

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

REGÜLATÖR HÜCRELERİN KRONİK BÖBREK HASTALIĞINA BAĞLI
VASKÜLOPATİDEKİ ROLÜ

KÖK HÜCRE

Yüksek Lisans Tezi

Özgür ŞENOL

Danışman
Prof. Dr. Sevgi MİR

İZMİR
(2015)

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan : Prof.Dr. Sevgi MİR

Üye : Prof.Dr. Afig BERDELİ

Üye : Doç. Dr. Meral KARAMAN

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih:

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince öğrenmemde ve tez projemin hazırlanmasında büyük katkıları bulunan, değerli bilgi ve deneyimlerini benden hiç esirgemeyen, bana sabır ve büyük bir ilgiyle her türlü desteği veren değerli hocam Prof. Dr. Sevgi MİR'e, bilgi birikimi ve fikirleriyle tezimde bana yol gösteren Prof. Dr. Afig BERDELİ'ye, bilgileriyle tezime katkı sağlayan Uzm. Dr. İpek KAPLAN BULUT ve Uzm. Dr. Şükriye HACIKARA'ya, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, her zaman moral ve çalışma gücüyle yanımda olan laboratuvar deneyimlerini ve bilgilerini esirgemediğim benimle paylaşan Doku Tipi Laboratuvarı çalışanlarından Tanju TAŞDELEN'e, Nazan ÜLVAN'a Nuray KARA'ya, Neriman YILMAZ'a, Deniz PİŞKİN ve Sena TUNA'ya, tez yazım sürecinde manevi desteğini hiç esirgemeyen değerli arkadaşım Uğur Erşen ŞENBİL'e, hayatım boyunca her türlü desteklerini üzerimde hissettiğim, her zaman yanımda olan değerli aileme, tezimde kullandığım görsel materyalleri oluşturmamda ve tez yazım süreci boyunca manevi desteğini hiç esirgemeyen Aynur AYDIN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Kronik Böbrek Hastalığında (KBH) en önemli morbidite ve mortalite nedeni kardiyovasküler hastalıklardır (KVH). KBH'li çocuklarda KVH, gizli ve sinsi olarak başlamaktadır. KVH oluşumunda metabolik ve immünolojik faktörler sorumlu tutulmaktadır ve kardiyovasküler tutulumun KBH'nin hangi evresinde başladığı, sıklığı ve nedeni hakkında kanıtlanmış kesin bir bilgi yoktur.

İmmün sistem hücrelerinden T lenfosit ve alt gruplarının (Th1, Th2, Th17), B lenfosit ve alt gruplarının ve bu hücrelerden salınan sitokinler aracılığıyla KBH'ye bağlı KVH ve ateroskleroza katkısı olduğu bildirilmiştir. Fakat immün sistemin hücrelerinin ve salgıladıkları sitokinlerin KVH ve aterosklerozdaki hücresel mekanizması hakkında net bir bilgi yoktur. Bu tez çalışmasında da KBH'ye sahip çocuklarda kardiyovasküler tutulum risklerinin değerlendirilmesi için Aİx (Augmentasyon İndeksi), PWV (Nabız Dalga Boyu), CIMT (Karotis İntima-Media Kalınlığı), SVKİ (Sol Ventrikül Kitle İndeksi) gibi arteriyal kalınlık belirteçleri kullanılarak tutulumun hastalığın hangi evresinde başladığı ve bu evrelerdeki Treg (Regülatör T hücresi) hücre düzeyinin tutulumla ilişkisi araştırılmak istenmiştir.

Her hastaya ve kontrol grubuna yukarıda sayılan kardiyovasküler tutulum değerlendirme testleri ve Treg hücre düzeyini saptamak için flow sitometrik test uygulanmıştır.

Hastaların öncelikle K/DQOI kriterlerine göre KBH evrelendirilmesi yapılmıştır. Hastalar evrelerine göre İki gruba ayrılmıştır. Evre 1,2,3 olanlar grup 1'e; evre 4,5 olanlar grup 2'ye alınmıştır.

Grup 1 (n:12) ve grup 2'ye (n:13) alınan her hastada kardiyovasküler tutulum parametreleri değerlendirildiğinde ortalama Aİx, ortalama PWV, ortalama CIMT, ortalama SVKİ değeri sağlıklı gruba göre yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p<0,05$). Grup 1 ve grup 2 kendi aralarında karşılaştırıldığında ortalama Aİx değerinin grup 2'de grup 1'ye göre anlamlı yüksek olduğu ($p<0,05$); ortalama PWV, ortalama CIMT ve ortalama SVKİ değerinin de yüksek olduğu ama istatistiksel bir anlamı olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Literatürde KBH'ye bağlı KVH'de Treg hücrelerin hücrel mekanizmada rolünün olup olmadığını bildiren herhangi bir yayın yoktur. Bu çalışmamızda hastalığın evresi arttıkça kardiyovasküler tutulumun arttığı ve Treg hücrelerin düzeyinin düştüğü saptanmıştır. Bu sonuçtan yola çıkarak Treg hücrelerin KBH'li çocuklarda kardiyovasküler tutulumda rolü olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar önerilen hipotezi destekler niteliktedir. Hastalığın evresi arttıkça Treg hücre düzeyinin anlamlı derecede düştüğü ve kardiyovasküler riskin de arttığı saptanmıştır.



ABSTRACT

Cardiovascular diseases are an important risk factor for morbidity and mortality on patients with chronic kidney disease (CKD). On patient with CKD, in general cardiovascular diseases (CVD) began as hidden and it has caused of heavy mortality in children. A variety of metabolic and immunologic factors in the development of CVD is being advocated and in which stage begins early cardiovascular involvement is not known.

It's reported that T lymphocytes and their subgroups (Th1, Th2, Th17), B lymphocytes and their subgroups and their cytokines are contributed to CKD dependent CVD and atherosclerosis. But, there are no clear knowledge about cellular mechanism of immune cells and their cytokines in CVD and atherosclerosis. In this study we want to determine CVD involvement begin which stage of CKD with using arterial stiffness marker ex. Aix (Augmentation Index), PWV (Pulse Wave Velocity), CIMT (Carotis Intima-Media Thickness), LVMI (Left Ventricul Mass Index) and determine relation between Treg (Regulatory T cell) levels and CVS involvement in those stages in children with CKD.

Cardiovascular involvement assessment test which listed above was applied and flow cytometric test was applied to determine Treg levels of each patient and control groups.

First, CKD staging were made according to K/DQOI criteria in patient. Patients were classify in accordance with CKD stage. Stage 1,2,3 CKD patients were attached to group 1 and stage 4,5 patients were attached to group 2.

When the group 1 and group 2 patients evaluated any CVS involvement in cardiovascular parameters, AIX average, average PWV, the average CIMT, the average LVMI was higher and that value is significantly higher than the healthy group ($p < 0.05$). Group 1 and group 2 compared themselves AIX average value of the group 2 which is significantly higher than group 1 ($p < 0.05$); The average PWV, the average was higher in the value of CIMT and the average LVMI but were not found statistically significant ($p > 0.05$). Patients in both groups, CD4 + CD25 + FoxP3 + cells Treg) that were analyzed was found to be significantly lower than normal levels of value ($p < 0.05$). Group 2 patients CD4 + CD25 + FoxP3 + Treg cell level compared with patients in group 1 was found to be lower ($p < 0.05$).

In the literature there are no reports describing CKD dependent CVD on whether the cellular mechanism of the role of Treg cells. In this study we determined when the stage of the disease was increased, cardiovascular involvement was increased and Treg cells level was

decreased. We think that Treg cells may play role in cardiovascular involvement on children with CKD based on this result.

The results that obtained in this studies also support the proposed hypothesis. It was determined that as the stage of the disease increased, Treg cells level declined and cardiovascular risk was increased.



Tablolar Dizini

Tablo 1. National Kidney Foundation Kidney Disease Outcome Quality Initiative(NKF-K/DOQI) Kronik Böbrek Hastalığı Evrelemesi

Tablo 2: Çocuklarda kronik böbrek hastalığının tanımı için K/DOQI kriterleri.

Tablo 3 : 2013 yılı itibarıyla kronik HD/PD programında izlenmekte olan veya fonksiyonel greftle izlenmekte olan tüm çocuk hastaların renal replasman tedavi tipine göre dağılımı .

Tablo.4. Böbrek Hasar Belirteçleri

Tablo 5: 2013 yıl sonu itibarıyla kronik HD programında alınan hastaların etiyolojik nedenlere göre dağılımı (%).

Tablo.6: 2013 yılında ölen HD hastalarının ölüm nedenlerine göre dağılımı.

Tablo 7. KBY Ortaya Çıkışı ve SDBY İlerleyişine Etkili Faktörler

Tablo 8 : Çocuk ve erişkinlerde kan basıncının sınıflandırılması

Tablo 9 : Doğal Treg hücrelerin özellikleri

Tablo 10 : Uyarılmış Treg Hücrelerin Özellikleri

Tablo 11:İmmün sistemin hücreleri ve sitokinlerinin KBH'de KVS hastalıklara etkileri

Tablo 12 : Hastaların cinsiyet, yaş, KBH evre grup bilgileri

Tablo 13: Çalışmaya alınan hastaların ortalama AIx, PWV, CIMT, SVKİ, CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre düzeyleri ile anlamlılık değerleri.

Şekiller Dizini

Şekil 1: Yaşa göre kronik böbrek hastalığının etiyolojisini gösteren grafik. (NAPRTCS ADR 2005'ten alınmıştır.)

Şekil 2. T hücrelerden farklı T hücre alt grupları

Şekil 3: Treg hücrenin moleküler karakteristiği / yüzey belirteçleri

Şekil 4: Normal immün yanıt ve periferik tolerans mekanizması.

Şekil 5. KBH'de immün fonksiyon bozukluğunun inflamasyon ve enfeksiyon aracılığıyla kardiyovasküler hastalığa yol açması.

Şekil 6. Mononükleer hücre izolasyonu

Şekil 7: Hasta ve kontrol grubundan örnek flow sitometrik CD4+CD25+FoxP3+ hücrelerin değerlendirilmesi. **A)** Lökositler arasından lenfosit kapısı alınmış bir bölge (kırmızı alan) **B)** Lenfositler arasından CD4 (+) CD25 (+) olan hücreler **C)** CD4(+) CD25 (+) hücrelerden FoxP3 transkripsiyon faktörü eksprese eden hücre yüzdesi.

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma

Açıklama

AIx	Augmentasyon İndeksi
APC	Antijen Sunan Hücreler
BUN	Kan üre nitrojeni
Ca x P	Serum kalsiyum ve fosfor düzeylerinin çarpımı
CIMT	Karotis İntima Media Kalınlığı
CTLA-4	Cytotoxic T lymphocyte-Associated 4
DM	Diabetes Mellitus
ePRR	Endocytic pattern-recognition receptors
FBS	Pharmingen Stain Buffer
FoxP3	Forkhead winged helix P3
GFR	Glomerül Filtrasyon Değeri
GTR	Glucocorticoid – Induced Tumor Necrosis Factor Receptor Family-Related Gene
HD	Hemodiyaliz
HT	Hipertansiyon
IDO	Indoleamine
IPEX	Immunodysregulation, poliendocrinopathy, enteropathy, x- Linked syndrome
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcome
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
KY	Kalp Yetmezliği
K/DOQI	Böbrek Hastalıkları Sonuç Kalite Girişimi

LAG	Lenfosit Aktivasyon Gen
MA	Moleküler Ağırlık
MHC	Major Histocompatibity complex
NAPRTCS	Kuzey Amerika Pediatrik Böbrek Transplantasyon Ortak Çalışması
NKF	Ulusal Böbrek Vakfı
K/DOQI	National Kidney Foundation
NrP	Nörofilin
PD	Periton Diyalizi
PD-1	Programlanmış ölüm-1
PWV	Pulse Wave Velocity
RAAS	Reninanjyotensin-Aldosteron Sistemi
SDBH	Son Dönem Böbrek Hastalığı
SVH	Sol Ventrikül Hipertrofisi
SVKİ	Sol Ventrikül Kitle İndeksi
TCR	T hücre reseptörü
TGF-β	Transforme edici büyüme faktörü
Th	Yardımcı T hücreleri
Treg	CD4+CD25+düzenliyiçi T hücreleri

1.GİRİŞ

Kronik Böbrek Hastalığında (KBH) en önemli morbidite ve mortalite nedeni kardiyovasküler hastalıklardır (KVH). Erişkin KBH olan hastalarda KVH'ye bağlı mortalite genel popülasyonda 10-20 kat daha fazladır . KBH'li çocuklarda KVH, gizli ve sinsi olarak başlamaktadır. KVH oluşumunda metabolik ve immünolojik faktörler sorumlu tutulmaktadır ve kardiyovasküler tutulumun KBH'nin hangi evresinde başladığı, sıklığı ve nedeni hakkında kanıtlanmış kesin bir bilgi yoktur (1,2).

Son Dönem Böbrek Hastalığında (SDBH) KVH'ye bağlı mortalite riski sağlıklı çocuklara göre 1000 kat daha fazladır (3). Genel çocukluk yaş grubunda KVH'ye bağlı ölüm oranı %3'ten azdır. SDBH'li çocuklardan diyaliz tedavisi alan hastaların %51'i, transplantasyon olanlarının %37'sinde ölüm sebebi KVH'dir.

KBH'de KVH açısından risk faktörlerine bakıldığında karşımıza üremiden bağımsız olarak kardiyovasküler etkileri olan geleneksel risk faktörleri arasında yaş, cinsiyet, obezite, hipertansiyon, diabetes mellitus (DM), düşük HDL kolesterol, yüksek LDL kolesterol, sigara, fiziksel inaktivite ve aile öyküsü sayılabilir. Üremi ile ilişkili geleneksel olmayan risk faktörlerine bakıldığında ise albümini, homosistein, lipoprotein (a), anemi, oksidatif stres, nitrik-asit dengesinde değişim, anormal kalsiyum- fosfor metabolizması, inflamasyon, malnütrisyon, ekstraselüler volüm artışı ve sol ventrükül hipertrofisi (SVH) sayılabilir (4).

Çocukluk çağı KBH olan hastalardaki KVH ile bu risk faktörü açısından önemli bir ilişki mevcuttur ve erken dönemde aterosklerotik lezyon olabileceği düşünülmektedir (5).

İnflamasyon SDBH olan hastaların ortak özelliği olmakla birlikte, erken dönem KBH olan çocuk ve adolesanda da inflamatuvar belirteçlerin arttığı saptanmıştır (6).

Dolaşımdaki inflamatuvar sitokinler ile KBH'ye bağlı KVH risk faktörleri arasında önemli bir bağ olduğu, kronik böbrek hastalığın ilerlemesine aracılık ettiği; vaskülarit ve immün sistemin yer aldığı bir kaskad aracılığıyla dokularda pro-inflamatuvar sitokinler biriktiği öne sürülmüştür(7). Böylece doku hasarı meydana gelir fakat inflamatuvar süreç devam eder. IL-4, IL-10, TGF- β , lipoksin ve lökotrinler gibi proinflamatuvar sitokin inhibitörleri aracılığıyla doku tamir mekanizması çalışmaya başlar (8). Kronik inflamatuvar

sürecin KBH'deki varlığının nedenleri kesin bilinmemekle birlikte bu sürecin multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir(8).

İmmün sistem hücrelerinden T lenfosit ve alt gruplarının (Th1, Th2, Th17), B lenfosit ve alt gruplarının ve bu hücrelerden salınan sitokinler aracılığıyla KBH'ye bağlı KVH ve ateroskleroza katkısı olduğu bildirilmiştir (9). Fakat immün sistemin hücrelerinin ve salgıladıkları sitokinlerin KVH ve aterosklerozdaki hücresel mekanizması hakkında net bir bilgi yoktur.

İmmün sistem, çeşitli regülatör hücreler tarafından uyarılır veya baskılanır. Regülatör T hücreler (Treg) immün sistemi baskılayıcı-frenleyici yönde kontrol eder. T hücre alt gruplarından olan Treg hücreler yüzeylerinde CD4, CD25, CTLA-4, GITR ve çekirdekte FoxP3 transkripsiyon faktörü ile karakterize edilirler ve IL-10, TGF- β sitokinleri ile inflamatuvar süreçte rol oynarlar (10). Treg hücrelerin düzeylerini çocuklarda saptamak zordur. Bundan dolayı Treg hücre düzeyini saptamada en güvenilir yöntem belirlenmelidir. KBH'ye bağlı KVH'de ve aterosklerozda inflamatuvar süreçte rol alan immün sistem hücrelerin ve sitokinlerin inflamasyon sürecinde regülasyonunu hangi hücre grubunun düzenlediği ve regülasyon mekanizması hakkında literatürde henüz bildirilmiş bir rapor veya yayın bulunmamaktadır. Bu bilgiler bize KBH'ye bağlı kardiyovasküler sistem tutulumunda Treg hücrelerin inflamasyon mekanizmasını, salgıladıkları sitokinler ile regüle ettiklerini düşündürmüştür .

