8. Wang V, Vilme H, Maciejewski ML, Boulware LE. The Economic Burden of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease. *Seminars in nephrology*, 2016;36(4):319-30.
9. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney inter, Suppl*, 2013;3(1):1-150.
10. Bello A, Kavar B, El Kossi M, El Nahas M. Epidemiology and pathophysiology of chronic kidney disease. In: Floege J, Johnson RJ, Feehally J, editors. *Comprehensive Clinical Nephrology*. 4th ed 2010. p. 907-18.
11. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet*, 2012;379(9811):165-80.
12. Suleymanlar G, Utas C, Arinsoy T, Ates K, et al. A population-based survey of Chronic RENal Disease In Turkey--the CREDIT study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 2011;26(6):1862-71.
13. Süleymanlar G, Altıparmak MR, Seyahi N, Trabulus S. Türkiye 2012 yılı Ulusal Hemodiyaliz, Transplantasyon ve Nefroloji Kayıt Sistemi Raporu. Ankara: Türk Nefroloji Derneği Yayınları; 2013.
14. Lederer E, Ouseph R. Chronic kidney disease. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 2007;49(1):162-71.
15. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet*, 2013;382(9888):260-72.
16. Stone WJ, Hakim RM. Therapeutic options in the management of end-stage renal disease. In: Jacobson RH, Striker EG, Klahr S, editors. *The Principles and Practice of Nephrology*. St. Louis: Mosby Year Book; 1995. p. 653.
17. Zawada ET. Indications for dialysis. In: Daugirdas JT, Ing TS, editors. *Handbook of Dialysis*. Boston: Little Brown and Company; 1994. p. 3-9.
18. Tokgöz B. Kronik Böbrek Yetmezliğinde Renal Replasman Tedavileri. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 2005;1(21):82-7.

19. Atlas of Diseases of the Kidney: Volume 5. Robert WS, editor 2011.
20. G. Karam (chair) TK, A. Alcaraz, F.T. Aki., K. Budde UH, F. Kleinclauss., G. Nicita JOO, C. Süsal. Guidelines on Renal Transplantation 2014 [Available from: http://uroweb.org/wp-content/uploads/27-Renal-Transplant_LRV2-May-13th-2014.pdf].
21. Türkiye Böbrek Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı. 946 ed. Ankara 2014.
22. De Vriese AS, White R, Granger DN, Lameire NH. The Peritoneal Microcirculation in Peritoneal Dialysis. 2009. In: Nolph and Gokal's Textbook of Peritoneal Dialysis [Internet]. Springer US. Third ed. [51-71].
23. Flessner MF. Solute and water transport across the peritoneal membrane. In: Ronco C, Bellomo R, Kellum J, editors. Critical Care Nephrology. 2nd ed. Philadelphia: PA: Saunders Elsevier; 2009. p. 1472-8.
24. Taşkapan H. Peritoneal Transport ve Fizyoloji. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 2007;16(ek 2) 2-7.
25. Holmes CJ. Abnormalities of Host Defense Mechanisms During Peritoneal Dialysis. In: Nissenson AR, Fine RN, editors. Dialysis Therapy. 3rd ed. Philadelphia: PA: Hanley & Belfus; 2002. p. 235-8.
26. Ronco C. The "nearest capillary" hypothesis: a novel approach to peritoneal transport physiology. Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis, 1996;16(2):121-5.
27. Blake PG, Daugirdas JT. Physiology of Peritoneal Dialysis. In: Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS, editors. Handbook of Dialysis. 3rd ed. Kluwer: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. p. 281-96.
28. Ricci Z, Bellomo R, Ronco C. Renal replacement techniques: Descriptions, mechanisms, choices and controversies. In: Ronco CB, R. Kellum, J.A., editor. Critical Care Nephrology. Saunders: Elsevier; 2009. p. 1136-41.
29. Peppelenbosch A, van Kuijk WH, Bouvy ND, van der Sande FM, et al. Peritoneal dialysis catheter placement technique and complications. NDT plus, 2008;1(Suppl 4):iv23-iv8.
30. Cho Y, Johnson DW. Does the use of neutral pH, low glucose degradation product peritoneal dialysis fluids lead to better patient outcomes? Current opinion in nephrology and hypertension, 2014;23(2):192-7.
31. Hansson JH, Watnick S. Update on Peritoneal Dialysis: Core Curriculum 2016. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation, 2016;67(1):151-64.
32. Cho Y, Johnson DW, Badve S, Craig JC, et al. Impact of icodextrin on clinical outcomes in peritoneal dialysis: a systematic review of randomized controlled trials. Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association, 2013;28(7):1899-907.
33. Perl J, Nessim SJ, Bargman JM. The biocompatibility of neutral pH, low-GDP peritoneal dialysis solutions: benefit at bench, bedside, or both? Kidney international, 2011;79(8):814-24.
34. Bieber SD, Burkart J, Golper TA, Teitelbaum I, et al. Comparative outcomes between continuous ambulatory and automated peritoneal dialysis: a narrative review. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation, 2014;63(6):1027-37.
35. Kathuria P, Twardowski ZJ. Automated Peritoneal Dialysis. In: Khanna R, Krediet RT, editors. Nolph and Gokal's Textbook of Peritoneal Dialysis: Springer US; 2009. p. 303-34.

