

T.C. DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

NEFROLOJİ BİLİM DALI

**SKLEROZAN ENKAPSÜLE PERİTONİT (SEP)
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA STEROİD-
SİROLİMUS BİRLİKTE KULLANIMININ
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

NEFROLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Sibel ERSAN

İZMİR-2013

T.C. DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEFROLOJİ BİLİM DALI

**SKLEROZAN ENKAPSÜLE PERİTONİT (SEP)
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA STEROİD-
SİROLİMUS BİRLİKTE KULLANIMININ
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

NEFROLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. Sibel ERSAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ali ÇELİK

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ.....	II
ŞEKİL LİSTESİ.....	III
GRAFİK LİSTESİ.....	IV
RESİM LİSTESİ.....	V
KISALTMALAR.....	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	3
GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
GENEL BİLGİLER.....	6
GEREÇ VE YÖNTEM.....	12
BULGULAR.....	16
TARTIŞMA.....	25
KAYNAKLAR.....	28

TABLO LİSTESİ

Tablo-1 : Grupların çalışmanın başlangıcındaki ve sonundaki ağırlıkları

Tablo-2 : Pariyetal periton kalınlık, fibrozis ve damar yoğunlukları (ortalama \pm SD)

Tablo-3 : Viseral periton kalınlık, fibrozis ve damar yoğunlukları (ortalama \pm SD)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 : SEP oluŐum mekanizması

Şekil 2 : Deneysel tasarım

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1 : Grupların pariyetal periton kalınlıkları.

Grafik 2 : Grupların viseral periton kalınlıkları.

RESİM LİSTESİ

Resim 1 : Eter anestezi ile sıçanların sakrifikasyonu

Resim 2 : Kontrol grubunda normal paryetal ve viseral periton görüntüleri

Resim 3: KG (sol) ve D (sağ) gruplarındaki sıçanlarda periton ve karaciğer viseral periton kalınlaşması görüntüleri

Resim 4 : A. K grubunda HE ile normal periton kalınlığı, B. Von Gieson ile pariyetal peritonun normal görüntüsü

Resim 5. A. KG grubuna ait Von Gieson ile pariyetal periton fibrozis artışı (yeşil alanlar) B. HE ile viseral peritonda kalınlık artışı C. Pariyetal peritonda damarlanma artışı (HE)

Resim 6 : A. D grubunda fibrozis artışı (MT) B. HE ile viseral peritonda kalınlık artışı

Resim 7 : A. Sir grubunda pariyetal periton kalınlığı (MT) B. Sir grubunda karaciğer üzeri viseral periton kalınlığında azalma (MT) C. Sir grubunda pariyetal peritonda damarlanma artışı yok (CD34)

Resim 8 : A. P-Sir grubu pariyetal periton kalınlığı (MT) B. Karaciğer üzeri viseral periton kalınlığı (HE)

KISALTMALAR

SEP	Sklerozan enkapsüle peritonit
KG	Klorheksidin glukonat
RAS	Renin anjiyotensin sistemi
KBY	Kronik böbrek yetmezliği
SDBY	Son dönem böbrek yetmezliği
PD	Periton diyalizi
SAPD	Sürekli ayaktan periton diyalizi
APD	Aletli periton diyalizi
GAPD	Gece aletli periton diyalizi
SDPD	Sürekli döngüsel periton diyalizi
mTOR	Mammalian target of rapamycin
KNİ	Kalsinörin inhibitörleri
GDP	Glikoz yıkım ürünleri
AGEs	Glikozilasyon son ürünleri
AQP	Aquaporin
PI3K	Fosfoinositin 3-kinaz
IL-1	İnterlökin-1
TNF-a	Tümör nekrozis faktör-a
IL-6	İnterlökin-6
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
EGF	Damar endotel büyüme faktörü
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentetaz
UFY	Ultrafiltrasyon yetersizliği
EMT	Epitel-mezenkim dönüşümü
MMP	Matriks metalloproteinaz
HIF	Hipoksi ile indüklenen faktörler
TIMP	Doku matriks metalloproteinaz inhibitörü
VEGF	Vasküler endotel büyüme faktörü
ECM	Ekstraselüler matriks
SMK	Submezotel kalınlık
HE	Hemotoksilen&Eosine
MT	Masson's Trichrome
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
TGF-β	Değiştirici büyüme faktörü-β
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
α-SMA	α-düz kas aktin
ml	mililitre
mg	miligram
μM	mikromol
μL	mikrolitre
kD	kilodalton
nm	nanometre
μm	mikrometre
μg	mikrogram

TEŞEKKÜR

Nefroloji yan dal uzmanlık eğitimim sonunda, mesleğimin bu bilim dalındaki ayrıntılarını öğrenme ve hastalarımın faydalı olma çabasının hep devam edeceğinin farkında olarak;

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum, ilminden ve tecrübesinden faydalandığım, dilimizin sade ve öz kullanılmasına olan duyarlılığını örnek edindiğim saygıdeğer hocam Prof. Dr. Taner ÇAMSARI'ya, tez danışmanlığımı üstlenen ve rehberliğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Ali ÇELİK' e ve beraber çalıştığımız dönemlerde yardımları ve deneyimleri ile katkıda bulunan diğer hocalarım sayın Prof. Dr. Caner ÇAVDAR ile Prof. Dr. Aykut SİFİL'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Yan dal uzmanlık eğitimi süresince paylaşımcı ve samimi bir ekip oluşturduğumuz sevgili çalışma arkadaşlarım ve dostlarım Uzm. Dr. Sibel ADA ve Uzm. Dr. Mehmet SERT'e teşekkür ederim. Bölümde birlikte çalışmaktan hep keyif aldığım, yardımları ve sohbetleri ile yanımda olan bütün hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma ayrıca teşekkürü borç bilirim.

Tezimin hazırlanmasında büyük emekleri bulunan Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Sülen SARIOĞLU ve Doç. Dr. Mehtat ÜNLÜ'ye, Multidisipliner Laboratuvarı ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Osman YILMAZ ve sevgili Vet. Aslı ÇELİK'e de göstermiş oldukları içten destekleri için çok teşekkür ederim.

Bu araştırmanın maddi desteğini sağlayan "Dokuz Eylül Böbrek Hastalarına Yardım ve Dayanışma ile Bilimsel Araştırmaları Destekleme Derneği" üyelerine de ayrı ayrı teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak; her zaman sevgi, saygı ve desteği ile yanımda olan çok kıymetli eşim Uz. Dr. Gürsel Ersan'a, canım oğlum Tuna Ersan'a ve aileme bugünlere gelmemi sağladıkları için tüm kalbimle sevgiler ve teşekkürler...

Dr. Sibel ERSAN

ÖZET

SKLEROZAN ENKAPSÜLE PERİTONİT OLUŞTURULAN SIÇANLARDA STEROİD-SİROLİMUS BİRLİKTE KULLANIMININ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Sibel ERSAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

İç Hastalıkları A.D / Nefroloji B.D

Yazışma Adresi: DEUTF İç Hastalıkları A.D/ Nefroloji B.D Balçova/İZMİR

Elektronik posta: sibel.ersan@deu.edu.tr

Son dönem böbrek hastalığında böbrek yerine koyma tedavisi olarak uygulanmakta olan periton diyalizinin (PD) avantajlarının yanı sıra uzun dönem uygulanmasını sınırlayan ciddi komplikasyonları da bulunmaktadır. Bunların başlıcaları bakteriyel peritonit ve sklerozan enkapsüle peritonit (SEP) tir. SEP; periton zarında skleroz gelişmesine neden olan patolojik süreçleri ve buna bağlı olarak bağırsak anslarının ince bir zarla koza şeklinde sarılması ile ortaya çıkan klinik durumları tanımlamaktadır. Periton diyalizinin nadir fakat mortalitesi yüksek bir komplikasyonudur. SEP gelişmesinde rol oynayan başlıca faktörler; uzun PD süresi, peritonit atakları, periton zarının biyouyumsuz sıvılara maruz kalması ve epitelyum-mezenkimal dönüşüme (EMT) uğraması ve PD sonlandırılmasıdır. Böbrek nakli yapılan PD hastalarında gelişen SEP için immünsüpresif protokollerde kullanılan kalsinörin inhibitörlerinin profibrotik etkilerinin risk faktörü olabileceği ileri sürülmektedir.

Günümüzde SEP tedavisi tam olarak mümkün değildir. İmmünsüpresif ajanların etkinliği insanlarda ve deneysel SEP modellerinde kanıtlanmıştır. Sıçanlarda oluşturulan SEP örneklerinde mTOR [mammalian target of rapamycin] inhibitörleri everolimus ve sirolimusun etkinliği gösterilmiştir. Sirolimus ile steroid birlikte kullanımının (kombinasyonunun) etkinliği konusunda literatürde deneysel veri yoktur.

Amaç : Bu çalışmada deneysel olarak SEP oluşturulmuş sıçanlarda sirolimus ve steroid birlikte kullanımının SEP histopatolojisi üzerine etkinliğini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve yöntem : Çalışmaya 42 adet erkek ve 200-250 gram ağırlığında Wistar sıçanları alındı. SEP modeli, 3 hafta süreyle her gün karın sağ alt kadrandan periton içine (i.p) olarak isotonik sıvıda çözülmüş % 0.1 klorheksidin glukonat (KG) ve % 15 etanol solüsyonundan 10 ml/kg uygulanması ile oluşturuldu. Sıçanlar 6 gruba ayrıldı; kontrol grubuna (K) i.p 2 ml isotonik/gün/3 hafta; klorheksidin glukonat (KG) grubuna 2 ml KG/200gr/gün/3 hafta uygulanarak 3. hafta sonunda bu gruplardaki sıçanlara eter anestezi uygulanarak yaşamları sonlandırıldı.. Dinlenme (D) grubuna 2 ml KG/gün/3 hafta ve sonrasında 3 hafta süreyle periton dinlenmesi uygulandı. Kortikosteroid (P) grubuna 3 hafta süreyle KG /gün ve izleyen 3 hafta prednizolon (10 mg/L, içme suyunda) ; sirolimus (Sir) grubuna 3 hafta KG ve izleyen 3 hafta sirolimus (1 mg/kg/gün, gastrik gavaj ile) ; kortikosteroid-sirolimus (P-Sir) grubuna 3 hafta KG ve sonrasında 3 hafta prednizolon 10 mg/L ve sirolimus uygulandı. Altı hafta sonunda sıçanların eter anestezi ile yaşamları sonlandırıldı ve injeksiyon yerinin karşı tarafından pariyetal, eş zamanlı olarak da karaciğer viseral periton örnekleri alındı. Patolojik inceleme için Hematoxylen & Eosin (HE) ve Mason Trichrome (MT) boya ları kullanıldı. Işık mikroskopisi ile periton kalınlığı, fibrozis, ve damar yoğunluğu değerlendirildi.

Bulgular : Pariyetal periton kalınlığı KG ve D gruplarında K, P, Sir ve P-Sir gruplarına göre anlamlı olarak artmış saptandı ($p<0.05$). K, P, Sir ve P-Sir grupları arasında pariyetal periton kalınlıkları açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). İstatistiksel bulgular fibrozis ve damar yoğunluk verileri açısından da aynı şekilde gözlemlendi. Viseral periton kalınlığı, fibrozis skoru ve damar yoğunluğu açısından da gruplar arasında yapılan karşılaştırmada; KG ve D gruplarında periton kalınlığı, fibrozis skoru ve damarlanma yoğunluğu K grubuna göre anlamlı olarak artmış bulundu ($p<0.05$). P, Sir, P-Sir gruplarında K grubu ile kıyaslandığında fark anlamlı saptanmadı. Çalışma sonunda D grubu ile KG grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmezken; P, Sir ve P-Sir gruplarında KG ve D gruplarına göre tüm parametrelerde anlamlı gerileme saptandı ($p<0.05$).