Tez kapsamındaki bu çalışmada;

1. Çocuklarda Treg hücreleri yüzey belirteçleri ve transkripsiyon faktörüyle karakterize ederek periferik kandaki düzeyini flow sitometrik yöntemle saptamak,
2. KBH'li çocuklarda kardiyovasküler tutulum belirteçleri (AIx, PWV, CIMT, SVKI) kullanılarak kardiyovasküler tutulum olan ve olmayan hastaları belirlemek,
3. Tutulumun KBH'nin hangi evresinde başladığını saptamak,
4. Treg hücrelerin düzeyinin KBH'ye bağlı kardiyovasküler tutulumdaki immünolojik mekanizmaya salgıladıkları sitokinler ile katkısı olup olmadığını saptamak istedik.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Böbrek Hastalığı

Ulusal Böbrek Vakfı (NKF) ve Böbrek Hastalıkları Sonuç Kalite Girişimi (K/DOQI) bütün KBH'li hastaların ve böbrek hastalığı riskinde olanların tanımlanması, tedavisi ve bakımı için kavramsal bir ağ kurmuştur. (11) Kronik böbrek hastalığı (KBH), böbrek hasarına veya altta yatan hastalığın nedeninden bağımsız olarak 3 aydan uzun süren objektif böbrek hasarı ve/veya glomerüler filtrasyon hızının (GFR) $60 \text{ ml/dk/1.73 m}^2$ 'nin altına inmesi durumu olarak tanımlanmaktadır (12). İlerleyen bir böbrek hastalığının var olması durumunda KBH, böbreğin endokrin ve metabolik fonksiyonlarının kalıcı kaybı olarak da tanımlanabilir (13).

KBH'nin evrelerine ilişkin kılavuz 2002 yılında National Kidney Foundation (NKF-K/DOQI) tarafından yayınlamıştır. 2004 yılında da Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO) Uzlaşma Konferansında güncellenmiştir. Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI) kılavuzlarına göre KBH'nin evreleri ve bu evrelerdeki klinik yaklaşım Tablo 1' de belirtilmiştir (11).

Böbrek hasarı başlangıçta GFR düşüklüğü olmayan, gelecekte böbrek fonksiyonlarında azalmaya götürecek kan, idrar, görüntüleme testleri ve böbrek biyopsisindeki anormalliklerle tanı konulan böbreğin yapısal ve fonksiyonel anormallikleri olarak tanımlanır (Tablo 2). KBH için bu genel tanımlamanın faydası, hastaların kendi doğal böbrek fonksiyonlarını ve uzun süreli iyilik hallerini devam ettirebilmeleri için böbrek hastalıklarının erkenden tanı konmasıdır.(14)

Bu amaca ulaşabilmek için her evrede eylem planlarının bulunduğu KBH'yi evreleme sistemi geliştirilmiştir. (Tablo 3) Fakat unutulmamalı ki KBH evrelemesi sadece 2 yaş ve üzerindeki çocuklarda uygulanabilir.

KBH EVRESİ	TANIM	GFR (ml/dk/1,73 m ²)	SINIFLANDIRMA	EYLEM PLANI (KLİNİK YAKLAŞIM)
Normal Böbrek Fonksiyonu	KBH için risk faktörleri varsa eylem planı uygula	≥90		Araştırma, KBH riskini azaltma
1	Normal veya azalmış GFR ile bilinen böbrek hasarı	≥90	Albuminüri, proteinüri, hematüri	Primer ve eşlik eden durumların tanısının koyulması ve tedavi edilmesi, kardiyovasküler risk faktörlerinin azaltılması
2	Hafif düzeyde azalmış GFR'li böbrek hasarı	60-89	Albuminüri, proteinüri, hematüri	İlerleme hızının tahmin edilmesi
3	Orta düzeyde azalmış GFR	30-59	Kronik renal yetmezlik	Komplikasyonların tanımlanması ve tedavisi
4	Şiddetli düzeyde azalmış GFR	15-29	Kronik renal yetmezlik, geç renal yetmezlik	Renal replasman tedavisi için hazırlık
5	Böbrek Yetmezliği	<15 (veya diyaliz)	Renal yetmezlik, Üremi, Son dönem böbrek hastalığı	Renal replasman tedavisi

Tablo 1: National Kidney Foundation Kidney Disease Outcome Quality Initiative(NKF-K/DOQI) Kronik Böbrek Hastalığı Evrelemesi

Aşağıdaki kriterlerden herhangi birisi varsa hastada KBH vardır.

1.GFR’de düşüklük olsun ya da olmasın böbreğin yapısal ve fonksiyonel anormalliği olarak tanımlanan 3 ay ve daha uzun süre devam eden böbrek hasarı; aşağıdakilerden bir veya daha fazlasıyla ortaya konan; *Böbrek biyopsisinde anormallikler, *Görüntüleme testlerine dayanan anormallikler, *İdrar ve kan içeriğindeki anormallikler 2.Yukarıda listelenen böbrek hasarının bulguları olsun ya da olmasın 3 ay ve daha fazla süre GFR’nin 60 ml./dak/1,73 m²’nin altında kalması

Tablo
2:
Çocu
klard
a
kroni
k

böbrek hastalığının tanımı için K/DOQI kriterleri. (Pediatrics 111:1416, 2003)

Son dönem böbrek hastalığı (SDBH) böbrek fonksiyonlarının geriye dönüşümsüz kaybı sonucu hayatı tehdit eden, üremiye yol açan ve üremiden korunmak için diyaliz veya transplantasyon gibi renal replasman tedavisi gerektiren klinik bir durumdur. Türk Nefroloji Derneği’nin 2013 verilerine göre ülkemizde 8757 hemodiyaliz (HD), 1150 periton diyaliz (PT), 694 çocuk hastaya ise böbrek transplantasyonu yapılmıştır. (15)

	TND KAYIT SİSTEMİ
Hemodiyaliz (HD)	8757
Periton Diyaliz (PD)	1150
Transplantasyon	694
TOPLAM	10601

Tablo 3 : 2013 yılı itibarıyla kronik HD/PD programında izlenmekte olan veya fonksiyonel greftle izlenmekte olan tüm çocuk hastaların renal replasman tedavi tipine göre dağılımı .

2.2. Kronik Böbrek Hastalığının Patolojisi

Kronik böbrek hastalığı (KBH) fizyopatolojisi altta yatan primer hastalığa özgü başlatıcı mekanizmalar içerir. Bununla birlikte iş gören kitlenin azalması sonucunda ortaya çıkan ve ilerleyici bir özellik gösteren mekanizmalar da mevcuttur. Böbreğin iş gören kitlesinin azalması, sağlam nefronlarda fonksiyon artışına ve hipertrofiye neden olur.

Glomerüler hiperfiltrasyon ise glomerül kapiller basıncı ile birlikte plazma akımının artması ile gerçekleştirilir. Sonuçta kısa süreli bu değişiklikler kalan nefron kitlesinde skleroza zemin hazırlayan maladaptif değişikliklere yol açar ki bu da altta yatan hastalığa göre değişmeksizin glomerüllerde skleroza neden olur (16). Çalışmalar glomerül sklerozunun gelişiminde belirli evrelerin varlığını göstermiştir.

İlk evrede endotel hasarı ve inflamasyon oluşur; bunu ikinci evrede mezengial proliferasyon takip eder ve son olarak üçüncü evrede ise glomerül sklerozu ve fibrozisi meydana gelir.(17) Sağlam kalan nefronların fonksiyonlarını azaltan bu patolojik yol, altta yatan hastalık aktivitesini yitirse bile devam eder. Bu fizyopatolojik mekanizmada reninanjiotensin- aldosteron sisteminin (RAAS) aktivasyonu önemli rol oynar. İntrarenal RAS sistemi aktifleşerek hem başlangıçtaki adaptif hiperfiltrasyona hem de ardından gelişen maladaptif hipertrofi ve skleroza katkıda bulunur. RAAS aktivasyonunun uzun süreli bu maladaptif etkileri, kısmen, transforme edici büyüme faktörü (transforming growth faktör- β -TGF- β) gibi büyüme faktörleri ile oluşturulur (18).

KBH 'nin tüm formlarında erken fazda böbrek rezervi kaybı olur. Böbrek fonksiyonu tamamen normal olan birinde böbreklerin aşırı proteinüriye maruz kalması halinde glomerül filtrasyon değeri (GFR) %20-30 arttırılabilir. Böbreğin rezerv kaybının erken döneminde

bazal GFR normal olur, hatta yükselebilir. Fakat protein yüküne uzun süre maruz kaldığında beklenen GFR yükselmesi olmaz (19). GFR' nin düştüğünün göstergesi olarak serum üre ve kreatinin seviyesi yükselse bile GFR normalin %30 una düşmediği sürece hastalar asemptomatik kalabilir. Bununla beraber, yapılan muayenede, genellikle, böbrek yetmezliğinin erken klinik ve laboratuvar bulguları ortaya çıkarılabilir. Bunlar noktüri, hafif anemi, hafif güç kaybı, iştah azalması ve erken beslenme bozukluklarıdır. GFR %30 altına düştüğü zaman klinik belirtiler artar, böbrek yetmezliği ilerledikçe klinik tablo ağırlaşır ve biyokimyasal anormallikler gelişir (20). Böbrek hasar belirteçleri tablo 4'te verilmiştir.

KAN	İDRAR	GÖRÜNTÜLEME
Serum kreatinin seviyesinin artması	Mikroalbuminüri	Ekojenitede artış
Kan üre nitrojeninin (BUN) artması	Proteinüri	Küçük, hiperekoik böbrek
Hipoalbuminemi	Hematüri	Bir böbreğin yokluğu
Hiperürisemi	Eritrosit silindirleri	Akut piyelonefrit
Hipo veya hipernatremi	Piyüri	Böbrekte skar
Hipo veya hiperkalemi	Lökosit silindirleri	Büyük böbrekler

Hipo veya hiperfosfatemi	Tübüler hücreler	Böbrek hacim orantısızlıkları
Metabolik asidoz	Granüle silindirler	Hidronefroz
	Lipid damlacıkları	İdrar yollarında tıkanma
		Renal arter stenozu
		Nefrokalsinozis
		Taş hastalığı
		Kistik böbrek hastalıkları
		Medüler sünger böbrek

Tablo 4. Böbrek Hasar Belirteçleri

2.3.Kronik Böbrek Hastalığının Etiyolojisi

Son dönem böbrek hastalığı insidansında özellikle son 20 yılda önemli bir artış olmuştur. Bunun yanında SDBH'nin etiyolojisi ele alındığında ülkemizde geçmişte glomerulonefritler en sık sebebi oluştururken günümüzde ilk sırayı diyabetes mellitus (DM) almıştır. Türk Nefroloji Derneği'nin 2013 yıl sonu verilerine göre 2013 yılında HD programında yeni başlayan 44106 hastada en önde gelen etiyolojik faktör DM (%34) olup bunu hipertansiyon (HT) (%28) izlemektedir. Tüm etiyolojik nedenler ve sıralaması Tablo-5 ve HD tedavisine alınan hastaların ölüm nedenleri Şekil-1'de verilmiştir. (21)

Diabetes mellitus

Tip 1 DM

Tip 2 DM

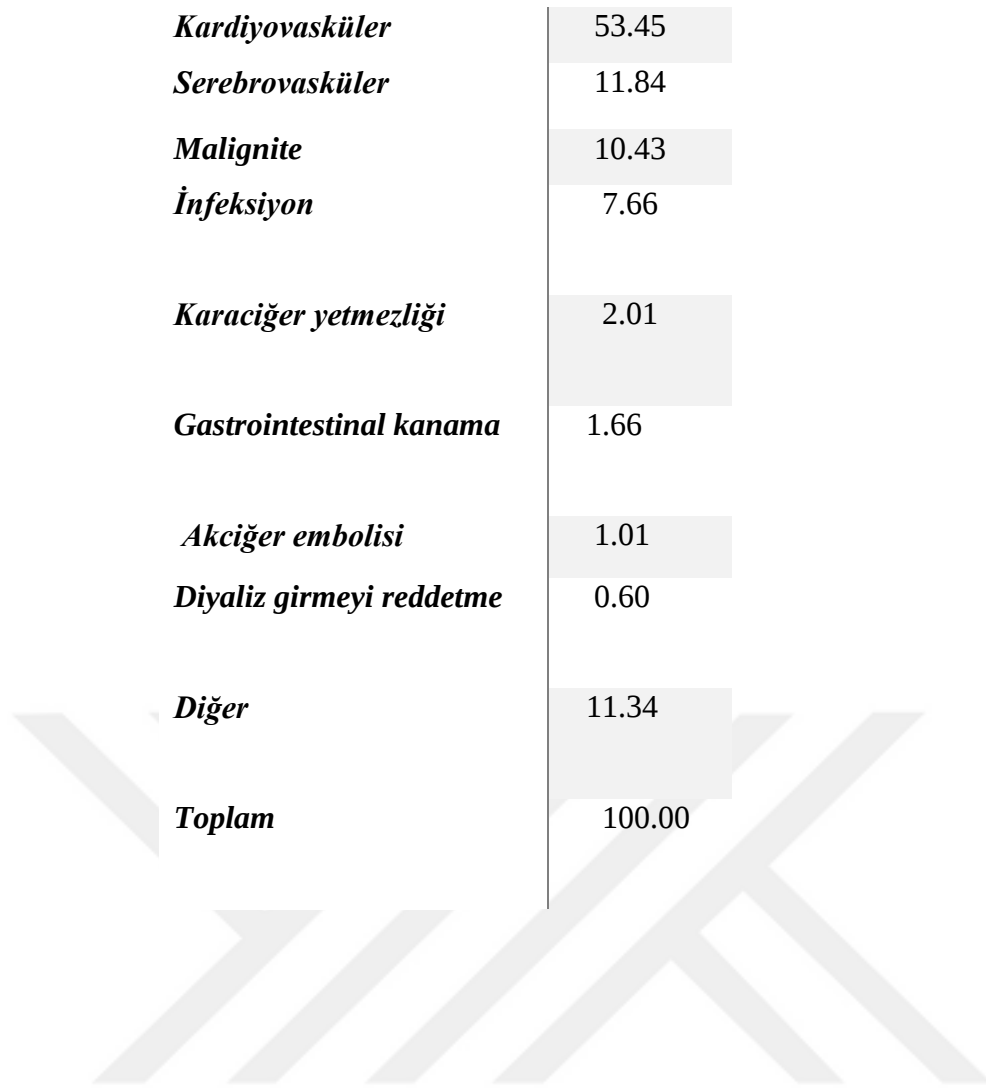
33.83

4.51

29.32

<i>Hipertansiyon</i>	28.47
<i>Glomerülonefrit</i>	7.37
<i>Polikistik böbrek hastalıkları</i>	4.41
<i>Amiloidoz</i>	1.91
<i>Tübülointerstisyel nefrit</i>	1.58
<i>Renal vasküler hastalık</i>	0.92
<i>Diğer</i>	7.39
<i>Etyoloji bilinmeyen</i>	14.12

Tablo 5: 2013 yıl sonu itibarıyla kronik HD programında alınan hastaların etiyolojik nedenlere göre dağılımı (%).

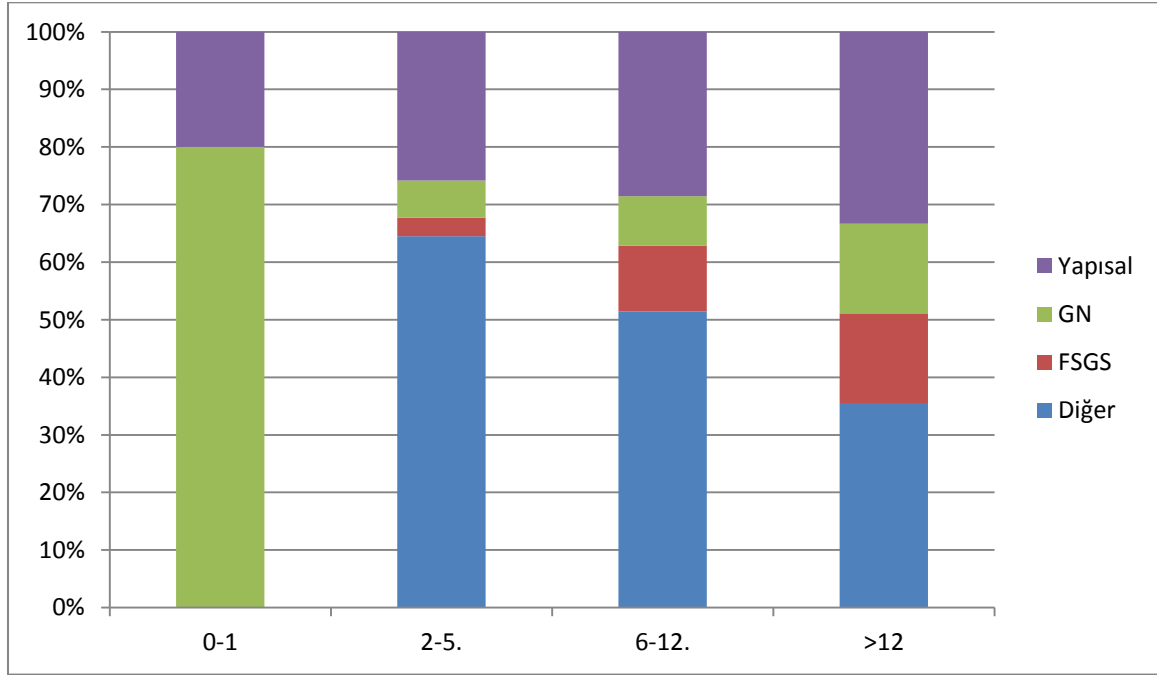


Tablo.6: 2013 yılında ölen HD hastalarının ölüm nedenlerine göre dağılımı.