36. Popovich RP, Moncrief JW, Nolph KD. Continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Artificial organs*, 1978;2(1):84-6.
37. Oymak O, Akpolat T. Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi. In: Akpolat T, Utaş C, editors. *Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı*. 2. ed. Kayseri: Anadolu Yayıncılık; 2001. p. 124-44.
38. Heimbürger O, Waniewski J, Werynski A, Tranaeus A, et al. Peritoneal transport in CAPD patients with permanent loss of ultrafiltration capacity. *Kidney international*, 1990;38(3):495-506.
39. Dilek M, Akpolat T. Periton diyalizi yeterliliği. *Türk Nefrol Diyal ve Transplant Derg*, 2007;16 (Ek 2):34-9.
40. Nissenson A, Fine R. *Clinical Dialysis*. New York: McGraw-Hill Companies; 2005.
41. Bozfakıoğlu S. *Diyaliz El Kitabı*. third ed. Ankara: Güneş Kitabevi; 2003.
42. Wang L, Wang T. Adequacy of peritoneal dialysis: Kt/V revisited. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2015;19(7):1272-5.
43. Camsari T. Ultrafiltrasyon yetersizliği (periton diyalizinde membran yetersizliği). *Türk Nefrol Diyal ve Transplant Derg*, 2007;16 (ek 2):40-4.
44. Teitelbaum I. Ultrafiltration failure in peritoneal dialysis: a pathophysiologic approach. *Blood purification*, 2015;39(1-3):70-3.
45. Twardowski ZJ. Clinical value of standardized equilibration tests in CAPD patients. *Blood purification*, 1989;7(2-3):95-108.
46. Tzamaloukas AH, Raj DS, Onime A, Servilla KS, et al. The prescription of peritoneal dialysis. *Seminars in dialysis*, 2008;21(3):250-7.
47. Z A. Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi. 3 ed. İstanbul: Güzel Sanatlar Matbaası; 2001. 126-60 p.
48. Nissenson A, Fine R. *Clinical Dialysis*. New York: McGraw-Hill Companies; 2005. 421-89 p.
49. Johnson DW, Pat B, Vesey DA, Guan Z, et al. Delayed administration of darbepoetin or erythropoietin protects against ischemic acute renal injury and failure. *Kidney international*, 2006;69(10):1806-13.
50. Prichard S, Sniderman A, Cianflone K, Marpole D. Cardiovascular disease in peritoneal dialysis. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*, 1996;16 Suppl 1:S19-22.
51. McCormick BB, Bargman JM. Noninfectious complications of peritoneal dialysis: implications for patient and technique survival. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2007;18(12):3023-5.
52. Oreopoulos DG. Pathogenesis and management of complications of chronic peritoneal dialysis. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 2001;16 Suppl 6:103-5.
53. Wanke T, Auinger M, Lahrmann H, Merkle M, et al. Diaphragmatic function in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Lung*, 1994;172(4):231-40.
54. Liu Y, Dong Z, Liu H, Zhu J, et al. Transition of mesothelial cell to fibroblast in peritoneal dialysis: EMT, stem cell or bystander? *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*, 2015;35(1):14-25.
55. Margetts PJ, Bonniaud P. Basic mechanisms and clinical implications of peritoneal fibrosis. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*, 2003;23(6):530-41.
56. Yanez-Mo M, Lara-Pezzi E, Selgas R, Ramirez-Huesca M, et al. Peritoneal dialysis and epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells. *The New England journal of medicine*, 2003;348(5):403-13.

57. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *The Journal of clinical investigation*, 2003;112(12):1776-84.
58. Rerolle JP, Munteanu E, Drouet M, Szelag JC, et al. PAI-1 donor polymorphism influences long-term kidney graft survival. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 2008;23(10):3325-32.
59. Kawanishi H, Moriishi M. Encapsulating peritoneal sclerosis: prevention and treatment. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*, 2007;27 Suppl 2:S289-92.
60. Loureiro J, Aguilera A, Selgas R, Sandoval P, et al. Blocking TGF-beta1 protects the peritoneal membrane from dialysate-induced damage. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2011;22(9):1682-95.
61. Le SJ, Gongora M, Zhang B, Grimmond S, et al. Gene expression profile of the fibrotic response in the peritoneal cavity. *Differentiation; research in biological diversity*, 2010;79(4-5):232-43.
62. Ho-dac-Pannekeet MM, Hiralall JK, Struijk DG, Krediet RT. Longitudinal follow-up of CA125 in peritoneal effluent. *Kidney international*, 1997;51(3):888-93.
63. Goodlad C, Tam FW, Ahmad S, Bhangal G, et al. Dialysate cytokine levels do not predict encapsulating peritoneal sclerosis. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*, 2014;34(6):594-604.
64. Lopez-Anton M, Lambie M, Lopez-Cabrera M, Schmitt CP, et al. miR-21 Promotes Fibrogenesis in Peritoneal Dialysis. *The American journal of pathology*, 2017;187(7):1537-50.
65. Padwal M, Siddique I, Wu L, Tang K, et al. Matrix metalloproteinase 9 is associated with peritoneal membrane solute transport and induces angiogenesis through beta-catenin signaling. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 2017;32(1):50-61.
66. Ghosh AK, Vaughan DE. PAI-1 in tissue fibrosis. *Journal of cellular physiology*, 2012;227(2):493-507.
67. Hertig A, Berrou J, Allory Y, Breton L, et al. Type 1 plasminogen activator inhibitor deficiency aggravates the course of experimental glomerulonephritis through overactivation of transforming growth factor beta. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2003;17(13):1904-6.
68. Reilly CF, Fujita T, Mayer EJ, Siegfried ME. Both circulating and clot-bound plasminogen activator inhibitor-1 inhibit endogenous fibrinolysis in the rat. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology*, 1991;11(5):1276-86.
69. Gorlatova NV, Cale JM, Elokda H, Li D, et al. Mechanism of inactivation of plasminogen activator inhibitor-1 by a small molecule inhibitor. *The Journal of biological chemistry*, 2007;282(12):9288-96.
70. Balsara RD, Ploplis VA. Plasminogen activator inhibitor-1: the double-edged sword in apoptosis. *Thrombosis and haemostasis*, 2008;100(6):1029-36.
71. Bernot D, Stalin J, Stocker P, Bonardo B, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 is an intracellular inhibitor of furin proprotein convertase. *Journal of cell science*, 2011;124(Pt 8):1224-30.
72. Tuan TL, Zhu JY, Sun B, Nichter LS, et al. Elevated levels of plasminogen activator inhibitor-1 may account for the altered fibrinolysis by keloid fibroblasts. *The Journal of investigative dermatology*, 1996;106(5):1007-11.

73. Tuan TL, Hwu P, Ho W, Yiu P, et al. Adenoviral overexpression and small interfering RNA suppression demonstrate that plasminogen activator inhibitor-1 produces elevated collagen accumulation in normal and keloid fibroblasts. *The American journal of pathology*, 2008;173(5):1311-25.
74. Lazar MH, Christensen PJ, Du M, Yu B, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 impairs alveolar epithelial repair by binding to vitronectin. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 2004;31(6):672-8.
75. Fay WP, Parker AC, Condrey LR, Shapiro AD. Human plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) deficiency: characterization of a large kindred with a null mutation in the PAI-1 gene. *Blood*, 1997;90(1):204-8.
76. Babu MS, Prabha TS, Kaul S, Al-Hazzani A, et al. Association of genetic variants of fibrinolytic system with stroke and stroke subtypes. *Gene*, 2012;495(1):76-80.
77. Toriseva M, Kahari VM. Proteinases in cutaneous wound healing. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 2009;66(2):203-24.
78. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, et al. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *The Journal of biological chemistry*, 1993;268(15):10739-45.
79. Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Bavenholm P, et al. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995;92(6):1851-5.
80. Lin JJ, Singhal K, Parton L, Cascio C, et al. Correlations between plasminogen activator inhibitor-1 and peritoneal transport in pediatric CCPD patients. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*, 1995;15(6):246-51.
81. Lopes Barreto D, Struijk DG, Krediet RT. Peritoneal effluent MMP-2 and PAI-1 in encapsulating peritoneal sclerosis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 2015;65(5):748-53.
82. Chen CH, Shu KH, Wen MC, Chen KJ, et al. Impact of plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms on primary membranous nephropathy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 2008;23(10):3166-73.
83. Kim KK, Flaherty KR, Long Q, Hattori N, et al. A plasminogen activator inhibitor-1 promoter polymorphism and idiopathic interstitial pneumonia. *Molecular medicine*, 2003;9(1-2):52-6.
84. Wang Y, Long J, Wang X, Sun Y. Association of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) Gene -675 4G/5G and -844 A/G promoter polymorphism with risk of keloid in a Chinese Han population. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 2014;20:2069-73.
85. Zhang ZY, Wang ZY, Dong NZ, Bai X, et al. A case of deficiency of plasma plasminogen activator inhibitor-1 related to Ala15Thr mutation in its signal peptide. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*, 2005;16(1):79-84.
86. rs6092 population genetics [25 November 2017]. 1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies. Available from: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101127936-101128936;v=rs6092;vdb=variation;vf=5820.