Sonuç : Bu çalışmada deneysel olarak SEP oluşturulmuş sıçanlarda sirolimus-prednizolon birlikte kullanımının tek başına sirolimus ve prednizolon tedavilerine bir üstünlüğü olmadığı gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler : sklerozan enkapsüle peritonit, sirolimus, immünsüpresif tedavi

SUMMARY

THE EFFECT OF STEROID-SIROLIMUS COMBINATION ON THE EXPERIMENTAL MODEL OF SCLEROSING ENCAPSULATED PERITONITIS IN RATS

Sibel ERSAN

Dokuz Eylul University Hospital

Department of Internal Medicine, Division of Nephrology

Correspondence address : Dokuz Eylul Univeristy, Medical School, Internal Medicine/ Nephrology Department, Balcova- IZMIR, TURKEY

E-mail : sibel.ersan@deu.edu.tr

Peritoneal dialysis (PD) , an alternative renal replacement treatment modality for end stage renal failure patients, has some serious complications that limits it for long-term use besides its certain advantages. Major complications are bacterial peritonitis and sclerosing encapsulated peritonitis (SEP). SEP is a clinical syndrome resulting from the pathologic processes that terminate with peritoneal sclerosis and cocooning of intestinal loops. It is a nadir but seriously fatal complication of PD. Major risk factors playing role in development of SEP are prolonged PD duration, infectious peritonitis episodes, exposure of peritoneal membrane to bioincompatible solutions, EMT, and cessation of PD. SEP occurring in PD patients who underwent renal transplantation has been attributed to the use of profibrotic effects of calcineurine inhibitors of immunosuppressive regimens.

At present there is not any established treatment modality for SEP. The effects of some immunosuppressive agents have been documented in both human and experimental studies. The inhibitors of mammalian target of rapamycin (mTOR), everolimus and sirolimus, have attenuated SEP findings in experimental rat models. The effect of combination of sirolimus with steroid has not been documented so far.

Objective : The aim of the study was to determine the effect of combination of sirolimus and steroid on experimental SEP model developed in rats.

Materials and method : 42 wistar albino male rats were divided into 6 groups : 1) control group (C), 2 ml isotonic saline injected intraperitoneally (i.p) daily for 3 weeks, 2) chlorhexidine gluconate group (KG), 2 ml 0.1%CG and 15% ethanol dissolved in saline injected i.p daily for 3 weeks ,3) resting group (R) , CG for three weeks plus 3 weeks peritoneal rest, 4) prednisolone group (P), CG for 3 weeks and then prednisolone 0.1mg/kg (10 mg in 1 L tap water) for 3 weeks by feeding tube, 5) sirolimus group (Sir), CG for 3 weeks and then oral sirolimus (1mg /kg/day) for 3 weeks , 6) prednisolone-sirolimus group (P-Sir), CG for 3 weeks and then orally prednisolone and sirolimus for 3 weeks. At the end of 6 weeks rats were sacrificed by ether anesthesia. The specimens were collected from opposite side of injection for parietal peritoneum and from liver surface for visceral. The specimens were stained by Hematoxylen & Eosin (HE) and Mason Trichrome (MT) dyes for pathologic examinations. Peritoneal thickness, fibrosis, and vascular intensity were determined under light microscopy.

Results : In the CG and R groups there was a significant increase in peritoneal thickness, fibrosis score and vascular intensity compared to C, P, Sir, and P-Sir groups in both parietal and visceral peritoneum ($p < 0.05$). The parameters at the end of the study were not different in C, P, Sir , and P-Sir groups. The difference between P, Sir, and P-Sir groups were not significant. Resting was shown to be ineffective in attenuating SEP parameters.

Conclusion : In this study we observed that sirolimus-prednisolone combination was equally effective in experimental SEP model compared to prednisolone and sirolimus only regimens.

Key words : Sclerosing encapsulated peritonitis, sirolimus, immunosuppressive therapy

GİRİŞ VE AMAÇ

Periton diyalizi (PD), son dönem böbrek yetmezliği hastalarında kalan böbrek işlevlerinin daha iyi korunduğu ve hastalara daha bağımsız bir yaşam sunan böbrek yerine koyma tedavi seçeneklerinden birisidir. Hemodiyalize kıyasla tanımlanan bazı olumlu özelliklerine rağmen tedaviye özgü birtakım yan sorunlar nedeniyle uzun dönemde kalıcı bir tedavi seçeneği olması mümkün olmamaktadır (1). PD'nin kalıcı bir tedavi şekli olmasını sınırlandıran yan sorunların başında enfeksiyöz peritonit atakları, ikinci olarak da sklerozan enkapsüle peritonit (SEP) gelmektedir (1-3). SEP, nadir fakat ölümcül olabilen, ultrafiltrasyon yetersizliği (UFY), hemorajik periton sıvısı, tıkaçıcı ileus, emilim bozuklukları (malabsorpsiyon) ve belirgin kilo kaybı ile ortaya çıkan klinik bir durumdur. Patolojik bulgular peritonda kalınlaşma, kalsifikasyon, barsak anslarının koza şeklinde sarmalanması ve yeniden damarlanma şeklindedir (1, 4, 5). Patogenezi belirleyen temel mekanizma; üremi, uzun süre fizyolojik olmayan glukoz içerikli periton sıvılarına temas, glukoz yıkım ürünleri (AGEs), asidik pH, tekrarlayan peritonit atakları gibi faktörlerin uyarısı ile periton mezotel hücrelerinden salınan sitokinlere verilen yanıttır. Değiştirici büyüme faktörü- β (TGF- β), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ve hipoksi ile uyarılan faktörler (HIF) gibi sitokinler, periton zarındaki mezotel hücrelerin normal epitel özelliklerini kaybederek daha istilacı ve fibrotik özellikli mezotel fenotip kazanmasına neden olmaktadır. Mezotel hücrelerinde meydana gelen bu değişime epitel-mezenkim dönüşümü (EMT) denmektedir (4, 6-10).

EMT patogenezinde rol oynayan sitokinleri hedef alan tedavi yöntemleri deneysel SEP örneklerinde denenmektedir. Bir immünsüpresif ajan olan rapamisinin [memelilerin rapamisin hedefi (mTOR) inhibitörü] TGF- β 'e bağlı bazı EMT etkilerini engelleyebildiği (antifibrotik etki) ve aynı zamanda HIF1 α sentezini baskılama yoluyla HIF1 α tarafından uyarılan VEGF ekspresyonunu baskılayabildiği (antianjiyojenik etki) gösterilmiştir (11-13).

Son zamanlarda SEP risk faktörleri arasında "böbrek nakli" nin de sayıldığı bazı bildiriler sunulmaktadır (14, 15).

Bu çalışmada deneysel olarak SEP oluşturulmuş sıçanlarda sirolimus ve steroid birlikte kullanımının SEP histopatolojisi üzerine etkinliğini araştırmak amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Periton diyalizi

Periton zarı

Periton diyalizi 1970'lerin sonlarından itibaren bir tedavi seçeneği olarak önem kazanmaya başlamıştır. Günümüzde toplam diyaliz nüfusunun yaklaşık %10-15'ini PD hastaları oluşturmaktadır (5, 16, 17). PD'de periton zarı endojen bir diyaliz zarı gibi işlev görür. Su ve solütlerin taşınması, periton zarındaki kapiller kan ve periton boşluğuna doldurulan diyaliz solüsyonu arasındaki hidrostatik ve ozmotik basınç farklılıkları ile oluşmaktadır. Periton zarı, viseral periton ve karın duvarını örten pariyetal peritondan oluşan seröz bir zardır ve işlevsel yüzey alanını periton kapiler damarlarının etkin yüzey alanı belirler. Erişkinlerde ortalama periton yüzey alanı 1-1.3 m² arasındadır (18, 19). Pariyetal periton su ve solüt taşınmasında asıl görev alan kısımdır ve bağ dokusu üzerine yerleşmiş tek sıra mezotel hücrelerinden oluşur. Mezotel katın altında jel kıvamında bir ara doku (interstisyum) vardır (20) .

Su ve solüt taşınması

Sürekli ayaktan periton diyalizinde (SAPD) hasta tarafından periton içine günde dört ya da beş kez 2-2.5 litre diyaliz sıvısı verilir, 4-5 saat bekleme süresi sonunda değişim yapılır. Dört saatten kısa değişimlerin yapılmasında bir makine (cycler) kullanılması yöntemine aletli periton diyalizi (APD) adı verilir. Bu yöntemde 8-10 saatlik gece süresince 10-20 litre düzeyinde diyaliz sıvısı ile değişim yapılması mümkündür (21). APD de; a) hastanın gündüz karnında sıvı olup gece cihaza bağlanmadan önce bu sıvının boşaltılması şeklinde sürekli döngüsel periton diyalizi (SDPD) ve b) periton gündüz sıvısız bırakılıp gece cihaza bağlanması şeklinde gece aralıklı periton diyalizi (GAPD) olmak üzere ikiye ayrılır. Ayrıca SAPD ve APD'nin ortak kullanıldığı melez tedavi seçenekleri de vardır (22, 23).

Periton ve kapiler kan arasında; kapiler damar duvarı, interstisyum ve mezotel hücre tabakası olmak üzere üç engel bulunur. Mezotel hücre tabakası su ve solüt taşınmasına önemli bir engel oluşturmazken sıvı ve büyük moleküllerin taşınmasında en önemli engel damar endotelidir. İnterstisyum küçük molekül taşınmasına üçte bir oranında direnç gösterir (24).

Kapiler endotel geçirgenliğini endotel hücreler arasındaki gözenek büyüklüklerine göre tanımlayan üç-gözenek örneğine göre:

1. küçük-gözenekler (çapları 40-50 Å, < 0.5 nm) : yoğunlukla bulunurlar, albumin (36 Å) ve daha büyük moleküllerin geçişini engeller,
2. büyük-gözenekler (> 150 Å):toplam gözenek miktarının %0.1'inden az bulunurlar, bu gözeneklerden taşınma plazmadan periton kavitesine hidrostatik basınç sayesinde tek yönlü olmaktadır,
3. çok-küçük gözenekler [aquaporin-1 (AQP) kanalları, 3-5 Å] : sadece osmotik su geçişine olanak tanırlar (21, 25, 26).

AQP sistemi periton içine konulan hipertonic diyalizatın oluşturduğu osmotik farka bağlı su geçişinden ve toplam kapiler ultrafiltrasyonun (UF) ortalama % 40-50'sinden sorumludur. AQP-1 aynı zamanda yangı sırasında gerçekleşen lökosit göçü ve damar çoğalması ile de ilintilidir (27). Bu nedenle AQP1 sunumunun veya işlevinin artırılması (örneğin kortikosteroid tedavisi ile) PD hastalarında UF yetersizliğinin (UFY) tedavisine olanak sağlar (26).

UF yetersizliği (UFY) , yangı ve SEP

HD'e yakın oranda bir sağkalım sağlayan ve ona göre kalan böbrek işlevlerinin daha iyi korunması, viral hepatit gibi risklerin belirgin az olması, bir merkeze bağımlılığın olmaması, nakil sonrası daha iyi sağkalım oranlarının olması ve daha ucuz bir yöntem olması gibi avantajları olan PD'nin uzun dönem tedavi seçeneği olamamasının en önemli nedeni teknik yetersizlik gelişmesidir (16, 28-31).

Teknik yetersizliğin en önemli iki nedeni; enfeksiyonlar (peritonitler) ve periton zarının uzun süre diyaliz solüsyonlarına maruz kalması sonucunda gelişen UFY ve artmış solüt geçişine neden olan periton zarı yapısal değişiklikleridir (EMT).

UFY; modifiye edilmiş %4.25'lik veya %3.86'lık solüsyonlardan iki litre karın içine verilip dört saat sonunda 2400ml'den daha az ultrafiltrasyon volümü olması ile birlikte klinik olarak sıvı yüklenmesi bulgularının olması ve bu bulguların tedavisi için hipertonic değişimlere gereksinim duyulması olarak tanımlanır (32) . Periton diyaliz hastalarında başlıca 4 tip UFY görülür:

Tip 1. Artmış periton geçirgenliği nedeniyle ozmotik farkın erken kaybolması. Bu durum peritonit sırasında geçici olarak ortaya çıkabilir.

Tip 2. Membran sklerozu sonrasında meydana gelen yetersiz yüzey alanı.

Tip 3. Aşırı lenfatik geriemiilim.