2.4. Kronik Böbrek hastalığının epidemiyolojisi

Böbrek hastalığının altta yatan nedenlerinin çocuklarda yetişkinlerdekinden oldukça farklı olduğunu bilmek önem taşır. Diyabetik nefropati ve hipertansiyon, yetişkinlerde KBH'nin ana nedenleri iken çocukluk çağındaki KBH'nin çok nadir nedenleri arasındadır. Gruplandırarak olunursa çocuklarda KBH'ye götüren nedenler özellikle de daha genç yaş gruplarında konjenital ve ürolojik anormalliklerdir.(22,23) Kuzey Amerika Pediatrik Böbrek Transplantasyon Ortak Çalışması'nın (NAPRTCS) kronik böbrek yetersizliği kayıtlarının 2005 verileri, yaştan artmasıyla birlikte konjenital ürolojik anormallikli hastaların oranının

azaldığını ve etiyolojik artış olarak glomerüler hastalıklı olanlarının oranının arttığını göstermiştir. (Şekil 2)



Şekil 1: Yaşa göre kronik böbrek hastalığının etiyolojisini gösteren grafik. (NAPRTCS ADR 2005'ten alınmıştır.)

Bu veriler aynı zamanda çocukluk çağındaki KBH'nin toplam etkilenen popülasyonun %64'ünü erkek çocuklar oluşturacak şekilde, kızlara göre erkekleri daha çok etkilediği göstermiştir. NAPRTCS kayıtlarında çocukluk çağı KBH'nin ırksal dağılımı %61 beyaz ırk, %19 Afrika kökenli Amerikalı ve %14'ü İspanyol'dur. (24)

2.5. Risk Faktörleri

KBH ortaya çıkışını ve SDBH ilerlemesini kolaylaştıran bazı risk faktörleri vardır. Bunlar tablo 6’ da gösterilmiştir (25)

*İleri yaş *Etnik köken ve ırk *Cinsiyet *Düşük sosyoekonomik düzey *Sigara içmek *Alkol alışkanlığı *Aile öyküsü *Analjezik bağımlılığı *Uyuşturucu alışkanlığı *Kurşun ve diğer ağır metallere maruziyet *Oksidatif stres *Hiperlipidemi	*İnsülin direnci *Anemi *Proteinüri *Yüksek kan basıncı *Tıbbi bakım yetersizliği *Yoksulluk
--	--

Tablo 7. KBH Ortaya Çıkışı ve SDBH İlerleyişine Etkili Faktörler

2.6. Kronik Böbrek Hastalığında Kardiyovasküler Hastalıklar ve Patogenezi

KBH'li çocuklarda ortak kardiyovasküler araştırma kılavuzları henüz geliştirilmemiştir. Hipertansiyonun yeterli kontrolü, kan kolesterolünün normal sınırlarda tutulması ve sebebi ne olursa olsun kardiyak disfonksiyonun tedavisi KBH'li bütün hastalarda dikkate alınmalıdır. (26)

Kronik böbrek hastalığının tüm evrelerinde kardiyovasküler hastalıklar (KVH) morbidite ve mortalitenin en önemli nedenini oluşturmaktadır (27). Koroner arter hastalığı (KAH) ve kalp yetmezliği (KY) prevalansı genel popülasyonda %5-12 arasında değişmekte iken, SDBH'li hastalarda %40'tır. Aynı şekilde diyaliz hastalarında KVH'a bağlı ölüm sıklığı genel popülasyona göre daha yüksektir. Aynı yaş grubunda renal hastalığı olmayan genel popülasyonla karşılaştırıldığında diyaliz hastalarında kardiyak nedenli ölümler 3-5 kat daha fazladır (28).

Günümüzde yayınlanan kılavuzlarda kabul edilen görüşe göre, mortalitenin en önemli sebebi olan KVH, SDBH aşamasına varılmadan önce, KBH'nin çok erken dönemlerinden itibaren oluşmaya başlamaktadır.

Son dönem böbrek hastalığı olgularında KVH riskinin bu kadar yüksek olmasının nedeni olarak bu hasta grubunda DM, HT ve düşük HDL gibi geleneksel risk faktörlerinin sık görülüyor olması gösterilebilir ancak birçok çalışmada SDBH'ye sahip hastalarda KVH riskini ortaya koymak için geleneksel risk faktörlerinin yetersizliği gösterilmiştir. Bunun anlamı geleneksel risk faktörleri arasında yer almayan ve geleneksel olmayan risk faktörleri olarak tanımlanan hiperhomosisteinemi, anemi, hipoalbuminemi, elektrolit anormallikleri, bozulmuş kalsiyum-fosfor metabolizması, , artmış oksidatif stres ve inflamasyon gibi faktörlerin SDBH'li hastalarda KVH gelişiminde önemli rol oynaması olarak değerlendirilmektedir (29)

2.7. Kronik Böbrek Hastalığı ve Kardiyovasküler Risk Faktörleri

2.7.1 Kardiyovasküler Risk

Çeşitli popülasyonlardaki birçok çalışma ile düşük glomerül filtrasyon ve yüksek albüminürinin kardiyovasküler hastalıklarla bağlantılı olduğu rapor edilmiştir. Kardiyovasküler risk faktörleri ve albüminüri göz önüne alındığında kardiyovasküler mortalitenin risk gradientinde glomerül filtrasyon hızının 75 mL/min per 1,73 m² olduğu durumlarda az değişim gösterdiği ve GFR nin düşmesiyle mortalite gradientinin lineer olarak arttığı bildirilmiştir (30). Kardiyovasküler mortalite evre 3 KBH'de (GFR; 30-59 mL/min) sağlıklı bireylere göre 2 kat, evre 4 KBH'de(15-29 mL/min) ise sağlıklı bireylere göre 3 kat daha fazladır. Spesifik kardiyovasküler hastalıkların çeşitliliği böbrek fonksiyonlarının bozulmasıyla ilgilidir (31). Kalp krizi riski GFR'si 60 mL/min 'den düşük olan bireylerde normal GFR değerine sahip bireylerle karşılaştırıldığında yaklaşık iki kat daha fazladır. Kardiyovasküler risk, benzer olarak , periferik arter hastalığı, kronik kalp hastalığı ve atrial fibrilasyonda da yüksektir (32).

Kronik böbrek hastalığı sık sık hipertansiyon ve diyabetin sonucu olarak gözlenir. KBH'li hastalarda kardiyovasküler risk yüksektir ve bu riskin altta yatan hangi hastalığın sonucu olduğunun belirlenmesi gerekir. birçok değerlendirme bozulmuş böbrek fonksiyonu ve yüksek albüminürinin hipertansiyon ve diyabete bağlı kardiyovasküler risk faktörü olduğunu açıkça göstermiştir (33,34).

Kronik böbrek hastalığında kardiyovasküler hastalıklar açısından risk faktörlerine baktığımızda karşımıza üremiden bağımsız olarak geleneksel risk faktörleri arasında ;

- ileri yaş,
- erkek cinsiyet,
- DM,
- HT,
- düşük HDL kolesterol,
- artmış LDL kolesterol,
- sigara,
- fiziksel inaktivite,
- aile öyküsü sayılabilir.

Üremi ile ilişkili geleneksel olmayan risk faktörlerine baktığımızda ise;

- albüminüri,
- homosisteinemi,
- anemi,
- oksidatif stres,
- nitrik oksit
- endotelin dengesinde değişim,
- anormal kalsiyum fosfor metabolizması,
- inflamasyon,
- malnütrisyon,
- ekstrasellüler volüm artışı ve
- sol ventrikül hipertrofisi sayılabilir (35,36).

Risk faktörleri aşağıda ayrıntılı olarak sıralanmıştır.

2.7.1.1. Hipertansiyon

Erişkinlerde hipertansiyon için tanımlanan kan basıncı değerleri, bu yüksek basıncın oluşturduğu morbidite ve mortalite ile ilgilidir (37). Genç yaş grubunda hipertansiyonun etkilerinin tipik olarak oluşmaması nedeniyle çocukluk çağı hipertansiyonun tanımlanması sağlıklı çocuklardaki normal kan basıncı değerleriyle yapılmaktadır. Çocuklar büyüdükçe kan basınçları da yükselecektir. Günümüzde normal kan basıncı değerleri çocukların yaş, cins ve boyuna göre yapılmaktadır (38). Çocuklarda yaş, cins ve boy persentiline göre kan basıncı değeri 90 persentilin altında ise normal kabul edilmektedir. Sistolik ya da diyastolik kan basıncı 90-95 persentil olan çocuklar prehipertansif olarak kabul edilmektedir. Kan basıncı değerleri 120/80 mmHg olan adölesanlar kan basıncı persentillerine bakılmadan prehipertansif kabul edilmektedir (39). (Tablo 7)

Hipertansiyon sıklığı, kronik böbrek hastalığında , böbrek hastalığının nedenine ve böbrek fonksiyon seviyesine göre değişir ve %60-100 arasındadır (40). Hipertansiyonun patogenezendeki en önemli etkenler, artmış intravasküler sıvı, sempatik hiperaktivite ve buna bağlı renin-anjiyotensin aktivitesindeki artmanın neden olduğu vazokonstriksiyondur (41). Sodyum retansiyonu, intravasküler volüm artışına yol açarak kardiyak atım volümünün

artmasına neden olur. Hipertansiyona neden olan diğer mekanizmalar ise vazodilatatör etkili prostaglandinlerde ve nitrik oksitte azalma; vazokonstriktör etkisi olan endotelinde artma ve sonuç olarak periferik vasküler direncin yükselmesidir (42) (Tablo 8).

	<i>Pediatric tanım</i>	<i>Erişkin tanım</i>
Normal	<90.persentil	<120/80
Prehipertansif	<90.persentilden <95 persentile kadar	120-139/80-89
Evre 1 Hipertansiyon	95. persentilden 99.'uncu persentil + 5 mmHg	140-159/90-99
Evre 2 Hipertansiyon	>99.'uncu persentil+5 mmHg	≥160/100

Tablo 8 : Çocuk ve erişkinlerde kan basıncının sınıflandırılması

2.7.1.2.Anemi

Anemi, çocuklarda ve erişkinlerdeki KBH'nin sık komplikasyonudur. Anemi, KBH'nin erken dönemlerinden itibaren, renal replasman tedavisinden çok önceleri vardır (43). Çocuklarda kronik böbrek hastalığı boyunca demir eksikliği ve eritropoietin yetersizliğine bağlı anemi, sıklıkla görülmektedir. Hematokrit düzeyine bağlı glomerüllerde hemodinamik değişiklikler oluşmaktadır. Artan hematokrit düzeyi filtrasyon fraksiyonunun artmasına neden olmaktadır. Aneminin hipoksiden dolayı böbrek hasarını arttırdığını, serbest oksijen radikallerinin gelişimine neden olarak glomerüloskleroza katkıda bulunduğunu bildiren yayınlar da vardır (44). Yapılan çalışmalarda, evre 2-4 kronik böbrek hastalarında aneminin düzeltilmesinin böbrek hastalığının ilerlemesini yavaşlattığı, çalışma kapasitesini ve yaşam kalitesini artırdığı saptanmıştır. Bununla birlikte aneminin tedavi edilmesi kardiyak fonksiyonları olumlu etkileyerek mortalite üzerinde azaltıcı bir etki göstermektedir (45).

2.7.1.3.Dislipidemi

Glomerüler filtrasyon hızı 50 ml/dk/1.73 m²'nin altına indiğinde lipid metabolizmasında anormallikler görülmeye başlanır (46). Total veya LDL kolesterol yüksekliği, kronik renal hastalık, nefrotik sendrom, periton diyalizi hastaları ve böbrek transplant hastalarında daha fazla görülürken; kronik böbrek hastalığına sahip çocuklarda hipertrigliseridemi ile birlikte düşük HDL düzeyi daha sık rastlanan lipid anormalliğidir (47). Kronik böbrek hastalıklı çocuklar ile yapılan klinik çalışmalarda, hiperkolesterolemi ile kardiyovasküler hastalık arasındaki bağlantının net olmadığı saptanmıştır. En fazla mortaliteye düşük kolesterolün yol açtığı görülmüştür (48). Düşük kolesterol, malnütrisyon ve düşük albümin seviyeleri ile bağlantılı olarak mortaliteyi arttırmaktadır. Lipoprotein, total kolesterol ve LDL'nin aksine bağımsız olarak iskemik kalp hastalığı ve ölümle direkt ilişkilidir (49).

2.7.1.4.Diyabet

Diyabet, KBH'li çocuklarda diyaliz tedavisi ile birlikte ortaya çıkmaya başlar. Diyaliz tedavisine başlanan hastaların yaklaşık %40'ı diyabetiktir. Glisemi kontrolünü sağlamak diyaliz tedavisine başlanan KBH'li çocuklarda daha da zorlaşmaktadır. Diyabetik olan diyaliz hastalarında, diyabetik olmayanlara göre miyokard infarktüsü, konjestif kalp yetersizliği gibi kardiyak hastalıkların ve buna bağlı mortalitenin daha yüksek olduğu saptanmıştır (50).

2.7.1.5.Sigara

Sigara, kronik böbrek hastalarında hastalığın ilerlemesine ve proteinüride artışa neden olmaktadır. Bu etkisinin sempatik sinir sistemi aktivasyonu, glomerüller kapiller hipertansiyon, endotelial hücre hasarı ve direkt tübülotoksik etki nedeni ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenlerden dolayı sigaranın bırakılması kronik böbrek hastalığının ilerlemesini önlemek ve kardiyovasküler riski ortadan kaldırma amaçlı tedavi yöntemlerinden bir tanesi olarak kabul edilmektedir (51).

2.7.1.6.Volüm yüklenmesi

Bu grup hastalarda sol ventrikül diyastol sonu çapı artmıştır ve normal değerinin üstündedir. Hastaların %32-38'inde gerçek dilatasyon görülür. Ventrikül genişlemesi, su ve

tuz retansiyonuna, arteriyovenöz şantlara ve anemiye bağlı olarak gelişir. Volüm yüklenmesi sol ventrikül hipertrofisi oluşumunu hızlandırır (52).

2.7.1.7.Arteriyo-venöz fistüller

KBH'li hastalarda arteriyovenöz fistüller sol ventrikül volüm yüklenmesine neden olurlar. Yayınlanmış olan bir çalışmada, 20 transplant hastasının ortalama fistül akımı 1790 ± 648 ml/dk olarak bulunmuştur. Fistül kapatıldıktan 3-4 ay sonra sol ventrikül diastol sonu çapının 51.5 mm" den 49.3 mm" ye düştüğü, sol ventrikül kitle indeksinin de 135 gr/m²"den 120 gr/m²"ye düştüğü saptanmıştır (53).

2.7.1.8.Homosistein

Hiperhomosisteinemi, kardiyovasküler morbidite için bilinen risk faktörlerinden birisidir ve sıklıkla ilerlemiş KBH'de görülür. Homosistein, metionin metabolizmasının son ürünlerinden biridir, sülfidril grubu içerir ve artmış iskemik kalp hastalığı riski ile ilişkili aterojenik bir aminoasittir (54). Kronik böbrek hastalığına sahip çocuklarda plazma homosistein düzeyleri genellikle yüksektir ve homosistein düzeylerinde artışın kardiyovasküler risk artışına neden olduğu saptanmıştır (55). KBH'de sık rastlanılan hiperhomosisteinemi endotel aktivasyonunu ve trombozunu uyarmaktadır (56). Böbrek fonksiyon bozukluğunda homosistein artışında rol oynayan faktörün klirensinde azalma olduğu belirtilmişse de henüz kesin bir kanıt yoktur (57). Bu hastalarda folik asit desteği ile homosisteineminin tedavisi yapılmalıdır (58).