87. rs2227660 population genetics [25 November 2017]. 1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies. Available from:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101130494-101131494;v=rs2227660;vdb=variation;vf=1631653.
88. rs2227668 population genetics [25 November 2017]. 1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies. Available from:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101131074-101132074;v=rs2227668;vdb=variation;vf=1631661.
89. rs2854233 population genetics [25 November 2017]. 1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies. Available from:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101131089-101132089;v=rs2854233;vdb=variation;vf=2172114.
90. rs41281004 population genetics [25 November 2017]. 1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies. Available from:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101131237-101132237;v=rs41281004;vdb=variation;vf=10786369.
91. rs72393109 population genetics [25 November 2017].
BUSHMAN:BUSHMAN_POP. Available from:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101131318-101132317;v=rs72393109;vdb=variation;vf=13542922#11784_tablePanel.
92. rs2227684 population genetics [25 November 2017]. 1000 Genomes Project Phase 3 allele frequencies. Available from:
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101133150-101134150;v=rs2227684;vdb=variation;vf=1631677.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI						
ETİK KOMİSYONUN ADI	DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ					
AÇIK ADRES	GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
TELEFON	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR					
FAKS	0 232 412 22 54-0 232 412 22 58					
E-POSTA	etikkurul@deu.edu.tr					
BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	2330-GOA				
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☐ AKADEMİK AMAÇLI ☐				
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Peritoneal Diyaliz Hastalarda PAI-1 Gen Değişimlerinin Fibroziste Olan İlişkisinin Araştırılması				
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU					
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr.Murat Derya ERÇAL				
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	-				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	-				
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐			
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐	İngilizce ☒	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
 Yunus KARSLI D.E.Ü. Tıp Fakültesi Fakülte Sekreteri 18.02.2018						

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2015/27-28	Tarih: 03.12.2015
	Prof.Dr.Murat Derya ERÇAL'ın sorumlusu olduğu "Peritoneal Diyaliz Hastalarında PAI-1 Gen Değişimlerinin Fibrozis ile Olan İlişkisinin Araştırılması" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.	
ETİK KURUL BİLGİLERİ		
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu	
ETİK KURUL ÜYELERİ		

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsi yet	Araştırma ile ilişkili mi?	İmza
Prof.Dr.Banu ÖNVURAL (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Banu</i>
Prof.Dr.Ş.Reyhan UÇKU (Başkan Yardımcısı)	Halk Sağlığı	DEU Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Katılacak</i>
Prof.Dr.Nejat SARIOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐ H ☒	<i>Nj</i>
Prof.Dr.Ece BÖBER	Pediyatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Ece</i>
Prof.Dr.Vesile ÖZTÜRK	Nöroloji	DEU Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Vesile</i>
Prof.Dr.Sevinç ERASLAN	Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Katılacak</i>
Prof.Dr.Mukaddes GÜMÜŞTEKİN	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	<i>M. Gümüştekin</i>
Prof.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Katılacak</i>
Prof.Dr.Nihal GELECEK	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Nihal</i>
Prof.Dr.Müge KIRAY	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Müge</i>
Doç.Dr.Şeyda SEREN İNTEPELER	Hemşirelik Yönetimi	DEU Hemşirelik Fakültesi Hemşirelik Yönetimi A.D	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Şeyda</i>
Doç.Dr.Sefa KIZILDAĞ	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D	Erkek	E ☐ H ☒	<i>Sefa</i>
Prof.Dr.Sevda ÖZKARDEŞLER	Anesteziyoloji	DEU Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.	Kadın	E ☐ H ☒	<i>Katılacak</i>
Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN	Hukuk	DEU Tıp Tarihi ve Etik A.D	Erkek	E ☐ H ☒	<i>Ahmet</i>
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐ H ☒	<i>Mehmet</i>