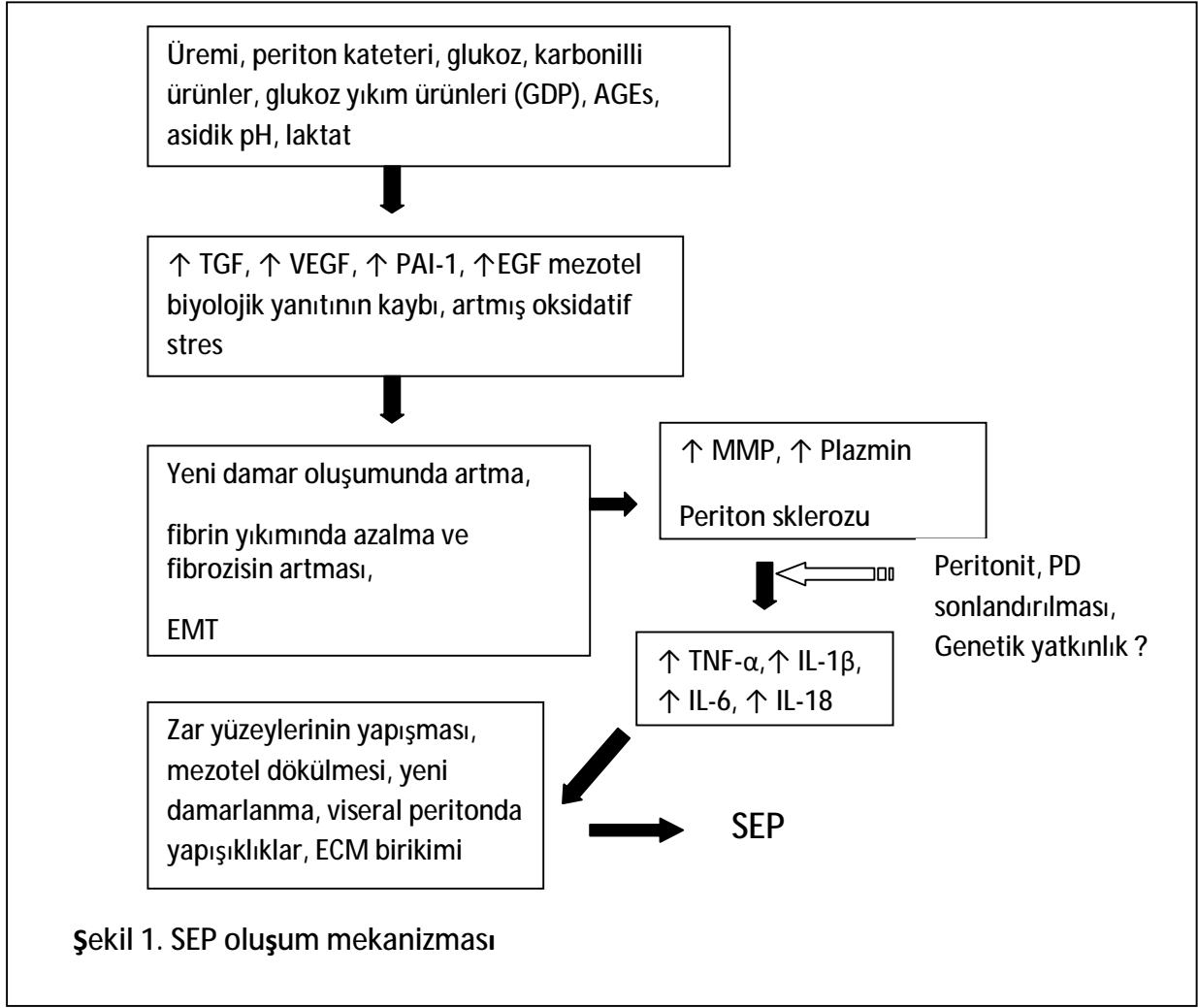
Tip 4. AQP işlevsel bozukluğu veya kaybı sonucu ortaya çıkan UFY.

PD hastalarının yaklaşık olarak %50'sinde görülebilen periton zarı değişiklikleri; yangı ile birlikte ilerleyici fibrozis, damar çoğalması ve damar yapısında bozulma şeklindedir (26, 28). Hastaların az bir kısmında ise yangı, katastrofik fibrojenik yanıtla sonlanmakta ve barsak anslarını koza şeklinde sarıp yapışıklıklara neden olan yüksek mortalite ile seyreden SEP'e ilerleyebilmektedir (33, 34)

Epitelyal parenkimal organlarda fibrozis süreci şematik olarak üç aşamada özetlenebilir: 1) hasara maruz kalan epitel hücreleri sitokinler salgılayarak yangı hücrelerini ilk tehdit bölgesine çekerler; 2) yangı hücrelerinden salgılanan diğer sitokinler epitelyal parenkimi daha da hasarlar, fibroblast/miyofibroblastların çoğalmasını ve matriks proteinleri oluşturmalarını uyarırlar; 3) fibrogenez kendisini tetikleyen bir süreç haline gelir ve ilk tehdit ortadan kalkmasına rağmen devam edebilir (6). Bu süreç PD hastalarında periton zarında gelişmektedir. Periton zarının tek katlı mezotel hücreleri epitel hücre özelliği taşımakta ve peritonun homeostazisini sağlamak için pek çok madde salgılamaktadır (35). Periton diyaliz tedavisine başlanmasından kısa bir süre sonra periton mezotel hücreleri epitel fenotiplerini kaybetmekte ve mezenkimal özellik kazanmaktadırlar (7). Bu değişim, periton biyopsilerinin immünohistokimyasal çalışmalarında mezotel hücre belirteci olan α - düz kas aktinin (α -SMA) myofibroblastlarda sunumunun gösterilmesi ile kanıtlanmıştır (10, 36-38). EMT sonucunda epitel hücre belirteçleri olan E-cadherin ve sitokeratinin kaybı da görülmekte, epitel hücreler daha hareketli ve istilacı özellik kazanmaktadır (7). Uzun süre CAPD hastalarında gözlenen mezotel hücre dökülmesi, submezotel interstisyel fibrozis ve vasküler skleroz gibi morfolojik değişikliklere "periton sklerozu" denilmektedir (39-41). SEP, periton sklerozunun şiddetli bir biçimidir. Ancak basit periton sklerozlu hastaların hepsinde SEP izlenmemektedir. Sıklıkla enfeksiyöz peritonit, genetik yatkınlık veya PD sonlandırılması gibi faktörler SEP'i başlatmaktadır (Şekil 1).

PD'de yangının nedenleri KBY'ne bağlı üremi gibi geleneksel faktörler ve periton diyaliz tedavisinin kendisine bağlı faktörler olmak üzere iki grupta incelenebilir.

Üremi, karbonilli ürünlerin ve ilerlemiş glukozilasyon son ürünlerinin (AGEs) oluşumuna neden olarak periton zarında yangıya katkıda bulunmaktadır (28, 34, 37).



Periton diyaliz kateteri hastanın temasta bulunduğu ilk yangı tetikleyici faktördür. Kateter aynı zamanda bakteriyel biyofilm tabakanın oluşmasına da neden olmaktadır (42). Bundan sonra yangıyı tetikleyen ikinci faktör de periton diyaliz sıvısıdır. Bütün diyaliz sıvıları biyoyumluluk özelliklerine göre değişen oranlarda peritonda yangıya neden olurlar (43).

Diyaliz solüsyonlarının asit pH, hiperosmolarite, AGEs ve laktat gibi özellikleri yangıya katkıda bulunan faktörlerin bazılarıdır (28, 34, 36). Asidik pH, nötrofil ve mezotel hücrelerin canlılığını azaltmakta ve böylece hem sitokin üretimini hem de fagositoz kapasitesini baskılamaktadır. Sıvıların çoğunda tampon olarak kullanılan laktat periton zarına uyumsuz bir ajan olup periton fibrozisine katkıda bulunan fibroblast büyüme faktörlerinin (FGF) yapımını uyarmaktadır (44). Yüksek glukoz yoğunluklu sıvılara uzun süreli temas periton zarında ciddi bir yangıya neden olmaktadır. Bu sıvılar birçok proinflamatuvar faktörleri (VEGF, TGF-β1, AGEs) uyarmakta ve AGE reseptörlerinin sunumunu arttırmaktadır (45, 46). Ayrıca yüksek

glukoz içerikleri periton fibrozisin gelişmesinde rol oynayan TGF- β 1/Smad yolağını etkinleştirmektedir. Smad2 ve VEGF sunumu arasındaki ilişki ve VEGF'in anjiyogenezdeki rolü yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Anjiyogenez, basit periton fibrozisi ile SEP'in ayırımındaki en karakteristik histolojik bulgudur (47-49). TGF- β ile oluşan fibroproliferasyonun hipoksik ortam oluşturduğu gösterilmiştir. Hipoksi de anjiyogenez, fibrozis ve EMT ile ilişkilendirilmiştir. Hücrel hipoksit yanıtta rol oynayan hipoksi ile tetiklenen faktörler (HIF) direk olarak TGF- β sunumunu ve dolaylı olarak da VEGF sunumunu arttırmaktadır (48).

Isıyla sterilizasyon sırasında oluşan metilglioksal, glioksal ve 3-deoksiglikozon gibi glukoz yıkım ürünleri (GDP) de oksidatif stresi indüklemek yolu ile yangıyı arttırmakta ve mezotel hasarına, apoptoza ve mezotel dökülmesine neden olmaktadır (28,47). SEP gelişmesinde son ve en önemli etken enfeksiyöz peritonitlerdir. Salınan proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18) SEP'in tipik histolojik bulguların gelişmesinde başlıca etkenlerdir. Bu bulgular; fibrin depolanması, mezotel altı kalınlaşma (SMK), fibröz kapsül oluşumu, perivasküler kanama, damarsal çoğalma, mezotel dökülmesi ve miyofibroblastlarda artmadır. İnsan periton mezotel hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda yüksek glukoz maruz kalınmasının kollejenaz sunumunun azalması ve doku matriks metalloproteinaz inhibitörü (TIMP) ekspresyonunun artmasına neden olduğu gösterilmiştir (34, 36, 49).

Günümüzde bütün bu aşamaların engellenmesinde kullanılan ajanlar SEP tedavisinde deneysel ve klinik olarak denenmektedir.

Rapamisin (sirolimus)

PD diyaliz tedavisinin süresi ve PD sonlandırılmasının SEP gelişiminde rol oynayan risk faktörleri olduğu çeşitli yayınlarda bildirilmektedir. Böbrek nakli sonrasında artan SEP sıklığını bildiren çalışmaların karşısında nakil sonrası immünsüpresif tedavi ile regresyon sağlandığını bildiren yayınlar da bulunmaktadır (1, 3, 14, 50-52). Kortikosteroid temelli immünsüpresif tedavilerin SEP morfolojisini geriletmediği ancak bir KNİ olan siklosporinin profibrotik etkisi nedeniyle SEP riskini arttırabileceği bildirilmiştir (53).

Rapamisin (sirolimus) bir aktinomiçes olan *Streptomyces hygroscopicus* 'tan üretilmiş makrolid grubu bir antibiyotiktir. Hücre çoğalması, farklılaşması, göçü ve sağkalımının düzenlenmesinde rol oynayan bir hücre içi serin/tireonin kinazı olan mTOR'u inhibe etmektedir (54). Yapılan çalışmalarda hücre içi kinazı olan fosfatidilinositol 3-kinazın (PI3K) büyüme faktörlerinin sinyalizasyonunda önemli bir

rol oynadığı gösterilmiştir. PI3K, serin tireonin kinazı olan Akt'yi aktive ederek mTORun fosforilasyonunu sağlamaktadır. Aktif mTOR ve PI3K hücre içi birçok yolakla büyüme faktörlerinin sinyalizasyonunu kontrol ederek fibrotik süreçlerin ana belirleyicisi olan fibroblast göçü /çoğalması, artmış protein ve kollajen sentezine neden olmaktadır. Sirolimus ve onun derivesi olan everolimus, hücre içinde sitoplazmik reseptöre (FK506-bağlayıcı protein-12) bağlanırlar ve oluşan kompleks mTOR işlevini engelleyerek G1 fazında hücre siklusunu durdurur. mTOR inhibitörlerinin lenfosit, mezanjiyal hücreler, endotel hücreler ve damar düz kas hücrelerinin çoğalmasını engellemelerinin yanı sıra yangı önleyici, antifibrotik, antitümör ve antifungal etkileri de vardır. Sirolimusun MMP sunumunu azalttığı ve intimal hiperplaziyi engellediği bilinmektedir (54-56).