2.7.1.9. İnflamasyon

Üremi, inflamatuvar sitokinlerin salınımını uyarabilir niteliktedir (59). İnflamasyon, kardiyovasküler hastalıklar ve mortalite için genel popülasyonda ve SDBH'de önemli bir risk faktörüdür (60). Hs-CRP düzeyinin yüksek oluşu ve diğer inflamasyon göstergeleri kardiyovasküler kalsifikasyon skorlarıyla da pozitif korelasyon gösterir (61). IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler, LDL kolesterol partiküllerine enzimatik olarak bağlanarak intima-media arasında birikir, daha sonra kompleman sistemini aktive eder ve monositlerin aterosklerotik lezyonlara gelmesine neden olur (62). İnflamasyon dolaşımdaki fetüin-A gibi bazı faktörleri etkileyerek yumuşak doku ve vasküler kalsifikasyon gelişimini kolaylaştırabilir (63). Kronik inflamasyon, KBH'ye sahip bireylerde ve diyaliz tedavisi uygulananlarda sık

görülen bir durumdur. SDBH'ye sahip çocuklarda, dolaşımdaki nötrofillerde oksidatif metabolizmanın arttığı bildirilmiştir (64).

Üremik hastalarda inflamasyon ve oksidatif stres birlikte artmaktadır. Oberg ve ark. (65) evre 3-5 kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda inflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerinin sağlıklı insanlara göre artmış olduğunu göstermişlerdir. Üremide artmış olan oksidatif stres ve inflamasyon, üremik hastalarda kardiyovasküler mortalite ve morbidite artışından sorumlu olabilir. Üremik hastalarda yüksek inflamasyon göstergelerinin (özellikle IL-6 ve hs-CRP) gelişecek olan kardiyovasküler mortalite ve morbidite için bağımsız ve güçlü bir prediktör olduğunu gösteren çalışmalar vardır (66).

2.7.1.10. Kalsiyum / Fosfor metabolizması

KBH'nin erken dönemlerinden itibaren ortaya çıkan kalsiyum-fosfor metabolizması değişiklikleri kardiyovasküler sistemi olumsuz yönde etkiler. Böbreklerden yeterli fosfat atılamamasıyla ortaya çıkan hiperfosfatemi, sekonder hiperparatiroidi patogenezinde asıl rolü oynar. Serum kalsiyum ve fosfor düzeylerinin çarpımının ($Ca \times P$) yüksekliği ile birlikte hiperfosfatemi, plazma ve doku pH değişiklikleri ve sekonder hiperparatiroidi, kronik böbrek hastalığında doku kalsifikasyonu oluşumunda en önemli risk faktörleridir (67,68). Ek olarak, hiperfosfatemi ve artmış $Ca \times P$ değeri hemodiyaliz hastalarında artmış mortalite ile ilişkili olduğu saptanmıştır (69). PTH seviyeleri yüksek olan hastalarda mortalite oranının görülmüştür. KBH'de hiperfosfateminin yeterli şekilde kontrol edilmesi mortalitenin azaltılması açısından önemlidir.

2.7.1.11. Vasküler kalsifikasyon

Vasküler kalsifikasyon, özellikle son dönem böbrek hastalığı ve diyabet hastalarında kardiyovasküler hastalık mortalitesi ile yüksek oranda korelasyon gösterir. Kardiyovasküler yapıların patolojik kalsifikasyonu SDBH ve kardiyovasküler hastalıkta dahil olmak üzere bir grup hastalıkla ilişkilendirilmiştir (70). Kalsiyum fosfat depolanması, vasküler

kalsifikasyonun özelliğidir ve damarlar, miyokard ve kalp kapakçıklarında olabilir. Damarlarda kalsifiye katmanlar tabakaların arasında bulunur ve altta yatan patolojiyle ilişkilidir. Aterosklerotik lezyonlarda intimal kalsifikasyon görülürken (71) mediyal kalsifikasyon yaşlılık, diyabet ve SDBH ilişkili ateroskleroz ve damar kalınlaşmasında görülür. İntimal kalsifikasyon, mediyal kalsifikasyondan bağımsız olarak olabildiği gibi, bunun tam tersi de olabilir. SDBH olan hastalarda etkilenen damarlarda intimal ve mediyal kalsifikasyonun karışımı gözlenebilir (72).

2.7.1.12.Hipoalbüminemi

Hipoalbüminemi inflamasyon, malnütrisyon ve renal kayıplarla ilişkilidir. Hemodiyaliz hastalarında prognozu belirleyen en önemli belirleyici faktör olarak gösterilmektedir. Sol ventrikül hipertrofisi ile doğrudan ilişkilidir. De novo kalp yetmezliği ve *de novo* iskemik kalp hastalığına hipoalbüminemi zemin hazırlar (73).

2.7.1.13.Albüminüri

Böbrek hastalıkları sadece glomerüler filtrasyon değerinde azalma ile karakterize edilmemelidir. Anormal miktarda üriner albümin atılımının olması da böbrek hastalığının bir bulgusudur. Daha da önemlisi üriner albümin atılımı güçlü bir kardiyovasküler risk belirteçidir. Albüminüri ile kardiyovasküler olaylar arasındaki ilişki öncelikle makroalbüminüri (>300 mg/g) düzeyde saptanmıştır (74). Daha sonralarda ise risk artışının mikroalbuminüri (30-300 mg/g) düzeyinde de olduğu bildirilmiştir. (75) . Bazal albumin atılımı ile kardiyovasküler olay arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla Anavekar ve ark. (76) yaptığı çalışmada kardiyovasküler ölüm, ölümcül olmayan kalp krizi ve kalp krizi nedeniyle hastaneye yatış, koroner ve periferik revaskülarizasyon ile ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

2.7.1.14.Malnütrisyon

Protein enerji malnutrisyonu, klasik olarak yetersiz besin alımına bağlı olarak ortaya çıkan zayıf beslenme durumu olarak tanımlanır. Protein-enerji malnütrisyonu diyaliz hastalarında özellikle son yıllarda önemi daha iyi anlaşılan, hastalığın mortalite ve morbiditesini önemli oranda etkileyen bir klinik durumdur. Beslenme durumunun hemodiyaliz hasta popülasyonunda yaşam kalitesi, morbidite ve mortalite ile güçlü bir şekilde

ilişkili olduğu pek çok çalışmada ortaya konulmuştur (77,78). Hemodiyalize giren 12000 hastanın sonuçları değerlendirildiğinde hastaların %25'nin serum albumin düzeyinin 3,7 g/dl'den düşük olduğu saptanmıştır (79). SDBH'ye sahip bireylerde hipoalbuminemi ve mortalite arasında oldukça güçlü bir ilişki olduğunu savunan Kanada'da yapılan bir çalışmada; ortalama albümin seviyesi hemodiyaliz hastalarında $3,9 \pm 0,4$ g/dl periton diyalizi hastalarında $3,5 \pm 0,5$ g/dl bulunmuştur. Hemodiyaliz hastalarında ortalama albümin seviyesinde 1 g/dl düşüş ile kalp yetmezliği, iskemik kalp hastalığı, kardiyak mortalite ve genel mortalite arasında bağımsız ilişki olduğu belirtilmiştir (80). Kronik böbrek hastalığına sahip bireylerde beslenmeyi etkileyen başlıca faktörler içinde; metabolik asidoz, yetersiz diyaliz, diyaliz işlemi sırasında olan kayıplar, biyouyumsuzluk, hormonal değişiklikler (insülin direnci, artmış glukagon konsantrasyonu ve sekonder hiperparatiroidizm) ve anemi sayılmaktadır. Kronik böbrek yetmezliğinde gelişen hormonal değişikliklerin de malnütrisyon gelişimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. En çok üstünde durulan değişiklikler; insülin direnci, artmış glukagon konsantrasyonu ve sekonder hiperparatiroididir. Dokularda gelişen post reseptör defekti karşımıza insüline karşı yantısızlık ve glukoz intoleransı olarak çıkmaktadır. Sekonder paratiroidizmin de pankreas hücrelerinden insulin salınımını engelleyebileceği öne sürülmektedir (81). Diyaliz hastalarında ise yetersiz beslenme kardiyovasküler olaylar için en yaygın risk faktörlerinden birisidir (82,83). Bu konvansiyonel kardiyovasküler risk faktörleri ile diyaliz hastalarının klinik sonuçları arasındaki ters ve paradoksik ilişki, ters epidemiyoloji (84) olarak bilinmektedir. KVH açısından toplumda risk faktörü olarak kabul edilen artmış total kolesterol ve LDL seviyeleri, artmış vücut kitle indeksi ve eşlik eden artmış enerji alımı, serum kolesterol düzeylerinde hafif- orta derecede artış diyaliz hastaları için risk faktörü değildir (85). Diyaliz hastalarında tam tersi şekilde kolesterol seviyesinin düşük olması vücut kitle indeksinin düşük olması ve enerji alımındaki azlık mortalitenin artışıyla birlikte (86).

2.7.2. Patofizyolojik mekanizma

Kronik böbrek hastalarında kardiyovasküler riskin artışı kısmen hipertansiyon ve diyabet gibi “geleneksel” risk faktörleri yüzündendir. Kardiyovasküler riskin böbrek fonksiyonları ve albumineri ile ilişkisi bu “geleneksel” risk faktörlerinden bağımsızdır (87). Böylece geleneksel olmayan böbrek-spesifik mekanizmaların kardiyovasküler riske katkısı

vardır. Bu mekanizmaların aydınlatılması KBH de kardiyovasküler riskin azaltılma yollarını ortaya çıkarır (88).

Hipertansiyonun KBH de güçlü bir risk faktörü olduğu iyi bilinir. Yine de bu etki-tepki birleşmesi aynı zamanda karşıt yönlerde olabilir. Hatta erken KBH evresi hipertansiyona neden olabilir (89).

Erken veya ilerlemiş KBH’de sol ventrikül hipertrofi (SVH) prevalansı yüksektir. GFR’si 30mL/min ‘dan düşük hastalarda neredeyse %50’sinde SVH görülür. Hipertansiyon dışında renal anemi ve yüksek vasküler kalınlık kronik rezervi azaltmada öncülük eden SVH’nin gelişmesinde birincil rol üstlenir. Endotel nitrikoksit ekspresyonu kronik endotel disfonksiyonu mekanizmasını azaltıcı yönde regüle eder (90). Histolojik olarak SVH, kontraktileti bozduğu düşünülen miyokardiyal fibrozis ile karakterize edilir. SVH’nin yüksek prevalansı kardiyak ritmin bozulmasıyla bağlantılıdır ve KBH’de ani kardiyak ölümlerin sebebinin açıklayabilir niteliktedir. Genel popülasyonda ani kardiyak ölümler yılda 1000 hastada 1’dir bu da genel ölümlerin % 6-13’üne denk gelir. Oysa KBH’li hastalarda 1000’de 59 kişidir ve genel ölümlerin %26 sına denk gelir (91).

Yüksek prevalanstan dolayı SVH normal olmayan elektrolit konsantrasyonu ve kronik arter hastalığının yüksek prevalansı KBH’de ani kardiyak ölümlerin predispozan faktörleridir (92).

Dislipidemi ve düşük seviyede enflamasyon aynı zamanda KBH sonucu oluşur. Böbrek fonksiyonu bozuk ve yüksek albüminüri hastalarda lipid profili aterosklerotik olmaya başlar ve kısmen defektif HDL fonksiyon ve LDL kolesterolün yüksek miktarda oksidasyonuna yol açar (93). KBH’de yüksek sistemik enflamasyon mekanizması henüz tam bilinmemektedir. Fakat inflamatuvar araçların yüksek miktarda üretimi oksidatif stres, postsentetik modifiye proteinlerin birikimine ve normal renal fonksiyonları bozan toksinlerin artmasına katkıda bulunduğu bilinmektedir (94,95).

KBH de kardiyovasküler riski artıran diğer faktörler renin-angiotensin sistem artışı ve sempatik sinir aktivitesidir. Angiotensin superoksit, IL-6 ve diğer sitokinlerin artmasına sebep olur. Vasküler kas kasılmasını platelet agregasyonunu ve endotele lökosit adezyonunu içeren nitrikoksitin biyoayarlanımı düşmeye başlar. Renalaz aktivitesi KBH’ de düşüktür (96). Bu enzim böbrek tarafından üretilir ve katekolaminleri inaktive eder. Tüm bu vazoaaktif faktörler endotel fonksiyonunu etkiler. Albuminüri bunun göstergesi olarak yorumlanabilir fakat aynı zamanda endotel fonksiyonunu bozmaya katkı sağlar. Endotel fonksiyonunun diğer bir önemli faktörü de asimetrik dimetilarginin olarak görülür (97). Böbrek fonksiyonlarının azalmasıyla

birlikte konsantrasyonunun artması KBH' li hastalarda kardiyovasküler komplikasyonlara ve mortaliteye neden olur. Asimetrik dimetilarjinin nitrikoksidin üretimini inhibe eder kardiyak çıktılarını düşürür ve sistemik vasküler direnci ve kan basıncını düşürür. Asimetrik dimetilarjinin yükselmesi ve sempatik yüksek aktivite KBH' de sol ventrikül hipertrofiyle yüksek derecede bağlantılıdır. Ateroskleroz ve valvüler kalp hastalığı KBH'li hastalarda erken evrelerde sıklıkla görülür (98,99). Yapılan çalışmalar antihipertansif tedavilerin KBH'de kardiyovasküler risk faktörlerini azaltmada daha etkili olduğunu göstermiştir (100).

2.7.3.Arteriyal Kalınlık Parametreleri ve Kardiyovasküler Risk Arasındaki Bağlantı

Arteriyal kalınlık parametrelerinden olan Augmentasyon İndeksi (AIx), Pulse Wave Velocity (PWV) ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki bağlantı incelendiğinde; normal anjiyogramlı hastalarda arteriyal kalınlık önemli ölçüde düşüktür (Düşük PWV ve AIx) (101). Dahası, kronik damarlar da etkilenmiş ve nispeten PWV ve AIx yüksek saptanmıştır. Bu da KBH'li hastalarda büyük damar uyumunun kaybına neden olur ve kronik aterosklerotik tutulum derecesi arasında paralel bir durum oluşturur. Aterosklerotik tutulum ve arteriyal kalınlık arasında güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Özellikle AIx yüksek oranda yüksek sensitivite ve spesifiteyi tahmin etmede kullanılır (102,103).

Yapılan çalışmalar, arteriyal kalınlığın renal popülasyonda en güçlü bir kardiyovasküler prediktör olduğunu göstermiştir. KBH hastalarında renal hasarın yüksek PWV ve AIx değerlerine sahip olduğu ve bunda yüksek kardiyovasküler mortaliteye neden olduğu saptanmış ve yayınlanmıştır (104).

Yüksek arteriyal kalınlığı olan KBH hastalarında SVP ve sol ventrikül kitle indeksi (SVKİ) artışı arasında güçlü bir bağlantı vardır (105).

Augmentasyon döngüsünün etkileri hemodinamik strese, aynı zamanda endotelial fonksiyonun bozulmasına ve aterosklerotik lezyonun indüklenmesine neden olur. AIx, yüksek arteriyal kalınlık için bir parametredir. Ciddi kronik hastalık ve arteriyal kalınlıkla bozulan arteriyal yapı KBH'de ateroskleroza benzer bir prosese sahiptir (106).

Benzer olarak genel popülasyonda KBH'de karotis intima media kalınlığı (CMT) kronik arter hastalığı ve aterosklerotik tutulumla güçlü bir bağlantı içindedir ve mortalite ile kardiyovasküler hastalıklar için güçlü bir prediktördür. Son zamanlarda KBH'de iki önemli

prosesse dikkat edilmelidir. Bunlar kalsifikasyon ve kronik enflamasyondur. Kroner arter kalsifikasyonu KBH olmayan kardiyovasküler hastalıkla karşılaştırıldığında yaygındır ve ilerlemiştir (107,108).

2.8. İmmün Tolerans ve Regülatör T Hücreleri

Bağışıklık sistemi enfeksiyona neden olan ve vücuda çeşitli yollardan girebilen mikroorganizmalarla savaşılabilmesi için oluşmuş bir sistemdir. Bağışıklık sistemi algılar, tanır, öğrenir ve hatırlar. En önemli özelliği, dışarıdan giren saldırganlara karşı (virüs, bakteri, mantar, parazit ve diğer çok çeşitli zararlı kimyasal madde içerenler) cevap oluşturmasının dışında, kendi antijenlerine karşı da cevapsız kalmasıdır. Yani kendisinden olanı, olmayandan ayırt edebilmesidir. Genel bir deyişle bağışıklık sistemi doğada olan veya yeni oluşan bütün antijenik özelliğe sahip maddeye, özgül yanıt geliştirebilme özelliğine sahiptir (109, 110). Bağışıklık sisteminin antijeni tanıması ve yanıt verebilmesi için kullandığı iki ayrı yol vardır. Bu yollardan ilki, doğal (innate = non-spesifik) bağışıklık ile sağlanır. Bu bağışıklık sistemi yabancıyı özgül olarak tanımaz. Bunun için bazı patern tanıyıcı reseptörler kullanır (Toll-like reseptörleri, çöpçü reseptörleri gibi). Bağışıklık sisteminin antijeni özgüllüğüne göre tanıdığı diğer yol ise, sonradan kazanılan (adaptif) bağışıklık sistemidir. Bu sistemde ise, özgül tanıma işlemlerini, adaptif bağışıklık sisteminde bulunan T ve B hücrelerinin reseptörleri sağlar. Yabancı madde bu yollarla tanındıktan sonra, ajana yönelik aktif moleküllerin yapımı ve hazırda olanların aktive edilmesi gerekir (kompleman sistemi, sitokin salınımı gibi) (111,112). Daha sonra kemotaksis yolu ile bağışıklık sisteminin diğer etkin hücreleri (nötrofiller, eozinofiller, monosit veya makrofajlar, lenfositler, doğal öldürücü hücreler) ajanın girdiği bölgede toplanır ve fagositoz, sitotoksite, apoptozis tetiklenmesi, hücre lizisi gibi yollarla etkin olurlar (113). Çok genel bir bakışla irdelenirse bağışıklık dizgesi 4 önemli aşamada görevini tamamlamaktadır. Bu evreler şöyle özetlenebilir:

1- Antijen tanınması ve antijene özgül tanımanın T ve B lenfositlerin yüzeyinde bulunan reseptörler aracılığıyla olduğunu biliyoruz.