Yunus KARSLI
D.E.U. Tıp Fakültesi
Fakülte Sekreteri

Ek 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Projenin adı:

Peritoneal diyaliz hastalarında PAI-1 gen değişimlerinin fibrozisle olan ilişkisinin araştırılması

Araştırmayı destekleyen kurum:

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Araştırmacıların adı:

Prof. Dr. Murat Derya ERÇAL (Sorumlu Araştırmacı)

Prof. Dr. Taner ÇAMSARI

Prof. Dr. Ayfer ÜLGENALP

Uzm. Dr. Serkan YILDIZ

Uzm. Dr. Esra ATAMAN

Dr. Duygu ONUR CURA

Dr. Nadide Cemre RANDA

Adresi:

Dokuz Eylül Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı İnciraltı/İZMİR

İlgili doktorun e-mail adresi:

duyguonur_05@hotmail.com

İlgili doktorun telefonu:

0232 412 2573

Bu çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “**Peritoneal diyaliz hastalarında PAI-1 gen değişimlerinin fibrozisle olan ilişkisinin araştırılması**”dır. Kabul etmeniz durumunda bu çalışma için sizden PAI-1 4G/5G polimorfizmi (polimorfizm: hastalığa neden olmayan ancak genetik yatkınlık oluşturabilen DNA dizisindeki değişiklikler) bakılması amacıyla rutin olarak alınacak olan kanlardan PAI-1 gen değişimleri incelenecek, peritoneal fibroze genetik yatkınlığınız değerlendirilecektir.

Peritoneal fibrozis, çoğunlukla tekrarlayan periton diyalizine bağlı gelişen, periton zarında meydana gelen yangı sonucu oluşan ölümcül bir hastalıktır. Bu hastalarda periton zarında bağ dokusu artışına bağlı işlev kaybı görülmektedir. Sadece bazı periton diyalizi hastalarında peritoneal fibrozis geliştiği görülmüştür. Bu hastalarda fibrozis gelişimine genetik yatkınlık olduğu düşünülmektedir. PAI-1, yara iyileşmesinde ve dokuların yeniden

şekillenmesinde görevli bir moleküldür. PAI-1 genindeki değişim saptanan kişilerde fibrozis dokularında ve kanda PAI-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir

Bu araştırmanın amacı, peritoneal fibrozis geliştiren periton diyalizi hastalarında PAI-1 gen değişimlerinin belirlenmesi ve yatkınlığı olan hastalarda fibrozis gelişiminden önce tanı konulabilmesidir. Peritoneal fibrozis geliştiren ve geliştirmeyen periton diyalizi hastalarından PAI-1 geni dizi analizi yapılması planlanmıştır. Bu analizlerin sonucunda fibrozis oluşumuna katkıda bulunan gen değişimleri tanımlanabilecektir. Bu amaçla peritoneal fibrozis kuşkusu olan ya da peritoneal fibroze aday olan hastalardaki gen değişimlerinin öngördürücü olarak bir değer taşıyıp taşımadığını belirlemek üzere hastalar izlenecek ve tekrar değerlendirilecektir.

Bu araştırma sonucunda, peritoneal fibrozis gelişimine yatkınlığı olan kişiler diyaliz tipinin belirlendiği aşamada saptanabilecek, bu hastalar farklı tedavi yöntemlerine yönlendirilebilecektir. Böylelikle peritoneal fibroze bağlı ölüm oranında azalma sağlanabilecektir.

Bu araştırmada yer almanız öngörülen süre 12 ay olup, araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı kadın-erkek toplam 200'dür.

Bu araştırma ile ilgili olarak ciddi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için **0 232 412 25 73** numaralı telefondan **Dr. Duygu ONUR CURA**'ya başvurabilirsiniz.

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır. Ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilecektir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir.

Çalışmaya Katılma Onayı:

“Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.”