Böbrek nakli hastalarında birincil idame immünsüpresif tedavide sirolimusun etkinliği ortaya konulmuştur ve hatta uzun dönemde KNI'lerine bağlı gelişen nefrotoksisitenin azaltılması amacıyla daha erken dönemde KNI'lerinden mTOR inhibitörlerine dönülmesi yolunda uygulamalar bildirilmektedir (57). PD tedavisinden böbrek nakli yapılacak olan hastalarda sirolimusun hem uzun dönem graft sağkalımına faydalı etkisi hem de PD sonlandırılması ile artan SEP riskinin giderilmesinde olumlu etkileri düşünülerek tedavi protokollerinde belirleyici olabileceği düşünülmektedir (58). Tek başına mTOR inhibitörlerinin SEP modellerinde ve olgularında etkinliğine dair literatür verileri çelişkilidir (58-60).

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Çalışmanın projesi

Bu projenin uygulanmasına, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi(DEÜTF), İç Hastalıkları AD/Nefroloji BD, Patoloji AD ve Multidisipliner Laboratuvarı ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı AD öğretim üyeleri ve araştırma görevlilerinin katıldığı toplantıda tartışılarak karar verildi.

2. Çalışmanın etik kurulu

Bu çalışma (protokol no: 57/2010) DEÜTF “Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu” tarafından 5/11/2010 tarih ve 02/19/2010 sayılı kararı ile onaylandıktan sonra yapıldı.

3. Kullanılan hayvanların özellikleri ve barınma koşulları

Bu çalışmaya DEÜTF Deneysel Araştırma Laboratuvarlarında standart laboratuvar diyeti ile beslenen ve kafeslerde tutulan, üremik olmayan, çalışma gruplarının homojen olması ve cinsiyet hormonlarından etkilenmemesi için 200-250 gram ağırlığında erkek Wistar albino sıçanları alındı.

Çalışmada kullanılan sıçanlar DEÜTF Multidisipliner Laboratuvarının standart kafesleme koşullarında (24 °C) oda sıcaklığında oniki saatlik karanlık / aydınlık siklusunda), her grup üçlü ve dörtlü kafeslerde tutulacak şekilde standart yemleme ve su ile altı hafta süresince barındırıldı.

4. Sakrifikasyon

Çalışma sonunda hayvanların yaşamlarına son vermek için toksik dozda eter anestezisi kullanıldı.







5. Deney hayvanının araştırmadan çıkarılma kriterleri

Çalışma sırasında sıçanlarda istenilen peritoneal sklerozis dışında bir enfeksiyon ve sistemik tepkime gelişmesi veya başka bir sebepten dolayı çalışmayı sürdüremeyecek olması çıkarılma ölçütü olarak kabul edildi.

6. Deneysel tasarım

Çalışmaya alınan sıçanlar çalışma öncesi tartıldı ve kontrol grubunda altı sıçan (sıçanlardan birinin dişi olması nedeniyle) diğer gruplarda ise yedi sıçan olacak şekilde altı gruba ayrıldı (Şekil 2).

42 Wistar albino sıçanı

 <u>Grup 1 (n:6)</u>	 <u>Grup 2 (n:7)</u>	 <u>Grup 3 (n:7)</u>	 <u>Grup 4 (n:7)</u>	 <u>Grup 5 (n:7)</u>	 <u>Grup 6 (n:7)</u>
Kontrol grubu (K)	Klorheksidin grubu (KG)	Dinlenme (resting) grubu (D)	Kortikosteroid grubu (P)	Sirolimus grubu (Sir)	Kortikosteroid - Sirolimus grubu (P-Sir)
2ml isotonik i.p/gün/3 hafta	Klorheksidin glukonat 2 ml/200gr i.p/gün/3 hafta	KG i.p (0-3 hafta) + periton dinlendirme (4-6 hafta)	KG/gün i.p (0-3 hafta) + Prednisolone 0.1 mg/kg/gün 10 mg/L içme suyunda	KG i.p (0-3 hafta) + Sirolimus 1mg /kg/gün (4-6 hafta)	KG i.p (0-3 hafta) + Prednisolone 0.1 mg/kg/gün (4-6 hafta) + Sirolimus 1mg/kg/gün (4-6 hafta)

Şekil 2. Deneysel tasarım

Çalışma süresi kontrol (K) ve klorheksidin grubu (KG) için yirmibir gün (üç hafta), diğer gruplarda kırkiki gün (altı hafta) olarak belirlendi.

SEP Modeli ve Gruplar : Periton fibrosiz oluşturmak için standart klorheksidin glukonat modeli (60-61) kullanıldı. Üç hafta süreyle günlük intraperitoneal olarak isotonik sıvıda çözülmüş % 0.1 klorheksidin glukonat (KG) ve % 15 etanol solüsyonundan 10 ml/kg uygulandı.

Kontrol grubu (K) : Periton içine %0.9'luk serum fizyolojik 2ml/gün 21 gün boyunca uygulandı. 21.gün sıçanların yaşamı sonlandırıldı.

Klorheksidin grubu (KG) : Periton içine KG 2ml/gün 21 gün boyunca verildi ve 21. gün sonunda sıçanların yaşamı sonlandırıldı.

Dinlenme grubu (D) : Periton içine KG 2ml/gün 21 gün verildi ve 42. güne kadar periton dinlendirildi.

Kortikosteroid grubu (P) : Periton içine KG 2ml/gün 21 gün boyunca, sonrasında üç hafta içme suyunda hazırlanan prednizolon 0.1 mg/kg (10 mg/L) ağızdan kanül ile verildi.

Kortikosteroid -Sirolimus grubu (P-Sir) : Periton içine KG 2ml/gün 21 gün boyunca , izleyen 3 hafta boyunca ağızdan kanülle içme suyunda hazırlanmış prednizolon ve sirolimus oral solüsyon [(1mg/kg/gün), Rapamune oral solution 1mg/mL, Wyeth Europa Ltd] verildi.

Sirolimus grubu grubu (Sir) : Periton içine KG 2ml/gün 21 gün boyunca, izleyen 3 hafta boyunca ağızdan kanülle sirolimus oral solüsyon (1mg/kg/gün) verildi.

Çalışma sonunda sıçanlar tartıldı ve yaşamlarına son verildikten sonra pariyetal periton örnekleri karın sol ön duvarından, viseral periton örnekleri ise karaciğer sol lobdan alındı. Örnekler patolojik değerlendirme için %10 formaldehit içine konuldu. Ölü sıçanlar özel torbalara konularak diğer atık maddelerle birlikte özel atık tankına atıldı.

7. Histolojik değerlendirme:

Pariyetal periton için karın ön duvarından ve viseral periton içinde karaciğer yüzeyinden elde edilen ve formaldehit ile tespit edilen doku örneklerinden; karın duvarından ve karaciğer kapsülünden dikey 3mm'lik kesitler alındı (60). Alınan kesitler parafine gömüldü ve Hemotoksilen&Eosin (HE) ve Mason Trichrome (MT) ile boyandı. Hazırlanan preparatlar damar çoğalması (anti-CD4 boyama ile) , fibrozis ve periton kalınlığı açısından ışık mikroskopisi altında incelendi.

Işık mikroskopik inceleme:

a. Periton kalınlıklarının ölçümü; HE boyalı kesitlerden elde edilen mikroskopik görüntüler bir kamera (Olympus BX50, Olympus Optical Co, Tokyo, Japon) ile bilgisayara aktarıldı. Bilgisayar yazılımı yardımı ile kullanılan büyütmeye göre kalibre edilerek 10 alanda viseral ve pariyetal periton ortalama kalınlıkları (mezotel, mezotel altı alan (SMK) ve iç abdominal kas tabakasını içeren görüntülerden) mikron metre (μm) cinsinden ölçüldü. (62-63)

b. Fibrozis; MT boyalı kesitlerden elde edilen görüntüler de bilgisayara aktarıldı. Görüntülerde patolog tarafından seçilen renklerin izlendiği alanları otomatik olarak işaretleyen bilgisayar programı kullanılarak ölçüm yapıldı (62). MT boyasında kollajen yeşil renkte boyandığı için bu renk alanları seçildi ve her olgu için boyalı alan yüzdesi (BAY) saptandı.

c. Vasküler yoğunluk (63) ; Her örnekte bilgisayara aktarılan görüntülerden morfometrik olarak SMK alanı (mm^2) ve periton yüzey uzunluğu (mm) hesaplandı. SMK 0.3 mm^2 den fazla olan bölgeler değerlendirildi ve kesitlerdeki toplam damar sayısı sayıldı ve bulunan sayı SMK alanı ve mezotel yüzey uzunluğuna bölünerek birim hacimdeki sayı hesaplandı.

8. İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS version 15.0 programı ile yapıldı. Gruplardaki sıçan sayısı sınırlı olduğu için parametrik olmayan yöntemler kullanıldı. Deęerler aritmetik ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi. Gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı Kruskal-Wallis varyans analizi ile, ikili karşılaştırmalar Mann Whitney U analizi ile yapıldı. Sıçanların çalışma başlangıcı ve sonundaki ağırlıklarının ortalamaları Wilcoxon işaret testi ile karşılaştırılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

a-Çalışma gruplarının değerlendirilmesi.

Çalışmaya alınan sıçanların tamamı çalışmayı bitirdi. Sıçanların yaşamlarının sonlandırılması görüntüsü Resim 1'de gösterilmiştir. Grupların çalışmanın başlangıcındaki ve sonundaki ağırlık ortalamalarının karşılaştırmaları Tablo 1'de verilmiştir. K ve Sir gruplarının ağırlıklarında anlamlı değişiklik olmazken, KG ve D gruplarında başlangıca göre anlamlı kilo kaybı, P ve P-Sir gruplarında ise anlamlı kilo artışı saptandı ($p<0,05$).

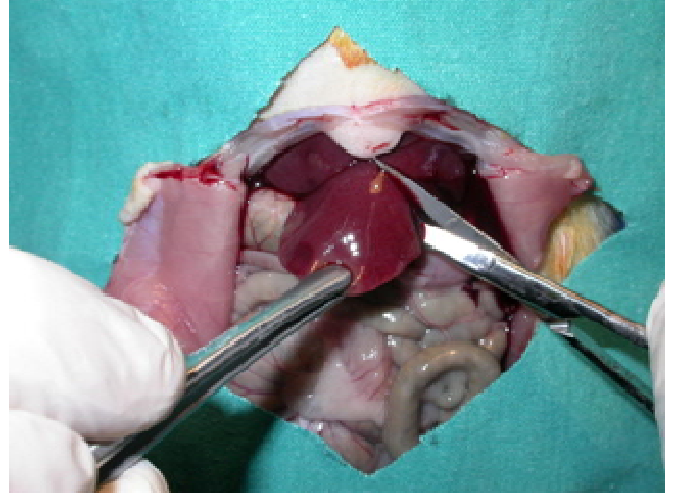
Gruplar	K	KG	D	P	Sir	P-Sir
Başlangıç ağırlığı (g)	243,33±9,5	245,21±8,1	245,85±5,2	244,85±9,5	244,42±6,1	246,85±9,1
Son ağırlığı (g)	243,83±12,2	242,28,±8,3	239,57±4,8	265,85±26	246,10±23	262,57±14
p-değeri	$p >0.05$	$p <0.05$	$p <0.05$	$p <0.05$	$p >0.05$	$p <0,05$

Tablo-1: Grupların çalışmanın başlangıcında ve sonundaki ağırlık değerleri (ortalama ± SD)

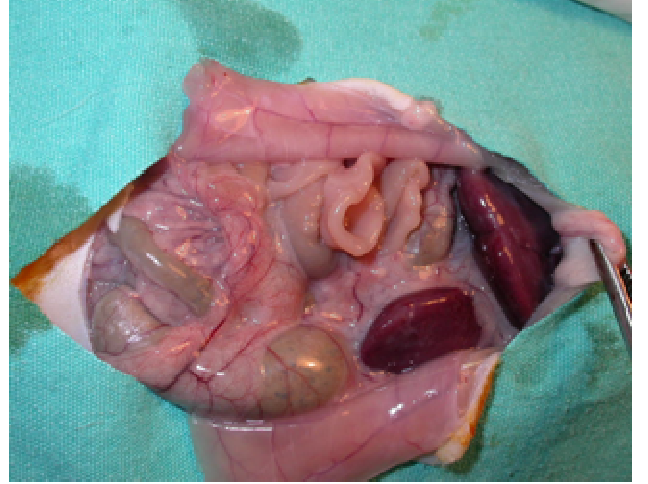
Resim 2'de kontrol grubunda makroskopik olarak normal karın duvarı, karaciğer ve periton görüntüsü gösterilmiştir. KG ve D grubundaki sıçanların tamamında makroskopik olarak pariyetal periton ve karaciğer üzerinde viseral peritonda kalınlaşma ve karın içinde yapışıklıklar olduğu gözlemlendi (Resim 3).