2- Ajana yönelik yanıtta önemli rol oynayacak aktif moleküllerin yapımı veya zaten hazır olanların aktive edilmesi. Burada, hazır olanlar için kompleman sistemini, yeni yapılanlar için antikorları, interlökinleri (IL-1, IL-2, IL-8, interferon), kemotaktik faktörler, mast hücrelerinden salınan lökotrienler ve diğer birçok aktif maddeleri sayabiliriz.

3- Etkin hücrelerin (nötrofiller, eozinofiller, monosit veya makrofajlar, lenfositler, öldürücü lenfositler v.b.) ajanın girdiği bölgede toplanmaları. Genel anlamıyla kemotaksis olarak tanımlayabileceğimiz olay ajanın tipine göre ayarlanmaktadır.

Örneğin; paraziter olaylarda daha çok eozinofiller bölgeye gelirken bakteriyel olaylarda nötrofillerin gelmesi gibi.

4- Ajanın fagositoz (nötrofiller, eozinofiller, monosit-makrofajlar), sitolizis (kompleman sistemi), hücresel toksisite (T lenfositleri, doğal öldürücü hücreler, monosit-makrofajlar) gibi mekanizmalarla yok edilmesi (114).

Bağışıklık sisteminin hücreleri, kemik iliğinden köken alırlar. Kemik iliğinde oluşan hücreler, gelişimlerini tamamlamak için periferi çıkarak farklı dokulara yerleşirler (115). Gelişimleri esnasında da bağışıklık sisteminin kendinden olanı olmayandan ayırt edebilmesi için, eğitimden geçerler. Bu sayede kendi (self) antijenlerine karşı cevapsız kalabilirler. İmün sistemin, kendi antijenlerine karşı cevapsız kalmasına immünolojik tolerans denir. İmmünolojik toleransta rol oynayan kazanılan bağışıklık sisteminin T ve B lenfositleridir. İmmünolojik toleransın işleyişini bilmek bazı faydalar sağlar(116,117).

1- Kendi antijenimize karşı tolerans oluşturabilmek

2- İstenmeyen immün reaksiyonları kontrol edebilmek (allerji, otoimmün hastalıklar, organ nakilleri vb.). İki şekilde tolerans sağlanır.

1- Merkezi tolerans

2- Periferik tolerans

2.8.1. Merkezi Tolerans

Merkezi tolerans, kemik iliğinde B hücreleri ve timusta T hücrelerinin erken farklılaşması sırasında meydana gelir. Normalde gelişimin erken safhalarında kendi epitoplarına bağlanan hem B hem de T hücreleri apoptotik ölümle karşılaşır ve sonuçta potansiyel olarak öze-tepkili olan hücrelerin çoğu dolaşıma katılmadan önce ortadan kaldırılır (118). Merkezi toleransta ortaya çıkan ana uyarı, primer lenfoid organlarda öz epitopların, özellikle lenfogenezden sonra öz epitopların tamamının bulunmamasıdır. Bu bağlamda otoreaktif hücrelerin vücuda hasar vermelerini önlemek için başka araçlara ihtiyaç vardır (119).

2.8.2. Periferik Tolerans

Topluca periferik tolerans olarak adlandırılan çeşitli ek mekanizmalar, otoreaktif B ve T hücreleri kemik iliği veya timustan çıkışları sonrasında kontrol eder veya ortadan kaldırır. Bu mekanizmalardan biri anerji diğeri de baskılamadır (120).

Anerji: THR'lerin, ASH yüzeylerindeki uygun bir pMHC1'e veya pMHC2'ye bağlanması, T hücrelerinin aktivasyonu için ilk sinyali sağlar fakat T hücreleri ASH'lerden ikinci sinyali de aktivasyona devam edebilmek için almak zorundadır. Naif CD8+ T hücreleri ASH'ler ve ASH olmayan hücreler üzerindeki öz pMHC1'leri tanıyabilir ve bunlara bağlanabilirler. ASH olmayanlara bağlanmada, THR'lerin pMHC1 ile birleşmesi ilk sinyali sağlar fakat ikinci sinyali sağlamaz. İkinci sinyalin yokluğunda ilk sinyalin alınması naif T hücrelerinin anerji olarak bilinen bir inaktiflik duruma girmesine neden olur (121,122).

Baskılama: Öz epitoplara tolerans düzenleyici hücreler tarafından da sağlanabilir. Bu düzenleyici etkilerin moleküler temeli hala belirsizdir, fakat çoğu durumda düzenleyici hücreler T hücreleridir. Örneğin;

- CD4+CD25+FoxP3+ T hücreleri birçok epitop tarafından uyarılan T hücrelerinin aktivitesini azaltır. Enflamatuvar hastalık gelişiminin engellenmesinde önemli rollere sahip oldukları saptanmıştır.
- Bazı CD8+ T hücreleri, otoreaktif tip IV aşırı duyarlılık yanıtlarını da içeren tepkilere aracılık eden CD4+ T hücrelerinin aktivasyonu ve çoğalmasını engelleyebilir.
- Antikor yapımını engelleyen CD8+ ve CD4+ T hücre alt grupları çeşitli modellerle gösterilmiştir (123).

2.9. T Lenfosit Toleransı

2.9.1. Periferik T Lenfosit Toleransı

Kemik iliğinde oluşup timusta olgunlaşan T lenfositler perifere çıkarlar. Periferik dokularda self antijenin tanınması ile bu antijenlere karşı bir duyarsızlık oluşur (anergi) ve apoptozis ile T hücrelerinin ortadan kaldırılması gerçekleşir. T hücrenin aktivasyonu için en az iki sinyal gerekir. MHC üzerinde sunulan peptidin algılanması, ikincil ek uyarıcı sinyallerin varlığı (CD28, CD80, CD86 birleşimi, sitokinlerin varlığı gibi...) gerekir. İkincil sinyali olmayan T hücresi peptidi algılasa bile etkin hale geçmeyecek ya anejrik kalacak ya da apoptozise gidecektir. Ayrıca aynı peptit tarafından tekrarlayan uyarılar alan T hücresinde aktivasyonu izleyen apoptozise (AID) yönelme düzeneği yeterli aktivasyon ve anti apoptotik sinyal alamayan T hücresinin ölümü ile sonlanacaktır (124,125). Ayrıca timusta eğitimden geçen hücrelerin bir kısmı perifere çıkarken düzenleyici T hücrelerine dönüşerek çıkarlar. Bu hücreler self antijene veya saldırganı karşı oluşan T hücre aktivasyonunu sitokin yolu ile veya direkt temas yolu ile baskılayabilirler.

Düzenleyici T hücreler olarak da adlandırılan bu hücreler hem timusta hem de periferde oluşabilirler. Bu hücrelerin çoğunun CD25 (IL-2 reseptörü) molekülü gösterdikleri bilinmektedir. Bu hücrelerin bağışıklık sistemi nasıl inhibe ettiği konusunda çok az şey bilmekteyiz. Bazı düzenleyici ya da baskılayıcı T hücreleri TGF- β ve IL-10 gibi sitokinlerle makrofajların veya lenfositlerin aktivasyonunu inhibe edebilmektedir. Ayrıca direkt olarak diğer lenfositlerle ve antijen sunan hücrelerle (APC) de temas kurarak inhibitör etki yaratabilmektedirler (126).

CD4+CD25+ T hücreler diğer hücreler gibi kemik iliğinden köken alıp T hücre reseptörü (TCR) eksprese edip hem timus içinde hem de timus dışında bulunabilirler. Ontogenisi diğer T hücreleri gibi açık ve net değildir. Agonist ligand birlikte ifade eden TCR-transgenik farelerdeki gözlemler, TCR transgeniklerde CD4+CD25+ T hücre sayısının üretimini desteklemektedir (127). Başlangıçta, kolitisin kontrolünü sağlayan hücrelerin transfer edilen CD4+ CD45RB yüksek hücreler olduğu sanılıyordu. Ancak daha sonra bu hücrelerin CD25 eksprese eden CD4+ CD45RB düşük hücreler olduğu anlaşılmıştır. (CD45, T ve B hücrelerinde bulunur naiflerde yüksek, aktive ve hafıza hücrelerinde düşük eksprese edilir. Hematopoietik hücrelerde ve özellikle de timositlerde eksprese edilir) (128).

Baskılayıcı T hücreleri ilk defa 1970'lerin başında farelerde tespit edilmiş ve antijen spesifik baskılayıcı faktörlerin salgılanması ile supresyona neden olduğu düşünülmüştür (129). Daha sonra ise insanlarda Treg hücrelerinin non-spesifik mekanizma ile supresyona neden olduğu tespit edilmiştir. Düzenleyici T hücrelerinin yüzey belirteçleri fazla olmadığından dolayı izolasyonlar güçtür (130).

2.10. İmmün Sistem Kontrolünün Mekanizmaları ve Düzenleyici T Hücreleri

Sakakura ve Nishizuka 1969 yılında (131) çalışmalarında otoimmün hastalıklarda bir hücre tipinin etkinliğinden bahsetmişlerdir. Dick Gershon ise 1970 yılında (132) bu hücre tipini baskılayıcı hücre olarak adlandırmıştır. 1995 yılında Sakaguchi (133), IL-2'nin (α) alfa zinciri olarak bilinen CD 25'in CD4+ T hücrelerinin immünolojik toleranstaki rolünü göstererek yıllarca süren bir tartışmaya açıklık getirmiş ve araştırılması gereken yeni soruları ortaya koymuştur. Sakaguchi (133) CD25+ taşıyan fare hücrelerini ortamdan uzaklaştıran PC61 adlı monoklonal antikoru geliştirmiş ve bu antikoru BALB-c nu/+ farelerin dalak ve lenf nodlarından hazırlanan CD25+ taşıyan CD4+ T hücrelerini ortamdan uzaklaştırmak için kullanmıştır. CD25 taşımayan süspansiyonu, BALB-c atimik nude (nu/nu) farelerine adoptif transfer ederek farelerin birçok otoimmün hastalık geliştirdiğini ortaya koymuştur. CD4+ CD25+ T hücrelerinin aynı farelere adoptif transferi ile otoimmün hastalıkların engellendiğini göstermiştir. 2001 yılında, bu çalışma sonrası CD4+ CD25+ T hücreleri "Düzenleyici T hücreleri" olarak adlandırılmış ve yeni bir T hücre alt grubu olarak ortaya konulmuştur.

Baskılayıcı hücreler zaman içerisinde CD4+ CD25+ düzenleyici T hücreleri (Treg) olarak anılmaya başlanmıştır (134). Düzenleyici hücreler CD4+ CD25+ Foxp3+ olarak

timustan köken alarak gelişirler ve dolaşımında yaklaşık %8-10 civarında bulunmaktadır. Vücutta gelişen otoantijenlere karşı oluşacak immün yanıtı baskılayarak, otoimmün hastalıkları engellemektedirler. Timustan gelişerek primer lenf nodlarına ulaştıklarında tekrar otoantijenlere karşı aktive olurlar ve bölünerek antijen spesifik olarak çoğalırlar. Doğal CD4+ CD25+ Foxp3+ T hücrelerinin fonksiyon bozukluğunda ya da genetik olarak Foxp3'e müdahale edildiğinde IPEX (immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-Linked syndrome) meydana geldiği, bunun birçok otoimmün hastalığı ortaya çıkardığı ve şiddetli alerjik reaksiyonlara yol açtığı gözlenmiştir (135, 136).

CD4+CD45RBdüşük popülasyon içinde CD25- hücrelerde düzenleyici aktiviteye sahip hücreler olarak tanımlanmıştır (137). Son günlerde Treg hücrelerinin IL-10 ürettiği ve TGF-β salgıladığı belirtilmiştir. Bu hücreler kültürde üretilmiş ve CD25 eksprese etmiş hücrelerdir. IL-10 Treg hücreleri in vitro koşullarda naif T hücre çoğalmasını inhibe eder, lenfopenik konakçılarda in vivo koşullarda deneysel olarak otoimmüniteyi baskılar ve CD4+ CD8+ T hücre sayısını kontrol eder (138,139).

Düzenleyici T hücreleri başlıca iki grup altında incelenmektedir (140). Bir grup doğal CD4+ CD25+ düzenleyici T (nTreg) hücreleri olarak adlandırılmıştır. n Treg'ler, timusta üretilip baskılayıcı T fonksiyonlarını periferde antijenle karşılaşmadan önce kazanmaktadırlar. nTreg'ler TCR pozitif seleksiyon sonrası sınıf II MHC (majör histocompatibility complex) öz (self) peptidlere kuvvetli olarak bağlanan hücre tipidir (141). Bir diğer grup ise adaptif Treg olarak adlandırılan ve periferde belirli şartlar altında oluşan hücre tipidir. Daha sonra konu üzerinde yoğunlaşan çalışma ve gözlemlere diğer düzenleyici hücre tipleri belirlenmiştir. Bunlar CD4+ CD25+ Foxp3+ T, IL-10 salgılayan Tr1, TGF-β salgılayan Tr3, Qa1-restricted CD8, CD8+ CD28- T, CD8+ CD122+ T, ve doğal öldürücü T hücreleri olmak üzere birçok alt sınıfta detaylı olarak incelenmiştir (142, 143). **(Tablo).** CD25 hücre yüzey belirteci aktive olmuş T hücreleri ve bir çok hücre tarafından taşınmaktadır. Bu yüzden düzenleyici T hücrelerini, CD 25 taşıyan diğer hücre tiplerinden ayırmada farklı belirteçlerin varlığına ihtiyaç duyulmuştur. Bunlardan en önemlisi forkhead winged helix P3 (Foxp3) transkripsiyon faktörüdür. Foxp3-/- farelerin otoimmün hastalıkları geliştirdiği düzenleyici T hücrelerinin ortaya çıkarılmasından önce bilinmekteydi. 2003 yılında Hori ve arkadaşları (144) yaptıkları çalışmada naif T hücrelerini Foxp3'ü kodlayan geni taşıyan retrovirüslerle transdükte ettiklerinde, naif T hücrelerinin düzenleyici T hücrelerine dönüştüğünü göstermiş ve sitotoksiste deneyleri ile in vivo ve in vitro etkinliklerini bildirmişlerdir. Yapılan diğer

alışmalarla Treg hücrelerini diğerk hücrelerden ayırmak için kullanılan ilave belirteçler GITR, PD-1, CTLA-4, CD40, B7-H1, B7-H4, OX40, Fr-4 ortaya konulmuştur. (145, 146).

Bilinmelidir ki Treg hücreleri immün cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynamalarının yanında yardımcı T tip1 (TH1) ve tip2 (TH2) hücrelerinin salgıladığı sitokinler de immün sistemin düzenlenmesinde önemli rol oynarlar.

2.10.1. Doğal olarak oluşan CD4+CD25+ Treg hücreleri

Bu hücreler CD4, CD25, FoxP3/winged-helix transkripsiyon faktörü, CTLA-4, GITR galectin-1, CD38, CD62L, CD103, NTFR2, TGF-BR1, CD5, L-selectin ve CD45RO gibi yüzey reseptör moleküllerini eksprese etmektedirler. nTreg hücreleri tanımlamada en çok kullanılan belirteç CD25 molekülüdür. FoxP3, nTreg hücrelerin göreceli olarak fonksiyonel belirtecidir. FoxP3, nTreg hücrelerin fonksiyonu kadar üretiminde de gerekli olan en kritik moleküllerden biridir. FoxP3 bozukluğu gelişen farelerde bir çok organda otoimmün hastalık gelişmektedir (147,148).