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Ek 3. Veri Kayıt Formu

Projenin adı:

Peritoneal diyaliz hastalarında PAI-1 gen değişimlerinin fibrozisle olan ilişkisinin araştırılması

Hastanın adı soyadı	
Doğum tarihi (Yaşı)	
Cinsiyeti	
Telefon numarası	
Kan verdiği tarih	

Tarih:

Bilinen hastalıklar	
Geçirilen hastalıklar	
Böbrek yetmezliğinin nedeni	
KBY süresi	
Periton diyalizi süresi	
Periton diyalizi tipi	
Peritonit sayısı	
Ultrafiltrasyon değeri /miktarı	
Kt/V değeri	
PET testi sonucu	
Kullanılan diyaliz solüsyonları (ikodekstrin var mı?)	
Kullandığı ilaçlar	
Şikayeti var mı? (ateş, genel yorgunluk, iştah kaybı, bulantı, kusma, dolgunluk, yok barsak sesleri, karın ağrısı)	
NOTLAR	

Aile Ağacı



Ek 4. Hastaların Kullandıkları Solüsyonlar ve Miktarları

	Glukoz Miktarı (%)			Diğer solüsyonlar		
	1,5	2,5	4,25	Ekstraneal®	Nutrineal®	Physioneal®
Olgu 1	2	1				
Olgu 2	1	1	1			
Olgu 3	3			1		
Olgu 4	3	Günaşırı				
Olgu 5	3			1	1	
Olgu 6	3	1		1		
Olgu 7	3	1				
Olgu 8	4			1		
Olgu 9	2	1		1		
Olgu 10	3					
Olgu 11	4					
Olgu 12	4					
Olgu 13	3	Günaşırı		1		
Olgu 14	3			1		
Olgu 15	1					
Olgu 16	4					
Olgu 17					1	3
Olgu 18	1	1				
Olgu 19	2			1	1	
Olgu 20	1	1				
Olgu 21	1					
Olgu 22	3					
Olgu 23	1					
Olgu 24	2			1		
Olgu 25	1	1		1	1	

Ek 5. Olgulara Ait Bilgiler

Olgu 1:

49 yaşında kadın hasta 4 yıl boyunca APD ile tedavisi görmekteydi. Peritoneal yetmezlik nedeniyle bir yıldır HD tedavisine devam eden hastanın KBY etyolojisi bilinmemekteydi. Hastada mental retardasyon ve görme bozukluğu mevcuttu. Aile ağacı incelendiğinde anne babası arasında birinci derece kuzen evliliği vardı.

Olgu 2:

70 yaşında erkek hasta 5 yıl APD tedavisi gördükten sonra peritoneal yetmezlik nedeniyle HD tedavisine geçtiği öğrenildi. KBY etyolojisi HT olan hastanın bilinen başka hastalığı yoktu.

Olgu 3:

63 yaşında kadın hastanın intersitisyel nefrite bağlı KBY tanısı mevcuttu. Hasta 10 yıldır PD tedavisi almakta olup son 8 yıldır APD tipi PD ile tedaviye devam etmekteydi. İdrar çıkışı yoktu. Hastanın tedavisinin 11.yılında divertikül perforasyonu nedeniyle eksitus olduğu öğrenildi.

Olgu 4:

68 yaşında erkek hastanın 10 yıldır nedeni bilinmeyen KBY tanısı mevcuttu. 7 yıldır APD tedavisi gören hasta tünel enfeksiyonu nedeniyle HD ile tedaviye devam etmekteydi. PD tedavisi süresince 3 kere peritonit atağı mevcuttu.

Olgu 5:

47 yaşında erkek hastanın 5 yıldır HT ve DM'a bağlı KBY tanısı mevcuttu. Hasta RRT olarak APD tedavisi görmekteydi. Bir kere peritonit atağı öyküsü mevcuttu. Koroner arter hastalığı mevcut olan hastanın 6 yıl önce bypass öyküsü bulunmaktaydı.

Olgu 6:

68 yaşında erkek hastanın 30 yıldır gut nefropatisine bağlı KBY öyküsü mevcut olup 5 yıldır PD tedavisi görmekteydi. Son iki yıldır APD tipi PD ile devam eden hastanın bir kere peritonit öyküsü mevcuttu. Hastanın volvulus nedeniyle eksitus olduğu öğrenildi.

Olgu 7:

75 yaşında kadın hastanın 11 yıldır HT'a bağlı KBY tanısı mevcut olup ilk 1,5 yıl HD öyküsü mevcuttu. Hasta PD tipi olarak APD almakta idi. İdrar çıkışı olmayan hastanın tedavisi sorunsuz olarak devam etmekteydi.