Resim 1 . Eter anestezi ile sıçanların sakrifikasyonu



Resim 2 . Kontrol grubunda normal paryetal ve viseral periton görüntüleri

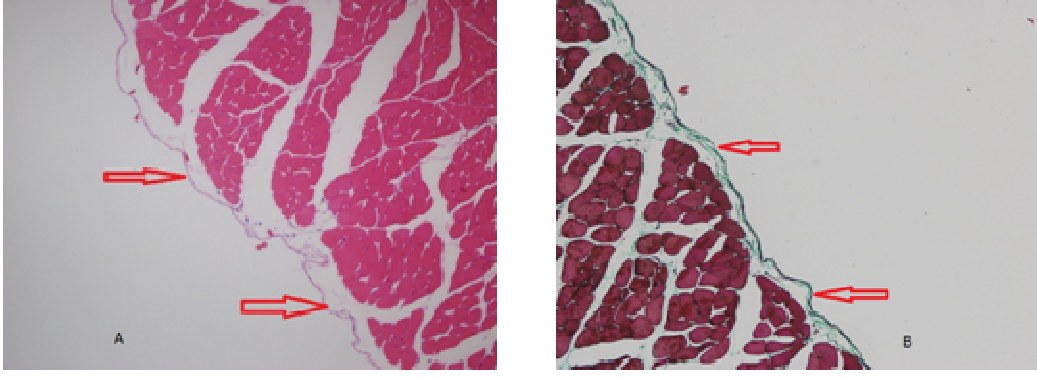


Resim 3. KG (sol) ve D (sağ) gruplarındaki sıçanlarda paryetal ve karaciğer viseral periton kalınlaşması görüntüleri.

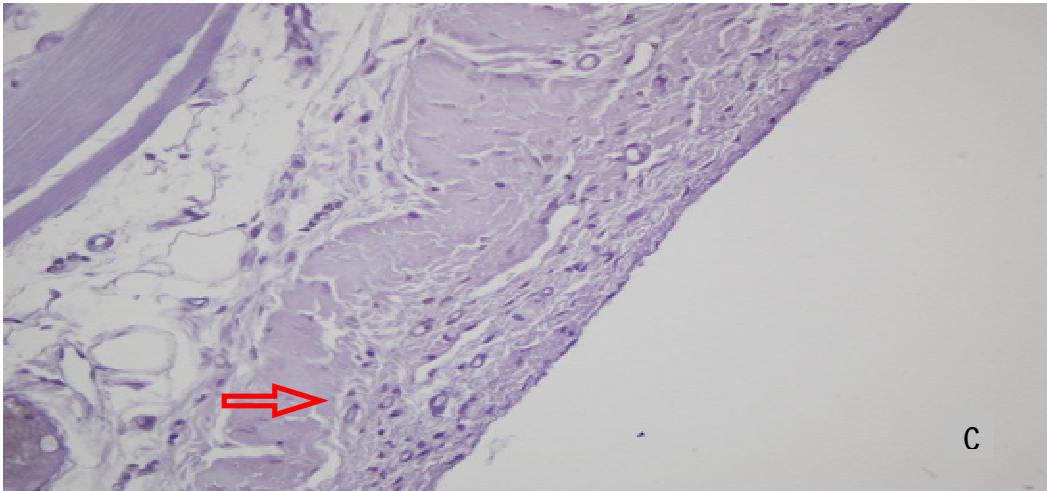
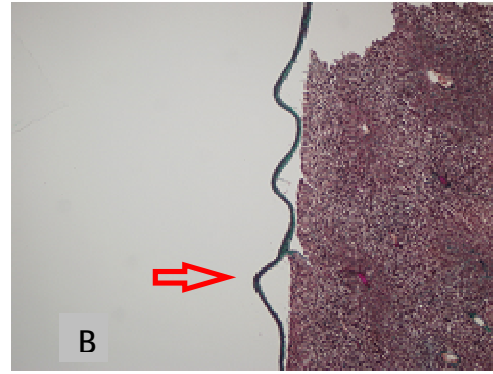
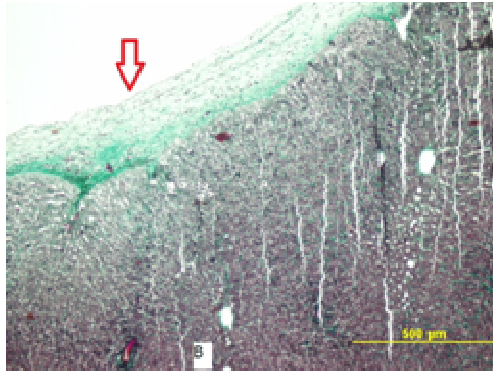
b.Histopatolojik değerlendirme

1.Pariyetal ve viseral periton sonuçları

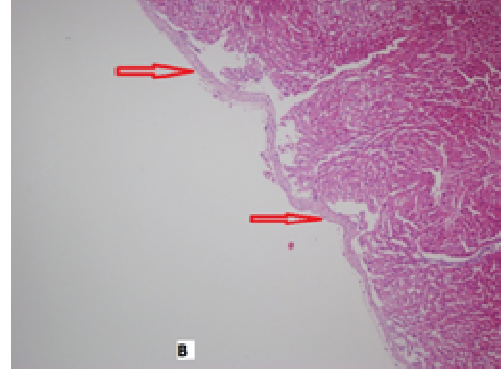
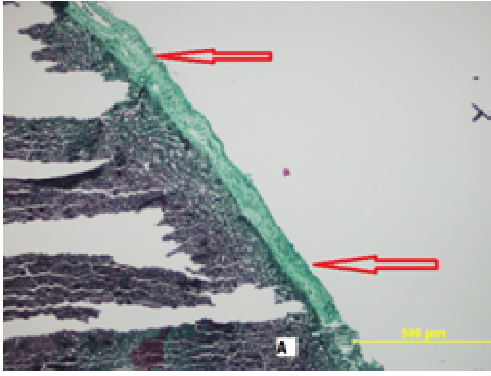
Resim 4-9'da grupların histolojik olarak periton kalınlıkları ve fibrozis bulguları gösterilmektedir.



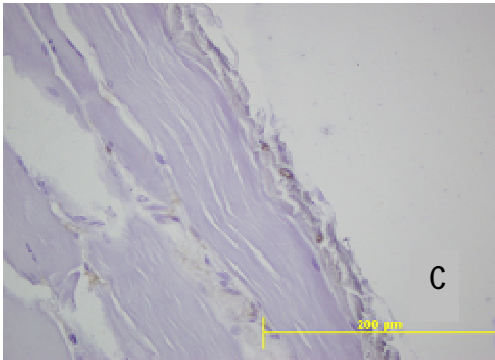
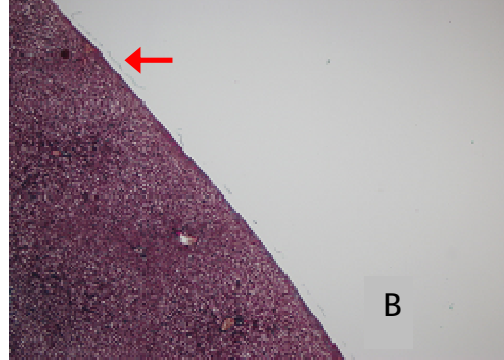
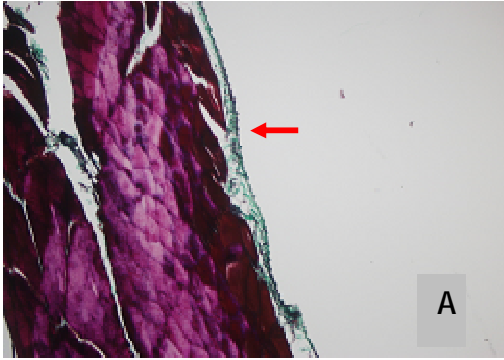
Resim 4. A. K grubunda HE ile normal periton kalınlığı, B. MT ile pariyetal peritonun normal görüntüsü görülmektedir.



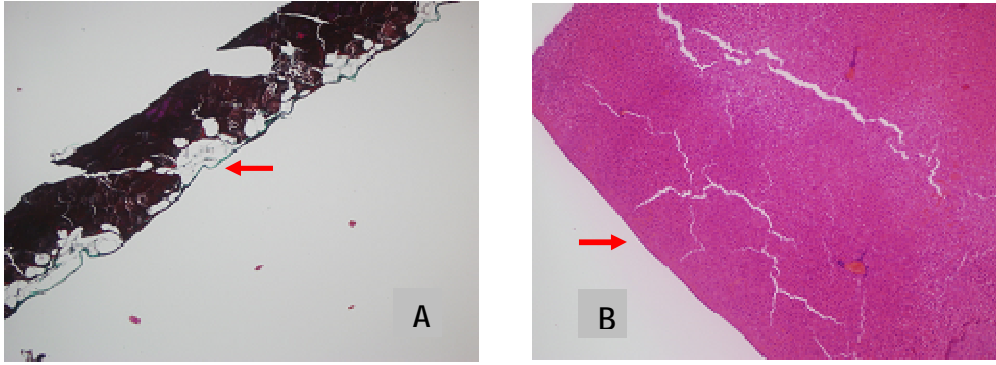
Resim 5. A. KG grubuna ait MT ile pariyetal periton fibrozis artışı (yeşil alanlar) B. Visceral peritonda kalınlık artışı görülmektedir (MT) C. Pariyetal peritonda damarlanma artışı (CD34)



Resim 6. A. D grubunda fibrozis artışı (MT) B. HE ile viseral peritonda kalınlık artışı görülmektedir.



Resim 7 . A. Sir grubunda pariyetal periton kalınlığı (MT) B. Sir grubunda karaciğer üzeri viseral periton kalınlığında azalma (MT) C. Sir grubunda pariyetal peritonda damarlanma artışı yok (CD34)



Resim 8. A. P-Sir grubu pariyetal periton kalınlığı (MT) B. Karaciğer üzeri viseral periton kalınlığı (HE)

Çalışma sonucunda grupların pariyetal ve viseral peritonlara ait periton kalınlıkları, fibrotik alan yüzdelerinin ortalama değerleri ve damar yoğunlukları Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Pariyetal periton bulguları

Tablo 2 'de görüldüğü gibi periton kalınlığı kontrol grubu ile kıyaslandığında KG grubunda anlamlı olarak artmış saptandı ($58,71 \pm 37,73 \mu\text{m}$ ve $6,33 \pm 0,51 \mu\text{m}$, $p < 0,05$). Fibrozis yüzdesi ve damar yoğunlukları model grubunda (KG) kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış gözlemlendi (sırasıyla $4,31 \pm 1,67$ ve $0,51 \pm 0,27$; $7,00 \pm 5,06$ ve $1,16 \pm 0,40$, tüm parametrelerde $p < 0,05^a$).