Periferik dolasına geçerek kendi antijenik yapılarını tanıyan T lenfositlerin (otoreaktif) fonksiyonlarını baskırlar, böylece otoimmün hastalıkların gelişimini engellemektedirler. Bu etkinin mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemekle birlikte nTreg hücreler doğal immün sistem hücreleri kadar kazanılmış immün sistemdeki hücreleri de etkilemektedir. nTreg hücreler CD4+ ve CD8+ lenfositlerden çoğalmasını ve bu hücrelerin sitokin üretimini baskılama yeteneğine sahiptirler. Doğal immün sistemin hücreleri olan dendritik hücreler ve monositler de bu hücrelerin hedefleridir. nTreg hücrelerin baskılayıcı fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesi için nTreg hücreler ile hedef hücreler arasında HLA uyumu mutlak gerekli değildir fakat TCR ve IL-2 uyarısı gerekmektedir. Hücreler arası etkileşiminde LAG-3'n önemli olduğu gösterilmiştir. nTreg'lerin hedef hücrelerdeki negatif sinyal molekülü olan B7'ye bağlanmayı da etkiliyor olabilir. Çünkü B7 molekülü olmayan hedef hücreler Treg baskılamasına karşı dirençlidirler. Antijen sunan hücrelerdeki kositimlatr hücrelerin aşağı çekilmesinde nTreg hücrelerin baskılayıcı etkileri için diğerk bir mekanizma olabilir (149). Bütün bulgular dikkate alındığında nTreg hücrelerin immunolojik yanıtları bir çok yoldan engellemesi olasıdır. Yüzey molekülleri ile negatif sinyaller üretmesi, sitotoksik hücre ölümü, antijen sunan hücrelerin fonksiyonlarının düzenini bozulması, diğerk düzenleyici hücrelerin aktivasyonu ve hücre-hücre etkileşimleri ile immün yanıtı etkileyebilir (147).

CD25+ Treg hücrelerinin çatal baslı / kanatlı ve heliks yapısında, adına Foxp3 denilen bir transkripsiyon faktörü eksprese ettiği gösterilmiştir. Bu faktörü CD25- olan ama yine aynı düzenleyici aktiviteyi gösteren diğer düzenleyici hücre alt grubu da CD4+CD25- eksprese etmektedir (148, 149). Bu transkripsiyon faktörü Treg hücrelerinin gelişiminin ve fonksiyonlarının programlanmasında görevli ve Treg hücreleri için önemli bir gösterge olduğundan, hem farelerde hem de insanlarda bu genin mutasyonu ile birçok otoimmün hastalıklar (besin alerjisi, atopy, troiditis, otoimmün endokrinopatoloji vb., insanlarda FOXP3 mutasyonu ile Treg eksikliğinde IPEX hastalığı) meydana gelebilir (150,151). İnsanlarda otoimmün hastalıklar kemik iliği transplantasyonu ile biraz da olsa düzeltilebilmektedir (152). Farelerde CTLA-4 genin yokluğunda Foxp3'ün ektopik ekspresyonu belirgin anlamda hastalığın ilerlemesini durdurabilmektedir (153). Buna ek olarak, düzenleyici olmayan CD4+ T hücrelerine zorunlu olarak Foxp3 eksprese ettirilirse Treg hücrelerinin karakteristik özelliklerini taşımaya başlarlar (kolitisin gastritisin inhibisyonu gibi). In vitro çalışmalarda Foxp3 CD4+ T hücrelere transfer edildiğinde T hücre çoğalmasının durdurulduğu gösterilmiştir (154). Foxp3 geni doğal Treg hücreleri için güvenilir bir belirteç olmasına rağmen, ekspresyonu düzenleyici aktivite gösteren bütün popülasyonlarda gösterilmemiştir. Foxp3'ün timusta sadece spesifik periyotlarda oluşup oluşmadığı ya da periferde mi yukarı çekildiği bilinmemektedir. Son yıllarda CD4+CD25- T hücrelerinin TCR transgenik farelerde RAG-2 eksikliği olan farelerde CD4+CD25+ T hücrelerine dönüşebildiği ve foxp3 eksprese edebildiği gösterilmiştir (155, 156).

CD4+CD25+ Treg hücreleri lenfopenik fareleri barsak hastalıkları ve diyabetten korur ve transplant atılımını engeller (157). IL-10 üreten Treg hücreleri CD4+CD45RBdüşük eksprese ederler. Bu hücreler de kolitis ve allograft atılım gibi hastalıklarda rol oynarlar (158). Başlangıçta CD4+ T hücrelerinde CD45RByüksek eksprese edilmekteydi. IL-10 ve TGF- β , Treg hücrelerinin sadece kolitis değil aynı zamanda otoimmün veya patolojik alerjinin baskılanmasında önemli faktörlerdir. CD4+CD25+ Treg hücreleri hem in vivo hem de in vitro koşullarda naif T hücrelerinin çoğalmasını baskılamakta, buna karşılık, in vivo ortamda IL-10 otoimmünitenin baskılanmasından sorumlu iken in vitro koşullarda gastritisin ve naif T hücrelerinin çoğalmasının inhibisyonu IL-10'a bağlı değildir ve hücre-hücre etkileşimini gerektirir (157, 158, 159). Bu hücre-hücre etkileşimi tam açık olmamakla birlikte aktive CD4+CD25+ Treg'ler üzerine TGF- β 'nın membran bağlı formu olduğu ve T hücre çoğalmasını engellediği düşünülmektedir (159) (Tablo 9).

	nTreg	$\gamma\delta$ T	NKT
Fenotip	CD4 ⁺ CD25yoğun	TCR $\gamma\delta$	CD3,NK1.1,CD56
MHC Kısıtlılığı	YOK	VAR	CD1d
Hücrel proteinler	CTLA4, CD62L, GITR, Foxp-3	TCR	TCR
Köken	Timus	Timus	Timus
CD28'e bağımlılık	Evet	Evet	
Supresyon Mekanizması/ hedef hücreler	Hücrel etkileşim Granzyme B'ye bağımlı TGF β +	Hücrel Etkileşim Sitokinler	IL-4, IL-10, IFN γ , TGF β
in vivo görevi	Öz tolerans, alloreaktif T hücreleri baskılar, öz antijenlere özgül	Mukozal immunité	Doğal immunité
in vivo etkileşimi	in vitro ortamda çoğaltılması zor	TCR	IL-15, Flt3L

Tablo 9 : Doğal Treg hücrelerin özellikleri

2.10.2. Uyarılmış Treg hücreler

Bu hücreler antijenin tanınmasından sonra CD4+CD25- (naif) T lenfositler tarafından periferde üretilir. FoxP3 ve CD25 ekspresyonu yapabilirler ve baskılayıcı özellik kazanır. iTreg'lerin biyolojisi karışıktır ve nTreg'ler kadar iyi anlaşılamamıştır. Ortamda belli bazı sitokinlerin varlığında uyarılan düzenleyici özellik gösteren T lenfositlerdir. iTreg hücreler, naive T lenfositlerin antijen tarafından uyarılması ve ortamda IL-10, IL-4, TGF- β gibi diğer bazı faktörlerin olması durumunda üretilir. Ağızdan ya da burundan antijen verilmesi iTreg'leri uyarır ve iTreg'ler T hücre reseptör sinyallerini değiştirir ya da antijenlerin düşük afinitede tanınmasını sağlar. Tr1 ve Th3 iTreg olmak üzere iki alt grubu vardır (160) (Tablo 10, Şekil 2).

	Tr1	Th3	CD8	CD8	DN
Fenotip	CD4 ⁺ CD25 ^{neg}	CD4 ⁺ CD25 ^{neg}	CD8	CD8 ⁺ CD28 ⁻	TCR ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻
MHC Kısıtlılığı			QA1 (HLA E)	MHC1	MHC1
Hücrel proteinler	CD25 ^{soluk-değişken} CD45Rb ^{düşük} Foxp-3 ^{neg}	CD25 ^{soluk-değişken} CD45Rb ^{düşük}		Foxp-3 ⁺	
Köken	Timus?? nTreg'lerden?	Timus?? nTreg'lerden?	Timus?? Çevre Kanı	Timus??	Timus??
CD28'e bağımlılık			Evet	Evet	
Supresyon Mekanizması/ hedef hücreler	Sitokinler Üzerinden etki, IL-10	Sitokinler Üzerinden etki, TGF- β	Hücrel etkileşim	IL-10, IL-6 IFN γ Hücrel Etkileşim	Hücrel etkileşim
in vivo görevi	Mukozal İmmünite	Mukozal İmmünite		Tümörle indüklenen supresyon	GVHD'nin Allo-Ag spesifik Önlenmesi
in vivo etkileşimi	TCR, IL-10, TGF- β , Vit. D			TCR	MHC-1 Mismatch Hücreler

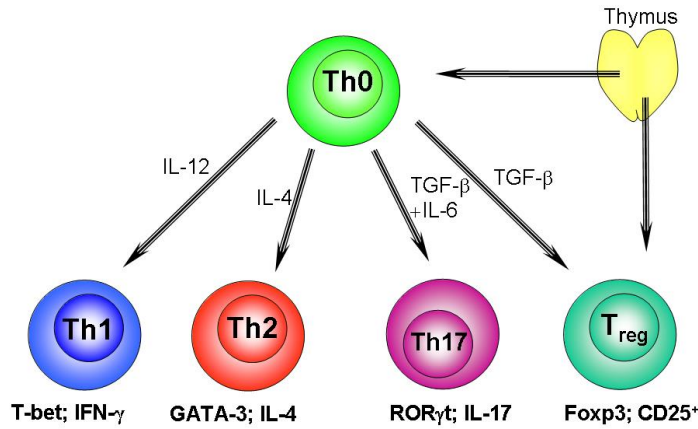
Tablo 10 : Uyarılmış Treg Hücrelerin Özellikleri

2.10.3. Tr1 iTreg hücreler

Fenotip olarak nTreg hücelere benzerler, IL-10 üretimi bu hücelerin ayırt edici özelliği göstermektedirler. Ortamda IL-10 varlığında naif T lenfositlerin farklılaşması ile üretilirler ve IL-10 üretimi ile süpresyon yapmaya çalışırlar. Yüksek düzeylerde CD25 ve FoxP3 üretimi yapamazlar. Hücre hücre ilişkisinin baskılanmasına aracılık edemezler. IL-10 ve düşük seviyelerde TGF- β ve IFN- γ üretmektedirler. Bazı çalışmaları Tr1 iTreg hücelerin B lenfositlerden immünoglobulin yapımını baskıladığını ve dendritik hücre ve monosit gibi antijen sunan hücelerin bu özelliklerini düzenlediğini göstermektedir (161).

2.10.4. Th3 iTreg hüceler

Ortamda TGF- β varlığında naif T lenfositlerin farklılaşması ile üretilirler ve TGF- β üretimi ile süpresyon yapmaya çalışırlar. TGF- β üretimi bu hücelerin karakteristik özelliğidir. TGF- β barsaklarda oldukça yüksek seviyede bulunan bir sitokindir. Ağızdan yabancı bir antijenin alınmasından sonra Th3 iTreg'ler oluşmaktadır. Th3 hüceler, nTreg'lere benzerler ve yüzeylerinde CTLA-4 molekülü taşırlar. FoxP3 ve CD25 üretimi Th3 hücelerin TGF- β ile uyarımından sonra artar. nTreg'lerin aksine etkileri TGF- β üretimine bağımlıdır. TGF- β , Th1 ve Th2 hücelerin proliferasyonunu baskılar. Th3 iTreg hüceler, plazma hücellerinden IgA sekresyonunu uyarmaktadırlar (162).



Şekil 2. T hücelerden farklılaşan T hücre alt grupları.

2.10.5. Diğer Düzenleyici T hüceler

IL-10 ve TGF- β üreten doğal öldürücü (NK) hücreler, __ T hücreler, timustan köken alan CD8+CD25+ T hücreler, CD8+CD28- düzenleyici T lenfositler, _TCRs taşıyan T hücreler, bazı CD4-CD28- lenfositler, antiidiotip aktivitedeki T lenfositler, yaşlı CD4+CD25- T lenfositler ve belli bazı dendritik hücre alt gruplarının düzenleyici özellikleri vardır (163).

2.11. Treg Hücrelerinin IL-10 Üretimi

IL-10 Treg hücrelerinin in vivo olarak hastalıkların baskılanması ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinin sağlayabilmesi için mutlaka IL-10 salgılayabilmesi gerekmektedir. Ancak in vitro koşullarda IL-10 Treg hücreleri IL-10'a bağlı değildir. Görevini yapabilmesi için hücre-hücre etkileşimine ihtiyaç duyar (164, 165). IL-10 Treg ve CD4+CD25+ Treg hücreleri birbirinden bağımsızdırlar.

Doğal olan CD4+CD25+ Treg hücreleri IL-10'un baskılama etkisine ihtiyaç duyabilir ya da duymayabilir. Yani her iki koşulda da çalışabilir. IL-10 üreten Treg hücreleri ise hem in vivo hem de in vitro koşullarda antijen uyarımı ile gelişirler (166, 167, 168). Foxp3 ile transduse edildikten sonra CD4+CD25- Treg hücrelerinde IL-10mRNA'nın CD4+CD25+ Treg hücreleri ile hiç transduse edilmemişlere göre kıyaslanabilir derecede attığı görülmüştür (169). Bu bulgular Foxp3'ün IL-10 üretimini yukarı çektiğini fakat bunu yaparken de IL-10 geninin uyarılması için, Foxp3'ün ekspresyonuna ek olarak, in vivo ek sinyallere ihtiyaç duyduğunu göstermiştir (170). Bu nedenle de IL-10 üretimi ile Foxp3'ün direkt bir etkileşimi söz konusu değildir. IL-10 Treg hücrelerinin hem in vivo hem de in vitro ortamlarda Foxp3 eksprese etmediği gösterilmiştir. Bu özelliği ile klasik Treg hücrelerinden ayrılırlar. IL-10 Treg hücreleri Foxp3 eksprese etmedikleri halde IL-10 salgılayarak bağışıklık sistemini düzenleyebilirler. Bunu da aslında IL-2 ekspresyonunu aşağı çekerek yapmaktadırlar. Dengeyi IL-10 yönüne kaydırması için IL-10 salgısı artmış gibi görünmektedir (171).

2.12. CD4+CD25+FoxP3+ Treg Hücrelerin Moleküler Karakteristikleri

CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücreler CD25, CTLA-4, GITR, Foxp3, İntegrin $\alpha\text{E}\beta 7$, Lenfosit aktivasyon gen (LAG)-3 ve programlanmış ölüm-1 (PD-1)' i kapsayan birçok aktivasyon belirteçleri ile karakterize edilir (172).

2.12.1. CD25

Esas olarak CD25'in yüksek ekspresyonu CD4⁺ CD25⁺ Treg hücrelerinin özelliğidir ve CD25 erken T hücre aktivasyon belirtecidir. CD25 eksik farede kendiliğinden otoimmünite gelişir, fakat bu CD4⁺ CD25⁺ T hücrelerin aşılması ile önlenabilmektedir. Önemli olarak, Foxp3 Treg hücrelerinin fonksiyon ve gelişimi için gerekli bir molekül olmasına rağmen, CD4⁺CD25⁻ efektör T hücrelerde yoktur. Böylece CD4⁺ CD25⁺ düzenleyici T hücreler ile CD4⁺ CD25⁻ T hücreler birbirinden ayrılabilir(173).

2.12.2. GITR (Glucocorticoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor Family-Related Gene)

GITR, TNFRSF18 olarak bilinir, çoğunlukla CD4⁺ CD25⁺ timositlerden eksprese edilir. GITR ekspresyonunun artışı naif T hücrelerde aktivasyonda araştırılmış fakat bu hücreler hiç supresif aktiviteye sahip olmadıkları anlaşılmış. Aksine CTLA-4, GITR, CD4⁺CD25⁺ Treg aracılı supresyonun azalması için gereklidir. GITR eksik farede, GITR'nin CD4⁺ CD25⁻ yanıt veren hücrelerde sorumlu, CD4⁺ CD25⁺ T hücrelerde değildir, CD4⁺CD25⁺ T hücre aracılı supresyon çalışmamaktadır. Ek olarak GITR-L, GITR ile CD4⁺ CD25⁺ Treg hücrelerin geri dönebilen supresyonu interaksyon halindedir (174).

2.12.3. Forkhead Box P3 (FOXP3)

CD4⁺ CD25⁺ Treg hücrelerin tanımlanması ve diğer T hücrelerden farklı olduğu, Treg spesifik transkripsiyon faktör Foxp3'ün keşfi sayesinde desteklenmiştir. Foxp3, Forkhead/ winged-helix ailesinin bir üyesidir. Farede hem timus hem de periferdeki CD4⁺ CD25⁺ T hücre popülasyonunda yüksek eksprese edilir ve ekspresyonu T hücre aktivasyonundan bağımsızdır.