Olgu 8:

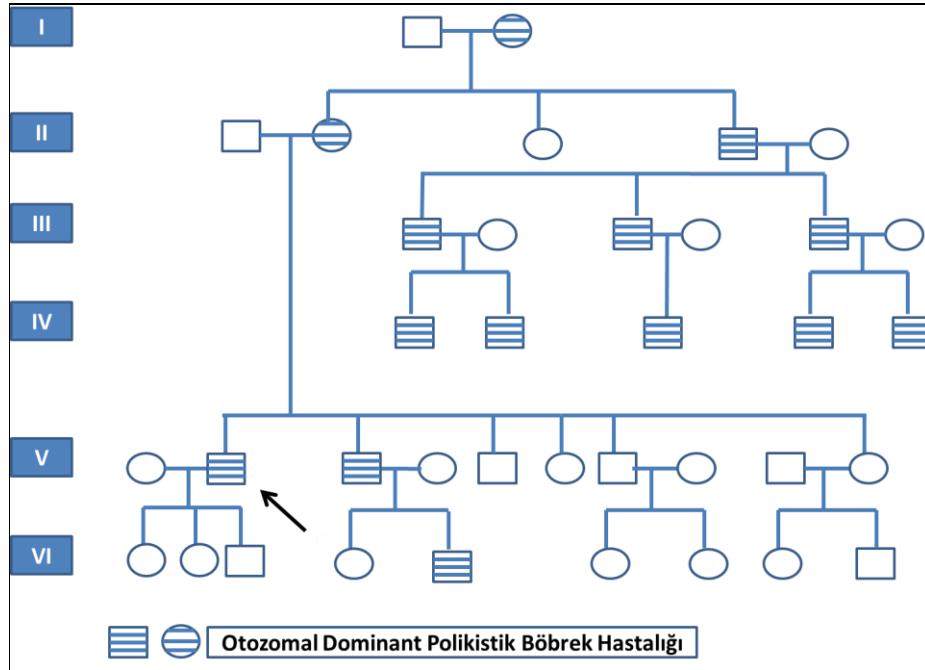
49 yaşında erkek hastanın KBY etyolojisi bilinmemekteydi. 3,5 yıldır APD tipi PD ile tedavi gören hastanın idrar çıkışı mevcuttu. Ek problemi yoktu.

Olgu 9:

50 yaşında kadın hasta 16 yıldır FSGS'ye bağlı KBY tanısı olan ve kortizon tedavisi ile takip edilen hastaya 8 yıl önce RRT başlanmıştır. Hasta 3 ay HD sonrası SAPD ile tedaviye devam etmekteydi. Hastanın bir kere peritonit öyküsü bulunmaktaydı. Kalp kapak hastalığı nedeniyle takipli olan hastada ayrıca 10 yıldan beri nedeni bilinmeyen işitme kaybı mevcuttu.

Olgu 10:

55 yaşında erkek hasta otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ODPKBH) nedeniyle 5 yıldır APD tedavisi görmektedir. Hasta en son 3 yıl önce peritonit atağı geçirmiştir. Ailede birçok bireyde ODPKBH mevcuttur. Aile ağacı aşağıda verilmiştir.



Olgu 10'a Ait Aile Ağacı

Olgu 11:

65 yaşında kadın hasta 5 yıl önce KBY tanısı almış. KBY etyolojisi bilinmeyen hastaya RRT olarak SAPD başlanmıştı. Hasta tedavisine sorunsuz devam etmekteydi.

Olgu 12:

68 yaşında kadın hasta HT nedeniyle böbrek yetmezliği mevcuttu. 8 yıldır RRT olarak SAPD tedavisi almakta idi. Bir kere peritonit atağı öyküsü olan hastanın tedavisi sorunsuz devam etmekteydi.

Olgu 13:

54 yaşında kadın hasta 11 yıl önce glomerülonefrit nedeniyle KBY tanısı almıştı. 3 yıl takip ve steroid tedavisi ile izlenen hasta 8 yıldır RRT olarak APD tedavisi görmekteydi. İdrar çıkışı olmayan hastanın peritonit öyküsü ya da ek problemi mevcut değildi.