Üç haftalık periton dinlenmesi sonrasında alınan örneklerde (D grubu) periton dinlenmesinin SEP modelinin histolojik bulgularını (KG grubu) geriletmediği gözlemlendi [periton kalınlığı (μm) $57,00 \pm 31,44$ ve $58,71 \pm 37,73$; fibrozis yüzdesi $3,34 \pm 1,24$ ve $4,31 \pm 1,67$; damar yoğunluğu $5,57 \pm 3,69$ ve $7,00 \pm 5,06$, tüm parametrelerde $p > 0,05^i$). K grubu ile kıyaslandığında tüm parametreler anlamlı olarak artmış saptandı [periton kalınlığı (μm) $57,00 \pm 31,44$ ve $6,33 \pm 0,51$; fibrozis yüzdesi $3,34 \pm 1,24$ ve $0,51 \pm 0,27$; damar yoğunluğu $5,57 \pm 3,69$ ve $1,16 \pm 0,40$, tüm parametrelerde $p < 0,05^b$).

Tedavi gruplarında (P, Sir, P-Sir) periton kalınlıkları, fibrozis yüzdeleri ve damar yoğunlukları, KG ve D grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalmıştı ($p < 0,05^{f,g,h}$ ve j,k,l). K grubu ile histolojik bulgular açısından bir fark saptanmadı

($p > 0.05^{c,d,e}$). Bu bulgular her bir tedavi girişiminin SEP örneğinde histolojik bulguları geriletmede etkin olduğunu gösterdi.

Tedavi gruplarının tüm parametrelerde sağladıkları düzelme açısından kendi aralarında yapılan karşılaştırmalarda ise anlamlı bir fark saptanmadı (**periton kalınlıkları** ; P ve Sir: $7,71 \pm 4,99 - 6,14 \pm 0,37 \mu\text{m}$, P ve P-Sir: $7,71 \pm 4,99 - 6,00 \pm 0,00 \mu\text{m}$, Sir ve P-Sir: $6,14 \pm 0,37 - 6,00 \pm 0,00 \mu\text{m}$, **fibrozis yüzdeleri** ; P ve Sir: $0,61 \pm 0,31 - 0,55 \pm 0,63$, P ve P-Sir: $0,61 \pm 0,31 - 0,28 \pm 0,19$, Sir ve P-Sir : $0,55 \pm 0,63 - 0,28 \pm 0,19$, **damar yoğunlukları** (s/mm^3) ; P ve Sir : $1,85 \pm 1,86 - 1,42 \pm 1,98$, P ve P-Sir : $1,85 \pm 1,86 - 0,28 \pm 0,48$, Sir ve P-Sir : $1,42 \pm 1,98 - 0,37 \pm 0,51$, tüm grupların ikili kıyaslamalarında $p > 0.05^{m,n,o}$).

Gruplar	Kalınlık (μm)	Fibrozis skorlaması (%)	Damar yoğunluğu (sayı/mm^3)	P değeri*
K	$6,33 \pm 0,51$	$0,51 \pm 0,27$	$1,16 \pm 0,40$	$p < 0.05^{a,b}$ $p > 0.05^{c,d,e}$
KG	$58,71 \pm 37,73$	$4,31 \pm 1,67$	$7,00 \pm 5,06$	$p < 0.05^{f,g,h}$ $p > 0.05^i$
D	$57,00 \pm 31,44$	$3,34 \pm 1,24$	$5,57 \pm 3,69$	$p < 0.05^{j,k,l}$
P	$7,71 \pm 4,99$	$0,61 \pm 0,31$	$1,85 \pm 1,86$	$p > 0.05^{m,n,o}$
Sir	$6,14 \pm 0,37$	$0,55 \pm 0,63$	$1,42 \pm 1,98$	
P-Sir	$6,00 \pm 0,00$	$0,28 \pm 0,19$	$0,37 \pm 0,51$	

Tablo 2 . Pariyetal periton kalınlık, fibrozis ve damar yoğunlukları (ortalama \pm SD)

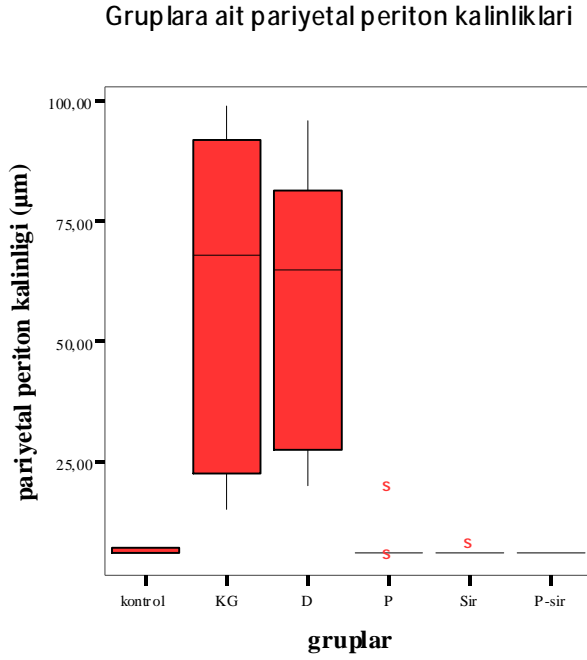
*a,b: K-KG, K-D arasında, c,d,e: K-P, K-Sir, K-P-Sir arasında

f,g,h: KG-P, KG-Sir, KG-P-Sir arasında, i: KG -D arasında

j,k,l: D-P, D-Sir, D-P-Sir arasında

m,n,o: P-Sir, P-P-Sir, Sir-P-Sir arasında

Grafik 1 de gruplara ait pariyetal periton kalınlıkları verilmiştir.



Grafik 1. Grupların pariyetal periton kalınlıkları

Viseral periton bulguları

Tablo 3'de görülebileceği gibi viseral deneysel SEP geliştirdiğimiz örnek grubumuzda (KG) periton kalınlığı, fibrozis skoru ve damar yoğunlukları K grubuna göre anlamlı olarak artmış bulundu [**periton kalınlığı** (KG-K) : $54,71 \pm 36,68 - 7,00 \pm 0,89$ µm, **fibrozis** (KG-K, %): $3,08 \pm 1,63 - 0,43 \pm 0,17$, **damar yoğunluğu** (KG-K, sayı/mm³) : $6,28 \pm 2,98 - 0,00 \pm 0,10$, tüm parametrelerde $p < 0.05^a$).

D grubunda periton kalınlıkları, fibrozis yüzdesi ve damar yoğunlukları K grubuna göre anlamlı olarak artmıştı ($p < 0.05^b$). Dinlenme grubu (D) ile KG arasında yapılan karşılaştırmalarda pariyetal periton bulgularına benzer şekilde anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05^i$). Periton dinlendirilmesinin üç hafta sonunda viseral peritonda gelişen histolojik SEP bulgularını geriletmediği sonucuna varıldı.

Tedavi gruplarında (P, Sir ve P-Sir) tüm parametrelerdeki gerilemeler K grubuna benzer düzeyde saptandı [**periton kalınlığı** (µm) ; P-K : $8,57 \pm 2,37 - 7,00 \pm 0,89$, Sir-K : $6,57 \pm 0,78 - 7,00 \pm 0,89$, P-Sir ve K : $7,57 \pm 2,29 - 7,00 \pm 0,89$, **fibrozis**; P-K : $0,44 \pm 0,33 - 0,43 \pm 0,17$, Sir-K : $0,81 \pm 0,77 - 0,43 \pm 0,17$, P-Sir ve K : $0,68 \pm 0,37 - 0,43 \pm 0,17$, **damar yoğunluğu** (sayı/mm³); P-K : $2,28 \pm 1,97 - 0,00 \pm 0,10$, Sir-K : $2,14 \pm 2,73 - 0,00 \pm 0,10$, P-

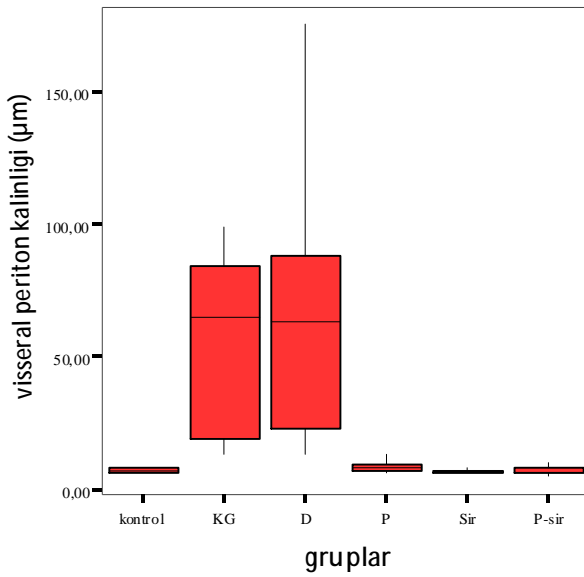
Sir ve K : $2,97 \pm 3,38 - 0,00 \pm 0,10$, tüm parametrelerde $p > 0,05^{c,d,e}$. KG ve D gruplarına göre histolojik bulgularda tüm tedavi gruplarında anlamlı azalma saptandı ($p < 0,05^{f,g,h}$ ve j,k,l).

Tedavi gruplarının viseral peritonda histolojik bulguları geriletmede birbirlerine göre anlamlı bir farklılığı gösterilememiştir (**periton kalınlıkları** ; P ve Sir: $8,57 \pm 2,37 - 6,57 \pm 0,78$ μm , P ve P-Sir : $8,57 \pm 2,37 - 7,57 \pm 2,29$ μm , Sir ve P-Sir: $6,57 \pm 0,78 - 7,57 \pm 2,29$ μm , **fibrozis yüzdeleri** ; P ve Sir: $0,44 \pm 0,33 - 0,81 \pm 0,77$, P ve P-Sir: $0,44 \pm 0,33 - 0,68 \pm 0,37$, Sir ve P-Sir : $0,81 \pm 0,77 - 0,68 \pm 0,37$, **damar yoğunlukları** (s/mm^3) ; P ve Sir : $2,28 \pm 1,97 - 2,14 \pm 2,73$, P ve P-Sir : $2,28 \pm 1,97 - 2,97 \pm 3,38$, Sir ve P-Sir : $2,14 \pm 2,73 - 2,97 \pm 3,38$, tüm grupların ikili kıyaslamalarında $p > 0,05^{m,n,o}$).

Tedavi verilen gruplarda pariyetal ve viseral periton kalınlıkları, fibrozis skorları ve vasküler yoğunlukların azalması istatistiksel olarak farklı saptanmadı ($p > 0,05$).

Grafik 2 de grupların viseral periton kalınlıkları gösterilmiştir.

Gruplara ait visseral periton kalınlıkları



Grafik 2. Grupların visseral periton kalınlıkları.

Gruplar	Kalınlık (µm)	Fibrozis skorlaması (%)	Damar yoğunluğu (sayı/mm ³)	p değeri
K	7,00±0,89	0,43±0,17	0,00±0,10	p<0.05 ^{a,b} p>0.05 ^{c,d,e}
KG	54,71±36,68	3,08±1,63	6,28±2,98	p<0.05 ^{f,g,h} p>0.05 ⁱ
D	67,00±57,00	2,95±2,09	6,14±13,80	p<0.05 ^{j,k,l}
P	8,57±2,37	0,44±0,33	2,28±1,97	p>0.05 ^{m,n,o}
Sir	6,57±0,78	0,81±0,77	2,14±2,73	
P-Sir	7,57±2,29	0,68±0,37	2,97±3,38	

Tablo 3. Viseral periton kalınlık, fibrozis ve damar yoğunlukları (ortalama ± SD)

*a,b: K-KG, K-D arasında, c,d,e: K-P, K-Sir, K- P-Sir arasında

f,g,h: KG-P, KG-Sir, KG-P-Sir arasında, i: KG -D arasında

j,k,l: D-P, D-Sir, D-P-Sir arasında

m,n,o: P-Sir, P-P-Sir, Sir-P-Sir arasında

TARTIŞMA

PD tüm dünyada 100.000'in üzerinde SDBY hastasında ve tüm diyaliz hastalarının da yaklaşık %10-15'inde kullanılan bir böbrek yerine koyma tedavisidir. Uzun dönemde PD tedavisinin başarısını kısıtlayan majör faktörler infeksiyonlar ve diyaliz solüsyonlarına maruz kalan periton zarında gelişen yapısal ve işlevsel değişikliklerdir. PD hastalarının yaklaşık %50'sinde gözlenen bu değişiklikler; periton zarında kalınlaşma ve progresif fibrozis, anjiyogenez, artmış solüt taşınması ve UF kaybı ile ilişkili damar yapısı bozukluklarıdır. PD olgularının nadir bir kısmında ise nedeni tam olarak tanımlanamamış, özellikle viseral peritonda katastrofik fibrojenik yanıtla karakterize SEP gelişmektedir (8,26).