Yüksek Foxp3 ekspresyonu periferik CD4⁺ T hücrelerinde supresör fonksiyon ile indüklenebilir. Bu indüklenen T hücreleri hem anerjik hem de in vitro CD4⁺ CD25⁻ yanıt veren T hücrelerinin proliferasyonunu süprese edebilir. Foxp3, nükleer bir proteindir, in vitro CD4⁺ CD25⁺ Treg hücrelerin izolasyonu için kullanışlı bir belirteç olabilecek değerde limite sahiptir (175). FoxP3, CD4⁺CD25⁺ doğal Treg hücrelerin fonksiyonları ve gelişimlerinde özel bir rol oynamaktadır. FoxP3 periferik CD4⁺CD25⁺ T hücreler ve CD4⁺CD25⁺CD8⁻

timositler tarafından eksprese edilir, diğer timosit, T / B lenfositler tarafından eksprese edilemez (176). Hem insanlarda hem de farelerde CD8+ T hücrelerin ve CD25- T hücrelerin çok küçük gruplarının da FoxP3 ekspresyonu yapabildiği tespit edilmiştir (177) CD4+CD25- T hücreler FoxP3 ekspresyonu yaptıkları zaman hem fonksiyonel hem de fenotip olarak CD4+CD25+ T lenfosit benzeri bir duruma dönüştükleri gösterilmiştir. Bu hücreler in vitro olarak diğer T lenfositlerin supresyonu yapabilir ve in vivo olarak otoimmün hastalıkların gelişimini inhibe edebilirler (178). FoxP3 eksikliğinde T lenfositlerde aktivasyon gelişmektedir. Scurfy fareleri ile karşılaştırıldığında FoxP3 eksikliği olan farelerde T hücrelerin hiperaktif olduğu görülmüştür (179).

2.12.4. İntegrin $\alpha E\beta 7$

$\alpha E\beta 7$ integrin (CD103) CD4+ CD25+ T hücrelerde ve CD4+ CD25+ murine T hücrelerde eksprese edilir. $\alpha E\beta 7$ + CD4+ CD25+ T hücreler, total CD4+ T hücrelerin yaklaşık olarak %4'ü, CD4+ CD25+ T hücrelerin % 25'ini oluşturduğu in-vitro deneylerde kanıtlanmıştır(180).

2.12.5. Lenfosit Aktivasyon Gen-3 (LAG-3)

Periferdeki CD4+ CD25+ Treg hücrelerde eksprese edilir ve bir negatif düzenleyicidir. Antijen kullanan T hücre büyümesini farede inhibe ettiği bulunmuştur. LAG-3 eksikliği regülatör aktiviteyi inhibe eder (181).

2.12.6. Programlanmış Ölüm Reseptörü-1 (PDR-1)

PD-1 CD28 ailesinin bir üyesidir, T hücrelerde eksprese edilir ve T hücre aktivitesinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. PD-1 mRNA'sı hem CD4+ CD25+ Treg hücrelerde hem de anerjik T hücrelerde yüksek miktarda eksprese edilir. Bu nedenle PD-1

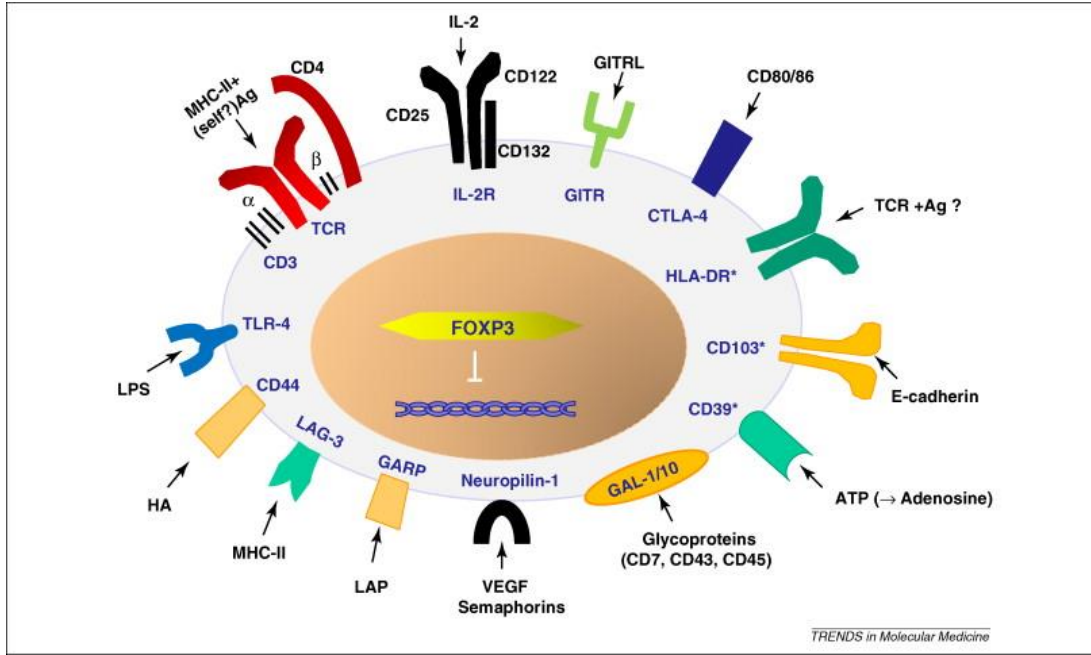
periferal tolerans ve otoimmünitinin düzenlenmesinde gerekli olabilir. PD-1 eksik fare lupus benzeri glomerulonefritis, artrit ve otoimmün genişlemiş kardiyomiyopati geliştirmektedir. İlginç olarak PD-1 B hücrelerden de eksprese edilmektedir (182).

2.12.7. CTLA-4 (Cytotoxic T lymphocyte-Associated 4 = CD 152)

T hücreleri antijen sunan hücre üzerinde bulunan CD80(B7.1) veya CD86(B7.2) eş-uyaran moleküllerini bağlayabilen CD28 molekülünü devamlı taşırlar. T hücre reseptörünün uygun pMHC+ CD28:CD8/CD86 (ikincil sinyal) ile bağlanması T hücrelerini IL-2 üretmek, IL-2 reseptörü (IL-2R) taşımak ve hücre döngüsüne girmek üzere uyarır. T hücre etkinleşmesi sonrasında, normalde naif T hücrelerinin Golgi aparatında birikmiş olan CD152, hücre zarına doğru hareket eder ve burada CD80/CD86 ile bağlanır. Bu bağlanmanın aviditesi CD28'in bağlanma aviditesinden 100 kat daha fazladır. CD152 birleşmesi T hücresinde IL-2 mRNA taşımalarını ve hücre döngüsü boyunca ilerlemesini baskılar. Bu mekanizma etkin T hücrelerinin artık gerekmediğinde etki göstermeye devam etmemelerini güvence altına alır. Uyarı devam ettiğinde anerjik olan T hücreleri yeni etkinleşenlerle yer değiştirir. Antijenik uyaran ortadan kalktığında ise yanıt sonlanır. Tepkili T hücreleri ortadan kaybolur, fakat sessiz bellek hücreleri burada istisnadır.

2.12.8. Nörofilin-1 (NrP-1)

Reverse transkripsiyon PCR'dan elde edilen sonuçlara göre CD4+ T hücrelerde Foxp3 mRNA'sı nörofilin-1 (NrP-1) ekspresyonu ile koreledir. Ek olarak NrP-1 CD4+ CD25+ Treg hücrelerin yüzeyinde yüksek miktarda eksprese edilir. Ayrıca NrP-1'in düşük seviyeleri de CD4+ CD25- T hücrelerinde eksprese edilmektedir, T hücre aktivasyonunda aşağı çekilir. Sonuç olarak NrP-1 CD4+ CD25+ Treg hücreler, hem naif hem de aktive edilen CD4+ CD25+ düzenleyici olmayan T hücrelerde ayırt etmek için ek bir yüzey belirtecidir (183).

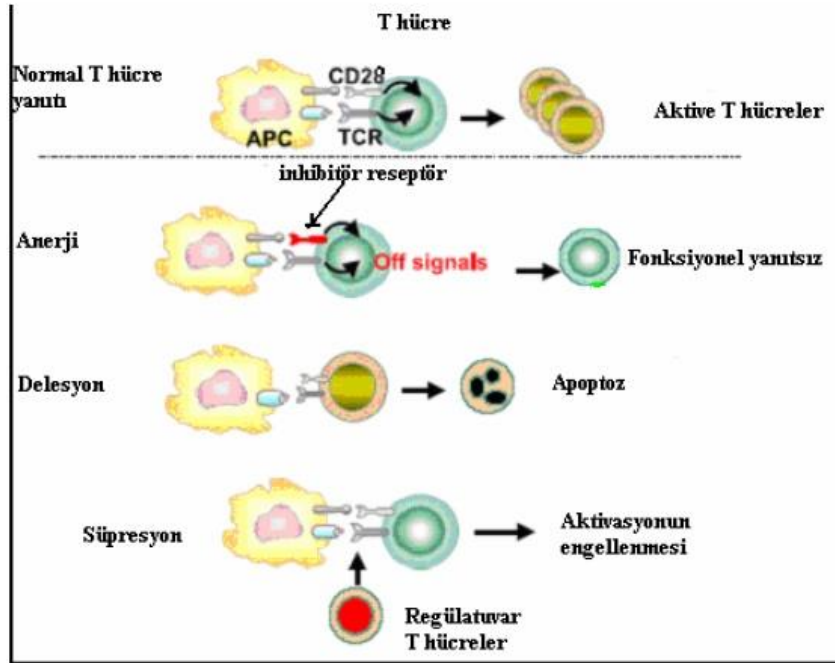


Şekil 3: Treg hücrenin moleküler karakteristiği / yüzey belirteçleri

2.13. Regülatör T Hücrelerin Etki Mekanizmaları

Düzenleyici T hücrelerinin etki mekanizmaları ile ilgili başlıca iki görüş vardır. Treg'lerin baskılayıcı fonksiyonlarını göstermek için hücre-hücre teması yaptıkları ya da IL-10 veya TGF- β gibi sitokinleri salgılayarak uzaktaki hücreleri etkileyebildikleri gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda iki mekanizmanın da etkin olduğu bulunmuştur. Treg hücrelerin yüzey proteinleri olan PD-1 ve CTLA-4'ün antijenik uyarı ile aktive olmuş T hücrelerin aktivasyonunu inhibe ettiği etkisi zaten biliniyordu. Ayrıca, Treg hücrelerden eksprese edilen IL-10 ve TGF- β 'nın özellikle IL-2 ve IL-12 gibi Th1 tip sitokinlerin salınımını baskıladığı gösterilmiştir. Diğer olası mekanizma ise, doğal Treg'lerin indoleamine 2,3 (IDO) veya adenosin ve siklik AMP aracılığı ile T hücre aktivasyonunu inhibe etmeleri ve T hücreleri apoptozise yönlendirmeleridir. Treg'lerin aktive T lenfositleri bu mekanizmalardan hangisi ya da hangileri ile baskıladığı tam olarak ortaya konulamamıştır (184,185).

CD4+CD25+ Treg'ler gibi IL-10 Treg hücreleri de naif CD4+CD25- hücreleri IL-10'dan bağımsız olarak IL-2 ekspresyonunu azaltarak baskılayabilmektedir (186). İn vitro sistemde naif T hücre çoğalmasının baskılanması regülasyonun ilk basamağı olarak tanımlanır. Doğal immün yanıt aktive olmadan baskılanmış olur. Düzenlenmenin bu basamağı IL-10 ekspresyonuna bağlı değildir. Düzenlenmenin ikinci basamağında ise IL-10 ve/veya TGF- β üretilmesi gereklidir. In vivo ortamda CD4+CD25+ Treg tarafından T hücrelerinin çoğalmasının kontrolü IL-10 bağımlıdır ve düzenleyici sistemin kazanması için aşırı yangı ile ilişkili olarak yüksek doğal immün cevabın olması gerekir. Bu nedenle enfeksiyon ajanlarının neden olduğu durumlarda hem CD4+CD25+ Treg hücreleri hem de IL-10 Treg hücreleri yangıyı IL-10 veya TGF- β bağımlı olarak inhibe eder (187) (Şekil 4).



Şekil 4: Normal immün yanıt ve periferik tolerans mekanizması.

2.14 . KBH'ye bağlı KVH'de İmmün Mekanizma ve İmmün Sistem Hücreleri

KBH’de immün sistemin düzenlenmesi karmaşık olaylardan biridir. Hipersitokinemi, üremi tipik bir özelliğidir bu da üremik toksinler, oksidatif stres, volüm yüklenmesi gibi etkenler tarafından uyarılan renal kapasitenin düşmesiyle sonuçlanan proinflatuar sitokinlerin birikimiyle meydana gelmektedir (188). Kronik proinflatuar sürecin KBH’deki varlığının nedeni kesin bilinmemekle birlikte bu sürecin multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir. IL-6 ve TNF- α gibi proinflatuar sitokinler artmış aterogenezin yanı sıra SDBH olan erişkinlerde de mortalite ve morbidite nedenidir (189). Diğer bir taraftan üremi, immunsupresif hücrelerin baskılayıcı özelliğiyle yakından bağlantılıdır. İmmün sistemin hücreleri ve sitokinlerinin KBH’de KVS hastalıklara etkileri tablo 11’ de belirtilmiştir.

Bağıışıklık Hücreleri	KBH’de KVS Hastalığa Etkisi
T Lenfositler	Aktivasyon bozukluğu Th1 / Th2 oranında artış
B Lenfositler	Hücre sayısını azaltma (Koruyucu fonksiyon)
Antijen Sunan Hücreler	Uyarma (Fonksiyon düzenlemesi)

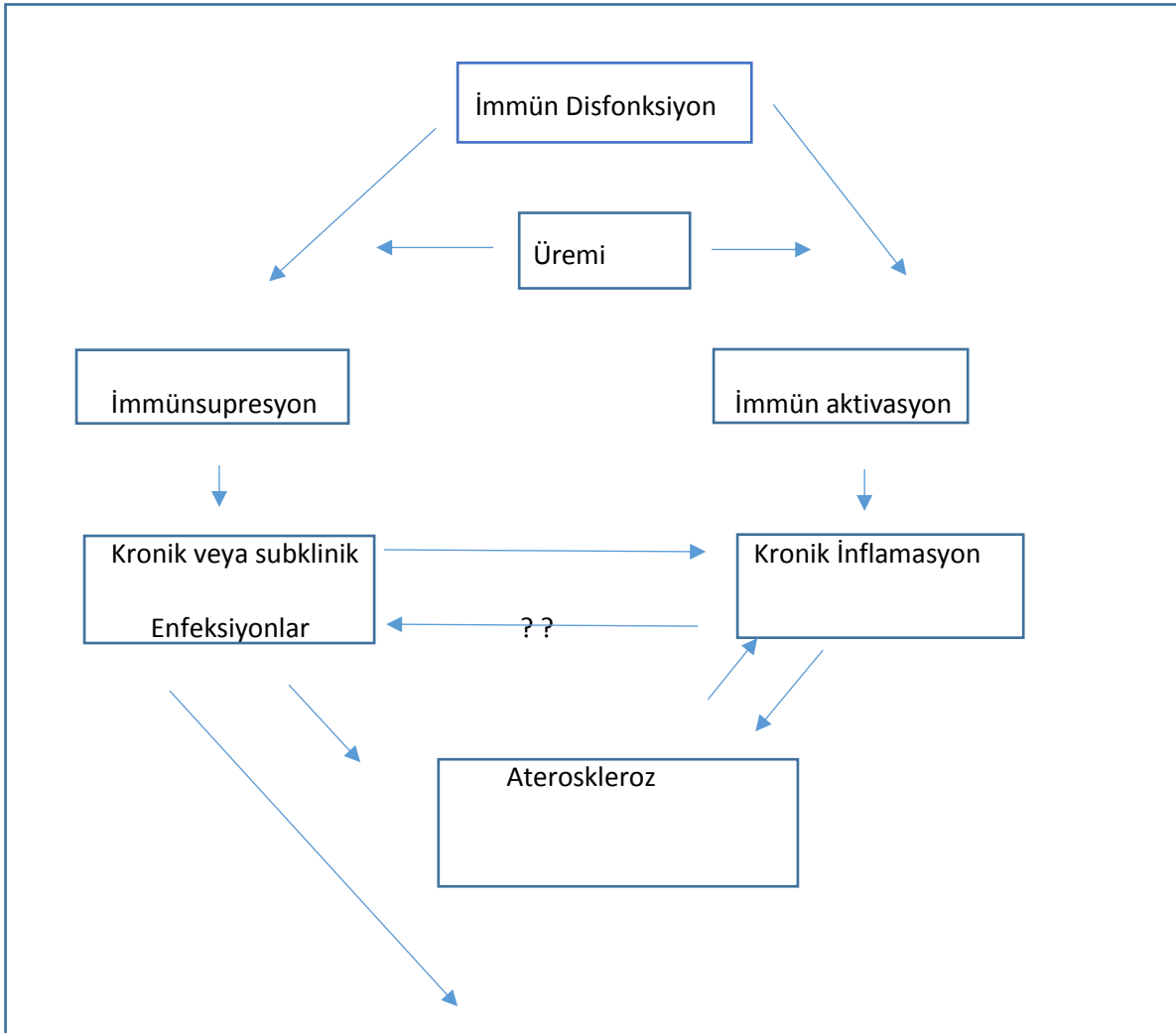
Tablo 11:İmmün sistemin hücreleri ve sitokinlerinin KBH’de KVS hastalıklara etkileri

Sonradan kazanılmış bağışıklık KBH’li hasta popülasyonunda oldukça zayıftır. Yapılan *in vitro* çalışmalarda üremik çevrede (milieu) T hücre profilerasyonunun yüksek seviyede olduğu saptanmıştır (190).