Olgu 14:

57 yaşında erkek hasta 21 yıl önce FSGS tanısı alarak 4 yıl steroid tedavisi altında takip edilmişti. Sonrasında RRT olarak 14 yıl APD tedavisi gören hastaya peritoneal yetmezlik nedeniyle tedavi değişikliği yapılmıştı. Hasta 3 yıldır HD tedavisi görmekteydi. 3 yıl önce sol nefrektomi ve barsak serbestleştirmesi yapılan hastanın aile ağacı incelendiğinde anne babası arasında birinci derece akrabalık mevcut olduğu ve annesinin de 36 yaşında KBY nedeniyle ex olduğu görüldü.

Olgu 15:

45 yaşında erkek hasta HT ve DM'a bağlı böbrek yetmezliği mevcuttu. Hasta 3 yıldır ek sorunu olmaksızın APD tedavisi görmekteydi. Hastada ek olarak epilepsi hastalığı mevcuttu.

Olgu 16:

61 yaşında kadın hasta 7 yıl önce rutin tetkikler esnasında SDBY tanısı almıştı. 4 yıldır SAPD tedavisi gören hastanın KBY etyolojisi bilinmemekteydi. İdrar çıkışı mevcut olan hasta tedavisine sorunsuz şekilde devam etmekteydi.

Olgu 17:

70 yaşında kadın hasta 5 yıldır SAPD tedavisi görmekteydi. Primer hastalığı HT olan hastanın İdrar çıkışı mevcuttu. Tedavisi sorunsuz devam etmekteydi. 6 ay süre ile ikodekstrinli solüsyon kullandığı öğrenildi.

Olgu 18:

39 yaşında kadın hastanın KBY etyolojisi bilinmemekteydi. 18 yaşında RRT'ye başlayan hastanın 14 yıl HD tedavisi, 3 yıl kadavradan renal Tx tedavisi sonrasında diyaliz yetersizliği nedeniyle PD tedavisine başladığı öğrenildi. 4 yıldır APD ile tedavisine devam eden hastanın lüzum halinde 4,25 glukoz içeren solüsyondan kullandığı son bir yıldır PD'ne ek olarak haftada bir gün HD tedavisi gördüğü öğrenildi.

Olgu 19:

53 yaşında kadın hasta 6 yıldır RRT almaktaydı. İlk yıl HD tedavisi gören, damar yolu sorunu nedeniyle PD tedavisine geçen hastanın HT'a bağlı böbrek yetmezliği mevcuttu. 5 yıldır SAPD tedavisine devam eden hastanın tedavisi sorunsuz devam etmekteydi.

Olgu 20:

59 yaşında erkek hastanın 4 yıldır RRT aldığı ve KBY etyolojisinin HT olduğu öğrenildi. RRT olarak PD ile tedaviye başlayan hastanın diyaliz tipi APD idi. İdrar çıkışı mevcut olan hasta tedavisine sorunsuz devam etmekteydi.

Olgu 21:

36 yaşında kadın hastada HT'a bağlı KBY mevcuttu. 20 yıldır RRT alan hastanın 1 yıl HD ile, 15 yıl renal Tx ile tedavi gördüğü, rejeksiyon nedeniyle PD tedavisine geçtiği öğrenildi. 3 yıl APD ile tedavi gören hastanın kateter problemi nedeniyle HD tedavisine döndüğü öğrenildi.

Olgu 22:

47 yaşında kadın hasta 5 yıldır RRT görmekteydi. Tedaviye HD ile başlayan ve bir yılın sonunda damar yolu sorunu nedeniyle PD tedavisine geçen hasta tedavi tipi olarak SAPD kullanmakta idi. KBY etyolojisi bilinmeyen hastanın idrar çıkışı olup ek problemi yoktu.

Olgu 23:

57 yaşında kadın hasta polikistik böbrek hastalığı nedeniyle 3 yıldır RRT görmektedir. SAPD ile tedaviye başlayan ve tedavisi aynı şekilde devam eden hastanın idrar çıkışı mevcut ve ek şikayeti yoktu.

Olgu 24:

65 yaşında erkek hastanın HT'a bağlı 5 yıldır RRT görmekte olduğu öğrenildi. Tedaviye PD ile başlayan ve diyaliz tipi olarak SAPD uygulayan hasta iki yıldır ikodekstrinli solüsyon kullanmakta ve tedavisine sorunsuz devam etmekteydi.

Olgu 25:

64 yaşında kadın hasta 4 yıl önce kaşıntı nedeniyle tetkik edilirken SDBY tanısı almıştı. 3 yıldır SAPD tedavisi gören hastanın ek şikayeti mevcut değildi.