SEP, periton zarının fibrotik kalınlaşması ve barsak anslarını koza gibi sararak tıkanıklara yol açmasına neden olan patolojik bir durumdur. En geniş serilerin bildirildiği Japonya'da insidans oranları 5 yılda %2.1, 8 yılda % 5.8 ve mortalite oranı % 30'un üzerindedir (3). Yüksek mortalite riski taşıyan bu durumun tedavisi hala net olarak bilinmemektedir.

Periton zarının maruz kaldığı hasarlanmalar ve açığa çıkan büyüme faktörleri, mezotel hücrelerinin fibroblastlara dönüşümüne (EMT) neden olmaktadır. SEP gelişmesinde sorumlu tutulan ana mekanizma olan EMT, anjiyogenetik stimülasyon ve solüt transportunda değişikliklerle birlikte. Bu nedenle EMTnin engellenmesine yönelik tedaviler periton fibrozisi ve anjiyogenezini de azaltarak periton zarını koruyacaktır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda EMT biyogöstergeleri tanımlanmıştır. Bunlar; epitel hücrelerinin birbirine yanaşık durmasını sağlayan adezyon proteini (E-cadherin) kaybı ve mezenkimal belirteçlerin (fibroblast spesifik protein-1 gibi) artmasıdır (6,38). Mezotel hücre kültürlerinde yapılan EMT çalışmalarında peritoneal EMTde mTOR'un rol oynadığı ve bir mTOR inhibitörü olan sirolimusun E-cadherin sunumunu artırarak hasarı azalttığı gösterilmiştir (11). mTOR; mitogenezin inhibisyonu, TGF- β 1 ekspresyonu, PI3 K aktivasyonu ve MMP-2 aşırı sunumunun uyarılması gibi hücre yolakları ile fibrojenizde önemli rol oynamaktadır (55, 56). Bu yolların mTOR inhibitörleri ile engellenmesi teorik olarak EMT ve sonuçta SEP gelişmesini önleyebilecektir.

Literatürde deneysel olarak SEP oluşturulmuş sıçanlarda kolşisin, renin-anjiyotensin sistem inhibitörleri, talidomid, N-asetil sistein, rosiglitazonun ve

steroidlerin tek tek kullanımlarının etkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır (48,52,53). Ancak mTOR inhibitörlerinin SEP oluşturulmuş sıçanlarda etkinliğini gösteren çalışma sayısı oldukça azdır (56,60). Steroid-sirolimus birlikte kullanımının etkisini araştıran ilk çalışma ise bizim çalışmamızdır.

Çalışmamızda deneysel SEP örneğinde periton kalınlığı, fibrozis skoru ve damar sayısının sirolimus-steroid birlikteliği ile dinlenme grubuna göre anlamlı olarak azaldığını gösterdik ($p<0.05$). Pariyetal ve viseral periton SMK kalınlığında, fibroziste ve damar yoğunluğunda gözlenen azalmalar tek başına steroid ve sirolimus gruplarına göre ise anlamlı bir farklılık göstermedi ($p>0.05$). Pariyetal periton damar sayısında azalma Sir ve P-Sir grupları arasında P-Sir grubu lehine daha belirgin bulunmasına rağmen (sırasıyla $1,42\pm 1,98$ ve $0,37\pm 0,51$, $p>0.05$) fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sıçan sayısının daha fazla olduğu çalışmalarla bulguların daha iyi değerlendirileceği görüşündeyiz. Çalışmamızda sirolimus ve prednizolonun tek başlarına kullanılmalarının da SEP bulgularının geriletmesinde etkin olduğunu göstermiş olmamız, birlikte kullanımında gözlenen etkinin tek başına bir ajanın etkisi olduğu yönünde yorumlanmasını da güçleştirmektedir.

Bozkurt ve ark (53), deneysel SEP modelinde farklı immünsüpresif ajanların etkinliklerini karşılaştırdıkları benzer çalışmalarında tek başına steroidlerin dinlenme grubuna kıyasla periton kalınlığını ve fibrozis skorunu anlamlı oranda geriletmediğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada tek başına azatiyopurin etkinliği gösterilememiştir. Ancak literatürde azatiyopurin ve steroid birlikte kullanımının SEP tedavisinde etkinliğini gösteren sınırlı sayıda olgu sunulmuştur (64).

Kortikosteroidlerin periton zarında AQP1 ekspresyonunu artırma ve yangı ile açığa çıkan sitokinlerin sunumunu azaltma yolu ile PD hastalarında UFY tedavisinde kullanılabilecekleri ileri sürülmektedir (65). Bu nedenle teorik olarak steroid ve bir mTOR inhibitörünün birlikte kullanımının periton sklerozunda UFYnin azaltılmasına olumlu bir katkı sağlayabileceğini düşünebiliriz ancak çalışmamızda fibrotik sürecin geriletmesinde bu birlikteliğin katkısız (aditif) bir etkisi gösterilememiştir.

Çalışmamızda tek başına steroid ve sirolimusun etkinliği literatürle uyumlu olarak gösterilmiştir. Gruplarımızda ortalama pariyetal ve viseral periton kalınlıkları , fibrozis yüzdeleri ve damar yoğunlukları dinlenme grubuna oranla anlamlı olarak azalmış bulundu ($p<0.05$). Duman ve ark.nın diğer bir mTOR engelleyici olan

everolimus ile yaptıkları çalışmada da periton kalınlıkları ve damar sayılarının dinlenme grubuna göre everolimus grubunda anlamlı olarak azaldığı (sırasıyla 129 ± 11 μm ve 225 ± 21 μm , 6.14 ± 1.6 ve 20.4 ± 4.2 damar , her iki parametre için $p<0.05$) gösterilmiştir. Çalışmalarında dinlenme gruplarındaki morfolojik değişikliklerin gerilememesi hatta artmaya devam etmesi yazarlar tarafından peritonun bu dönemde hala aktif olduğu şeklinde yorumlanmıştır (60) . Bizim çalışmamızda da periton dinlenme grubundaki bulgular KG grubu ile fark göstermemiştir. Bu verilerle periton dinlenmesinin SEpte yararı olmadığı ve muhtemelen daha uzun dinlenme sürelerine gereksinim olabileceği sonucunu desteklemekteyiz.

Yakın zamanlı Ceri ve ark. tarafından yapılan çalışmada da sirolimusun deneysel periton sklerozunda etkinliği gösterilmiştir (56). Periton kalınlığı ve fibrozis skorlarında dinlenme grubu ile karşılaştırıldığında sirolimus grubunda anlamlı azalma sağlanmıştır (periton kalınlıkları 207 ± 37.3 ve 345 ± 101.2 , fibrozis skorları 0.63 ± 0.74 ve 1.57 ± 0.78 , $p<0.05$). Sirolimusun bu etkisinin mTOR inhibitörlerinin farklı yolları (PI3 aktivasyonu, TGF- β sunumu, mitogenez, hücrel çoğalma) engellemesi sonucunda gerçekleştiği düşünülmektedir. Ayrıca Waller ve ark. çalışmalarında sirolimus tedavisinin balon anjiyoplasti sonrasında MMP-2 ve MMP-9 düzeylerini azalttığını ve intimal hiperplaziyi engellediğini göstermişlerdir (66). Bu sonuçlar sirolimusun antifibrotik etkinliğini kanıtlamaktadır.

Sonuç olarak çalışmamız mTOR inhibitörlerinin deneysel SEP örneklerinde etkinliğinin gösterildiği nadir çalışmalardan biridir ve ayrıca steroid ile birlikte kullanımının uygulandığı ilk çalışmadır. Çalışma sonucunda deneysel olarak SEP oluşturulmuş sıçanlarda sirolimus-prednizolon birlikte kullanımının histopatolojik bulguları geriletmede tek başına sirolimus ve prednizolon tedavilerine bir üstünlüğü olmadığı gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Kawaguchi Y, Saito A, Kawanishi H, Nakayama M, Miyazaki M, et al. Recommendations on the management of encapsulating peritoneal sclerosis in Japan, 2005: diagnosis, predictive markers, treatment, and preventive measures. *Perit Dial Int.* 2005 ;25 Suppl 4:S83-95.
2. Shimaoka T, Hamada C, Kaneko K, Io H, Sekiguchi Y, et al. Quantitative evaluation and assessment of peritoneal morphologic changes in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2010 ;25(10):3379-85.
3. Brown EA, Van Biesen W, Finkelstein FO, Hurst H, Johnson DW, et al. Length of time on peritoneal dialysis and encapsulating peritoneal sclerosis: position paper for ISPD. *Perit Dial Int.* 2009;29(6):595-600.
4. Aguilera A, Yáñez-Mo M, Selgas R, Sánchez-Madrid F, López-Cabrera M. Epithelial to mesenchymal transition as a triggering factor of peritoneal membrane fibrosis and angiogenesis in peritoneal dialysis patients. *Curr Opin Investig Drugs.* 2005;6(3):262-8.
5. Krediet RT. 30 years of peritoneal dialysis development: the past and the future. *Perit Dial Int* 2007;27 (Suppl 2):S35–S41.
6. Guarino M, Tosoni A, Nebuloni M Direct contribution of epithelium to organ fibrosis: epithelial-mesenchymal transition. *Hum Pathol.* 2009 ;40(10):1365-76.
7. Yáñez-Mó M, Lara-Pezzi E, Selgas R, Ramírez-Huesca M, Domínguez-Jiménez C, et al. Peritoneal dialysis and epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells. *N Engl J Med.* 2003 Jan 30;348(5):403-13.
8. Margetts PJ, Bonniaud P, Liu L, Hoff CM, Holmes CJ, et al . Transient overexpression of TGF- β 1 induces epithelial mesenchymal transition in the rodent peritoneum. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(2):425-36.
9. Higgins DF, Kimura K, Bernhardt WM, Shrimanker N, Akai Y, et al. Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2007;117(12):3810-20.
10. Aroeira LS, Aguilera A, Selgas R, Ramírez-Huesca M, Pérez-Lozano ML, et al. Mesenchymal conversion of mesothelial cells as a mechanism responsible for high solute transport rate in peritoneal dialysis: role of vascular endothelial growth factor. *Am J Kidney Dis.* 2005;46(5):938-48.

11. Aguilera A, Aroeira LS, Ramirez-Huesca M, Perez-Lozano ML, Cirugeda A, et al. Effects of rapamycin on the epithelial-to-mesenchymal transition of human peritoneal mesothelial cells. *Int J Artif Organs*. 2005;28(2):164-9.
12. Hudson CC, Liu M, Chiang GG, Otterness DM, Loomis DC, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha expression and function by the mammalian target of rapamycin. *Mol Cell Biol*. 2002;22(20):7004-14.
13. Yoshizaki A, Yanaba K, Yoshizaki A, Iwata Y, Komura K, et al. Treatment with rapamycin prevents fibrosis in tight-skin and bleomycin-induced mouse models of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2010;62(8):2476-87.
14. Machado DJ, Cocuzza CS, Nahas WC, Ianhez LE. Sclerosing encapsulating peritonitis after renal transplantation. Does it make sense? *Perit Dial Int*. 2000 ;20(3):341-3.
15. Fieren MW, Betjes MG, Korte MR, Boer WH. Posttransplant encapsulating peritoneal sclerosis: a worrying new trend? *Perit Dial Int*. 2007;27(6):619-24.
16. Oreopoulos DG, Ossareh S, Thodis E. Peritoneal dialysis: past, present, and future. *Iran J Kidney Dis*. 2008;2(4):171-82.
17. Rubin HR, Fink NE, Plantinga LC, Sadler JH, Kliger AS, et al. Patient ratings of dialysis care with peritoneal dialysis vs hemodialysis. *JAMA*. 2004;291(6):697-703.
18. Pawlaczyk K, Kuzlan M, Wieczorowska-Tobis K, Pawlik-Juzków H, Breborowicz A, et al. Species-dependent topography of the peritoneum. *Adv Perit Dial*. 1996;12:3-6.
19. Rubin J, Clawson M, Planch A, Jones Q. Measurements of peritoneal surface area in man and rat. *Am J Med Sci*. 1988;295(5):453-8.
20. Gokal R, Khanna R, Krediet R et al. Textbook of peritoneal dialysis. Second edition. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000.
21. Rippe B, Venturoli D, Simonsen O, de Arteaga J. Fluid and electrolyte transport across the peritoneal membrane during CAPD according to the three-pore model. *Perit Dial Int*. 2004;24(1):10-27.
22. Teitelbaum I, Burkart J. Peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 2003;42:1082–96.
23. Brunkhorst RR. Individualized PD prescription: APD versus CAPD. *Perit Dial Int*. 2005;25(Suppl 3):S92-S94.

24. Rippe B, Rosengren BI, Carlsson O, Venturoli D. Transendothelial transport: the vesicle controversy. *J Vasc Res.* 2002 ;39(5):375-90.
25. Pannekeet MM, Mulder JB, Weening JJ, Struijk DG, Zweers MM, et al. Demonstration of aquaporin-CHIP in peritoneal tissue of uremic and CAPD patients. *Perit Dial Int.* 1996;16 Suppl 1:S54-7.
26. Devuyst O, Margetts PJ, Topley N. The pathophysiology of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(7):1077-85.
27. Devuyst O, Yool AJ. Aquaporin-1: new developments and perspectives for peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2010;30(2):135-41.
28. Baroni G, Schuinski A, de Moraes TP, Meyer F, Pecoits-Filho R. Inflammation and the peritoneal membrane: causes and impact on structure and function during peritoneal dialysis. *Mediators Inflamm.* 2012;2012:912595.
29. Cancarini GC, Sandrini S, Setti G, Bossini N, Cassamali S, et al. Transplantation outcome in patients on PD and HD. *Contrib Nephrol.* 2006;150:259-70.
30. Van Biesen W, Veys N, Vanholder R, Lameire N. The impact of the pre-transplant renal replacement modality on outcome after cadaveric kidney transplantation: the ghent experience. *Contrib Nephrol.* 2006;150:254-8.
31. Chalem Y, Ryckelynck JP, Tuppin P, Verger C, Chauvé S, et al; French Collaborative Group. Access to, and outcome of, renal transplantation according to treatment modality of end-stage renal disease in France. *Kidney Int.* 2005 ;67(6):2448-53.
32. Ho-dac-Pannekeet MM, Atasever B, Struijk DG, Krediet RT. Analysis of ultrafiltration failure in peritoneal dialysis patients by means of standard peritoneal permeability analysis. *Perit Dial Int.* 1997 ;17(2):144-50.
33. Garosi G. Different aspects of peritoneal damage: fibrosis and sclerosis. *Contrib Nephrol.* 2009;163:45-53.
34. Augustine T, Brown PW, Davies SD, Summers AM, Wilkie ME. Encapsulating peritoneal sclerosis: clinical significance and implications. *Nephron Clin Pract.* 2009;111(2):c149-54.
35. Brulez HF, Verbrugh HA. First-line defense mechanisms in the peritoneal cavity during peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1995; 15(S7): S24-S33.
36. Honda K, Oda H. Pathology of encapsulating peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int.* 2005 ;25 Suppl 4:S19-29.

37. Honda K, Hamada C, Nakayama M, Miyazaki M, Sherif AM, et al; Peritoneal Biopsy Study Group of the Japanese Society for Peritoneal Dialysis. Impact of uremia, diabetes, and peritoneal dialysis itself on the pathogenesis of peritoneal sclerosis: a quantitative study of peritoneal membrane morphology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008 ;3(3):720-8.
38. Selgas R, Bajo A, Jiménez-Heffernan JA, Sánchez-Tomero JA, Del Peso G, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition of the mesothelial cell--its role in the response of the peritoneum to dialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2006 ;21 Suppl 2:ii2-7.
39. Di Paolo N, Sacchi G, De Mia M, Gaggiotti E, Capotondo L, et al. Morphology of the peritoneal membrane during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephron* 1986; 44: 204–211.
40. Dobbie JW, Anderson JD, Hind C. Long term effects of peritoneal dialysis on morphology. *Perit Dial Int* 1994; 14 (3): S16-20.
41. Pawlaczyk K, Kuzlan-Pawlaczyk M, Wieczorowska-Tobis K, Polubinska A, Breborowicz A, et al. Evaluation of the effect of uremia on peritoneal permeability in an experimental model of continuous ambulatory peritoneal dialysis in anephric rats. *Adv Perit Dial.* 1999;15:32-5.
42. Flessner MF, Credit K, Henderson K, Vanpelt HM, Potter R, et al. Peritoneal changes after exposure to sterile solutions by catheter. *J Am Soc Nephrol.* 2007 ;18(8):2294-302.
43. Flessner MF, Credit K, Richardson K, Potter R, Li X, et al. Peritoneal inflammation after twenty-week exposure to dialysis solution: effect of solution versus catheter-foreign body reaction. *Perit Dial Int.* 2010 ;30(3):284-93
44. Higuchi C, Nishimura H, Sanaka T. Biocompatibility of peritoneal dialysis fluid and influence of compositions on peritoneal fibrosis. *Ther Apher Dial.* 2006;10(4):372-9.
45. Oh EJ, Ryu HM, Choi SY, Yook JM, Kim CD, et al. Impact of low glucose degradation product bicarbonate/lactate-buffered dialysis solution on the epithelial-mesenchymal transition of peritoneum. *Am J Nephrol.* 2010;31(1):58-67.
46. Chin AI, Yeun JY. Encapsulating peritoneal sclerosis: an unpredictable and devastating complication of peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis.* 2006 ;47(4):697-712.
47. Pollock C. Pathogenesis of peritoneal sclerosis. *Int J Artif Organs.* 2005;28(2):90-6.

48. Sekiguchi Y, Zhang J, Patterson S, Liu L, Hamada C, et al. Rapamycin inhibits transforming growth factor β -induced peritoneal angiogenesis by blocking the secondary hypoxic response. *J Cell Mol Med.* 2012;16(8):1934-45.
49. Kim JJ, Li JJ, Kim KS, Kwak SJ, Jung DS, et al. High glucose decreases collagenase expression and increases TIMP expression in cultured human peritoneal mesothelial cells. *Nephrol Dial Transplant.* 2008 ;23(2):534-41.
50. Hawley CM, Wall DR, Johnson DW, Campbell SB, Griffin AD, Rigby RJ, et al. Recovery of gastrointestinal function after renal transplantation in a patient with sclerosing peritonitis secondary to continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis.* 1995;26(4):658-61.
51. Moustafellos P, Hadjianastassiou V, Roy D, Velzeboer NE, Maniakyn N, et al. Tamoxifen therapy in encapsulating sclerosing peritonitis in patients after kidney transplantation. *Transplant Proc.* 2006 ;38(9):2913-4.
52. Lafrance JP, Létourneau I, Ouimet D, Bonnardeaux A, Leblanc M, et al. Successful treatment of encapsulating peritoneal sclerosis with immunosuppressive therapy. *Am J Kidney Dis.* 2008;51(2):e7-10.
53. Bozkurt D, Sipahi S, Cetin P, Hur E, Ozdemir O, et al. Does immunosuppressive treatment ameliorate morphology changes in encapsulating peritoneal sclerosis? *Perit Dial Int.* 2009;29 Suppl 2:S206-10.
54. Krämer S, Wang-Rosenke Y, Scholl V, Binder E, Loof T, et al. Low-dose mTOR inhibition by rapamycin attenuates progression in anti-thy1-induced chronic glomerulosclerosis of the rat. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008;294(2):F440-9.
55. Berthier CC, Wahl PR, Le Hir M, Marti HP, Wagner U, et al. Sirolimus ameliorates the enhanced expression of metalloproteinases in a rat model of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2008;23(3):880-9.
56. Ceri M, Unverdi S, Dogan M, Unverdi H, Karaca G, et al. Effect of sirolimus on the regression of peritoneal sclerosis in an experimental rat model. *Int Urol Nephrol.* 2012 ;44(3):977-82.
57. Mjörnstedt L, Sørensen SS, von Zur Mühlen B, Jespersen B, Hansen JM, et al. Improved renal function after early conversion from a calcineurin inhibitor to everolimus: a randomized trial in kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2012 ;12(10):2744-53.

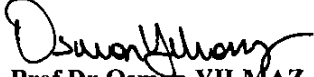
58. Temple S, Zaltzman J, Perl J. Development of encapsulating peritoneal sclerosis in a renal transplant recipient on sirolimus immunotherapy. *Perit Dial Int.* 2010;30(4):475-7.
59. Rajani R, Smyth J, Koffman CG, Abbs I, Goldsmith DJ. Differential Effect of sirolimus vs prednisolone in the treatment of sclerosing encapsulating peritonitis. *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17(12):2278-80.
60. Duman S, Bozkurt D, Sipahi S, Sezak M, Ozkan S, et al. Effects of everolimus as an antiproliferative agent on regression of encapsulating peritoneal sclerosis in a rat model. *Adv Perit Dial.* 2008;24:104-10.
61. Ishii Y, Sawada T, Shimizu A, Tojimbara T, Nakajima I, et al. An experimental sclerosing encapsulating peritonitis model in mice. *Nephrol Dial Transplant.* 2001 ;16(6):1262-6.
62. Duman S, Sen S. Technical aspects in studying peritoneal morphology in animal models of peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2009;29(S2):S40-44.
63. Duman S, Sen S, Gunal A I, Asci G, Akcicek F, et al. How can we standardize peritoneal thickness measurements in experimental studies in rats ? *Perit Dial Int* 2001;21(S3):S338-41.
64. Wong CF, Beshir S, Khalil A, Pai P, Ahmad R. Successful treatment of encapsulating peritoneal sclerosis with azathioprine and prednisolone. *Perit Dial Int* 2005;25: 285-7.
65. Stoenoiu MS, Ni J, Verkaeren C, Debaix H, Jonas JC, et al. Corticosteroids induce expression of aquaporin-1 and increase transcellular water transport in rat peritoneum. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(3):555-65.
66. Waller JR, Bicknell GR, Nicholson ML. Sirolimus attenuates the expressin of metalloproteinase-2 and -9 and inhibits intimal hyperplasia following balloon angioplasty. *Transplant Proc* 2002;34:2881-3.

Toplantı No : 02/19/2010
Toplantı Tarihi : 05 Kasım 2010


İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'na

57/2010 Protokol No'lu; İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof.Dr.Ali ÇELİK'in yürütücüsü olduğu "Sklerozan enkapsüle perifonit (SEP) modelinde stroid-sirolimus kombinasyonunun etkisinin incelenmesi" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.


Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleeri Yerel Etik
Kurul Başkanı


Prof.Dr.A.Necati GÖRMEN
Başkan Yardımcısı


Prof.Dr.Alper SOYLU
Üye


Prof.Dr.Ayşe GELAL
Üye

Prof.Dr.Selman SÖKMEN
Üye
(topl. katılmadı)

Prof.Dr.O.Nejat SARIOSMANOĞLU
Üye

Doç.Dr.Turna İLKNUR
Üye (topl.katılmadı)

Doç.Dr.H.Alper BAĞRIYANIK
Üye

Doç.Dr.Abdullah KUMRAL
Üye (topl.katılmadı)

Doç.Dr.A.Hüseyin BASKIN
Üye
(topl.katılmadı)

Doç.Dr.Tonay İNCEBOZ
Üye (topl.katılmadı)

Vtr.Hekim Altın SERPEN
Üye

Ayşe Nur BALIN
Üye

Doç.Dr.Şermin GENÇ
Üye(topl.katılmadı)

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde bold karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.