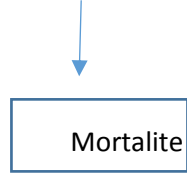
Yardımcı T hücreleri (Th), KBH’de immün regülasyonun kontrolünde kritik bir rol üstlenmişlerdir. Th1 hücreleri, proinflatuar sitokinler olan TNF- α , IL-12 ve IFN- γ üretirler. Th2 hücreleri ise IL-4 ve IL-5 üretirler (191). Th1 ve Th2 hücrelerinin değişik sitokinler üretmelerinden dolayı immün yanıtı farklı şekillerde etki ederler. Th2 hücreleri humoral

immüniteyi uyarırken, Th1 hücreleri ise makrofaj ve nötrofilleri aktive eder. Th1 ve Th2 hücreleri arasındaki denge aterosklerotik lezyonun artmasında önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür (192).

İnflamasyon ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki bağlantı ve mekanizmalar daha iyi tanınmaya ve tanımlanmaya başlanmıştır. KBH’de immün fonksiyon bozukluğunun inflamasyon ve enfeksiyon aracılığıyla kardiyovasküler hastalığa nasıl yol açtığı şekil 5’deki gibi anlatılabilir. Bunlara ek olarak KVS hastalıklarının gelişiminde KBH’ye bağlı immün sistem anormallikleri direkt olarak etkili olabilir (193). Üremi, endocytic pattern-recognition receptors (ePRR) ‘ün yüksek seviyede aktivitesiyle ilişkilidir. Bu birliktelik makrofaj scavenger reseptörü ile temsil edilir. KBH boyunca ekspresyonu artan makrofaj scavenger reseptörü, oxLDL klirensini genişletir ve bu olay da aterogenezin erken evresiyle sonuçlanır. Hangi hücrelerin ve sitokinlerin KBH’de ateroskleroz mekanizmasını başlattığı tam olarak açık değildir (194).



Kardiyovasküler Hastalıklar



Şekil 5. KBH'de immün fonksiyon bozukluğunun inflamasyon ve enfeksiyon aracılığıyla kardiyovasküler hastalığa yol açması.

Ateroskleroz özellikle T hücrelerin içinde olduğu çeşitli immün hücreleri içeren kronik bir enflamasyondur. Hep adaptif hem de doğal immünitede regülatör bozukluğu içeren bir prorestir (195). Treg hücre düzeyinin düşük olmasının akut kronik sendrom ve kardiyovasküler hastalığın gelişiminde potansiyel rolü gösterilmiştir. Bu enflamasyon Treg hücrelerin polarizasyon bozukluğu ve immün sistemin disregülasyonu ile açıklanabilir (196).

Treg hücreleri aterosklerotik plakta koruyucu bir rol alır. Ateroskleroz gelişimi otoimmün kökenli kronik enflamatuvar hastalığı andıran Treg fonksiyon düşüklüğüne bağlı olarak ortaya çıkar. Ve aterosklerotik lezyon, genetik olarak ateroskleroza yatkın farelere aktif Treg hücreleri transfer edildiğinde önemli ölçüde azaldığının saptandığı çalışmalar bulunmaktadır (197). Treg hücreleri aynı zamanda otoimmüniteyi korumada ve immün toleransı yeniden düzenlemede kritik bir rol oynar. Foxp3, Treg hücrelerin fonksiyon kazanmasını ve gelişmesini sağlayan gerekli bir transkripsiyon faktörüdür. Treg, direkt hücre iletişimi üzerinden IL-10 ve TGF- β sekresyonu ile efektör T hücre proliferasyon ve aktivasyonunu inhibe eder (198).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi ve Kontrol Grubu Oluşturma

Bu tez çalışmasına Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran kronik böbrek hastalığı tanısı konulmuş, renal replasman tedavisi almayan, 0-18 yaş aralığındaki 25 hasta alınmıştır. KBH tanısı için K/DQOI kriterleri kullanılmıştır. Renal replasman tedavisi alanlar, KBH öncesinde kardiyovasküler hastalığa sahip olanlar çalışmaya alınmamıştır.

Kontrol grubu olarak yine yaşları 0-18 arasında olan sağlıklı 25 birey alınmıştır. Her birey başlangıçta uzman bir doktor tarafından değerlendirilmiş, medikal öyküleri alınmış ve fizik muayeneleri yapılmıştır. Çalışma için etik kurul onayı alınmış, çalışmaya alınan tüm katılımcılara çalışma hakkında bilgi verilmiş, yazılı ve sözlü aydınlatılmış onam formu alındıktan sonra çalışmaya başlanmıştır.

3.2. Hastalara ve Kontrol Grubuna Yapılan Tetkikler

Biyokimyasal Tetkikler

Çalışmaya alınan her hastanın GFR, üre, kreatin, ürik asit, albümin, β -2 mikroglobulin, PTH, TSH, CRP, SAA, homosistein, sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum, ALP tetkikleri Ege Üniversitesi Hastanesi Çocuk Nefroloji Laboratuvarı ve Biyokimya Laboratuvarı'nda yapılmıştır .

Kardiyovasküler Tetkikler

Kardiyovasküler risk belirteçleri olarak; Aİx, PWV, SVKİ, CIMT değerleri ile EKO bulguları değerlendirildi.

PWV ve Aİx ölçümleri 2007 yılında FDA onayı almış Vicorder® ile yapıldı. Vicorder ile ossilometrik yöntem kullanılarak karotisten femorale doğru olan nabız dalgalarının kaydını yaparak otomatik hesaplama yöntemi ile sonuç elde edilmiştir. Sağlıklı kontrollerde hesaplanan santral Aİx değeri ortalama $9,41 \pm 8,54$ değeri referans olarak kabul edildi. PWV referans değeri ise $5,3 \pm 0,7$ m/s referans olarak alınmıştır.

CIMT, M-Turbo Ultrasound System cihazı ile karotis arter ultrasonu lineer prob ile common karotis arterinin 2 cm altından duvar kalınlığı en az 3 ölçümün ortalaması alınarak değerlendirildi. Sağlıklı çocuklarda normal cİMT değeri yaş gruplarına göre değişkenlik göstermekte olup ortalama cİMT değeri sağlıklı kontrollerde $0,404 \pm 0,041$ mm olarak belirlenmiştir.

Ekokardiyografi için, Tüm ölçümler 2 boyutlu M mode EKO (Vivid7) kullanılarak Amerikan EKO Birliği kurallarına uygun olarak aynı pediatrik kardiyolog tarafından yapıldı. Posterior duvar kalınlığı ölçülerek sol ventrikül kitlesi(SVK) hesaplandı. Sol ventrikül kitle indeksi için; $SVKİ = LVM/m^2.7$ formülü kullanıldı. Sol ventrikül hipertrofisi $SVKİ > 38.6$ gr/m^{2.7} değeri kullanıldı.

Treg Hücre Analizi

Treg hücre analizi için CD4+CD25+FoxP3+ eksprese eden hücre düzeyi Ege Üniversitesi Doku Tipi Laboratuvarı'nda flow sitometri cihazı ile laboratuvara ait CD4+CD25+FoxP3+ Treg analiz yöntemi ile saptandı. Referans değeri olarak sağlıklı grubun CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre düzeyinin ortalaması $7 \pm 0,5$ kabul edildi.

3.3. Materyaller

- 2ml. ve 15 ml. falkon tüpler
- Santrifüj cihazı
- Vorteks cihazı

- Otomatik ve pastör pipetler (10µl, 100µl)
- CD4-PE, CD25-PerCP, FoxP3-FITC antikorları
- PBS çözeltisi ((NaCl, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, NaN₃, PH (25°C) 7,2 ±0,1)
- Lymphoprep™ çözeltisi (Density: 1,077 ± 0,001 g/ml, Osmolality: 290 ±15 mOsm)
- BD FACSCalibur™ flow sitometri cihazı

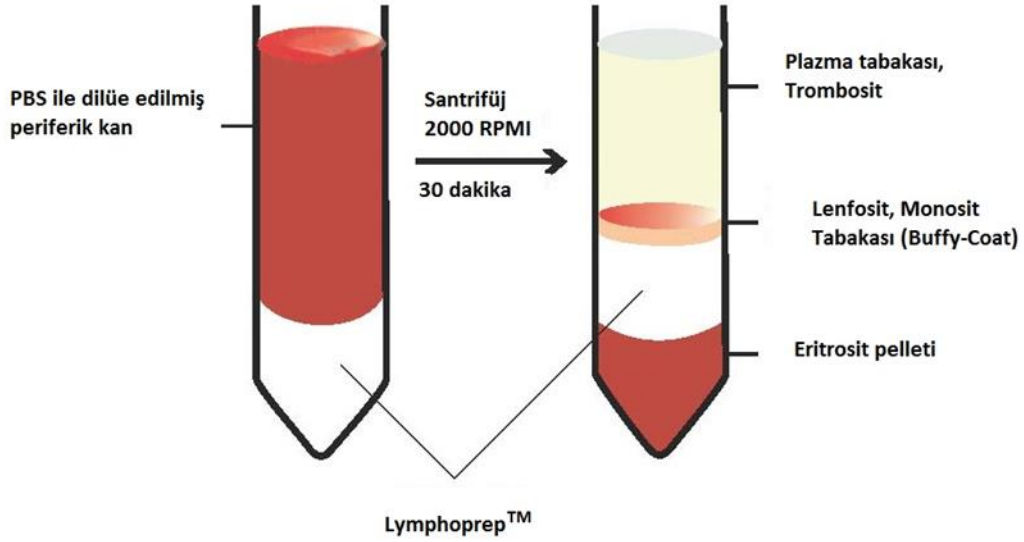
3.4. Flow Sitometri ile Treg Hücre Analizi

Çalışmaya alınan tüm hasta ve sağlıklı bireylerin Treg hücre analizi, Ege Üniversitesi Hastanesi Doku Tipleme Laboratuvarı'nda aşağıda belirtilen prosedüre göre yapılmıştır.

3.5. Flow Sitometri ile Treg Analiz Prosedürü

3.5.1. Mononükleer Hücre izolasyonu (Şekil 6)

1. 1-15 ml'lik falkon tüp içine 2 cc PBS ve 2 cc EDTA'lı kan eklenir.
2. 1-15 ml falcon tüp içine 4 cc Lymphoprep™ eklenir.
3. PBS - kan karışımı lymphoprep içeren tüpün kenarından yayılarak lymphoprep üzerine eklenir.
4. 2000 RPM hızda 30 dk aralıksız santrifüj edilir.
5. Santrifüj sonunda hücreler (Buffy-coat tabakası) 14 ml'lik falkon tüpüne pastör pipeti ile dikkatli bir şekilde alınır, üzerine 1-1,5 cc PBS eklenir ve 1400 rpm'de 15 dk santrifüj edilir.
6. Santrifüj sonunda tüp üzerindeki süpernatant dökülür .
7. Tüpte kalan hücreler yavaşça kaldırılır ve üzerine 1 cc PBS eklenip vorteks cihazın üzerinde karıştırılır.



şekil 6. Mononükleer hücre izolasyonu

3.5.2. CD4+CD25+FoxP3+ Hücre Boyama İşlemi

1. İnsan periferik kan mononükleer hücreleri yukarıdaki prosedüre göre hazırlanır.
2. Elde edilen mononükleer hücreler, BD Pharmingen Stain Buffer ile (FBS) ml’de 10 milyon hücre olacak şekilde sulandırılır.
3. Uygun miktardaki (20  l) yüzey antikor (CD4-PE ve CD25-PerCP), 12x75mm’lik falcon tüpe pipetlenir.
4. Her tüpe 100  l hücre eklenir, vorteks cihazı ile karıştırılır. 20 dakika, oda ısısında, karanlıkta inkübe edilir.
5. 2ml Stain Buffer (FBS) eklenir.
6. 250xg hızda, 10 dakika santrifüj edilir, süpernatant uzaklaştırılır.
7. Tüplere FoxP3 antikorunu eklenir, vorteks cihazı ile karıştırılır ve 30 dakika oda ısısında, karanlıkta inkübe edilir.
8. İnkübasyon sonunda tüpler, BD Pharmingen Stain Buffer ile tekrar yıkanır.
9. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra tüplerde kalan hücre pelleti wash buffer ile kaldırılır ve flow sitometri ile analize geçilir.

3.5.3. Treg Hücre Düzeyi Değerlendirme

Flow sitometri cihazında analizi yapılan hücreler, cell-quest programında değerlendirildi. Hücrelerin içerdiği CD4, CD25 ve FoxP3 düzeyi yüzde (%) cinsinden sonuçlandırıldı (Şekil 7).

İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS 15.0 kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler, ortalama, standart sapma, frekans tabloları tanımlandı. Normal dağılım gösteren değişkenler için gruplar arası karşılaştırmalarda bağımsız gruplarda t testi kullanıldı ve tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma biçiminde gösterildi İleri istatistiksel analizde oranlar arası farkın anlamlılığı testi (Kikare; Fisher Exact test) kullanılmıştır, tüm istatistiksel değerlendirmelerde $p<0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. Değişkenler arasındaki ilişki, nicel verilerin dağılım yapısına göre Kruskal Wallis Varyans Analizi ve Pearson, Spearman korelasyon analiziyle incelendi.

4.BULGULAR

4.1. Hastaların KBH Evrelendirmesi

Çalışmaya alınan 25 hastanın 10'u kız 15'i erkek, yaş ortalamaları $11.2\pm4,39$ (1-17) idi. Hastaların K/DQOI kriterlerine göre KBH evrelendirilmesi yapıldı. Olgular KBH evre 1 (GFR >90) 3 hasta , evre 2 (GFR 60-89) 4 hasta , evre 3(GFR 30-59) 5 hasta , evre 4

(GFR 15-29) 7 hasta ve evre 5 (GFR<15) 6 hastaydı. Çalışmaya alınan hastaların sayısı dikkate alındığında , hasta sayısı az olduğundan dolayı GFR değerlerine göre 2 grupta değerlendirildi. Evre 1, evre 2, evre 3 olan hastalar grup 1 (n:12); evre 4, evre 5 olan hastalar grup 2 (n:13) 'ye alındı (Tablo 12).

	Veriler
Kız	10
Erkek	15
Yaş Ortalaması	11.2±4,39 (1-17)
Grup 1 (KBH Evre 1-2-3)	12
Grup 2 (KBH Evre 4-5)	13

Tablo 12 : Hastaların cinsiyet, yaş, KBH evre grup bilgileri.

4.2.Hastaların Üremik Toksinler Yönünden Değerlendirilmesi

Her hastanın ve sağlıklı kontrol grubunun düşük moleküler ağırlıklı (Moleküler Ağırlık (MA) <500D) üremik toksinler (Kreatin, üre, ürik asit), orta moleküler ağırlıklı üremik toksinler (500<MA<5000D) (β 2-mikroglobulin, PTH, TSH) ve protein bağlı (MA>5000D) üremik toksinler (Homosistein, CRP, SAA, albumin) değerlendirildi.

Grup 1'deki Hastaların Değerlendirmesi

Grup 1'e alınan hastalarda düşük moleküler ağırlıklı toksinler değerlendirildiğinde ortalama kreatin değeri (OCr: $1,59 \pm 1,3$ mg/dL n:12) sağlıklı gruba göre (OCr: $0,4 \pm 0,11$ mg/dL n:25) istatistiksel olarak anlamlı yüksek, üre değeri (OÜ: $72,6 \pm 14,5$ mg/dL n:12) sağlıklı gruba göre (OÜ: $28,9 \pm 9,5$ mg/dL n:25) anlamlı yüksek, ürik asit değeri (OÜA: $5,27 \pm 1,02$ mg/dL n:12) sağlıklı gruba göre (OÜA: $3,9 \pm 1,2$ mg/dL) istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. Orta moleküler ağırlıklı toksinler değerlendirildiğinde ortalama β -2 mikroglobulin değeri (O β -2: 5373 ± 1379 n:12) sağlıklı gruba göre (O β 2: 642 ± 92 n:25) anlamlı yüksek, PTH değeri (OPTh: $146,6 \pm 37$ pg/mL n:12) sağlıklı gruba göre (OPTh: $60,25 \pm 13,25$ pg/mL n:25) anlamlı yüksek, TSH değeri (OTSH: $2,26 \pm 1,6$ n:12) sağlıklı gruba göre (OTSH: $1,25 \pm 1,1$ n:25) yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız saptandı. Yüksek moleküler ağırlıklı toksinler değerlendirildiğinde ise ortalama homosistein (OH: $11,6 \pm 1,6$ n:12), CRP (OCRp: $0,46 \pm 0,15$ n:12) sağlıklı gruba göre (OCRp: $0,12 \pm 0,1$ mg/dL n:25) , SAA (OSAA: $5,26 \pm 1,21$ n:12) ve albümin (OA: $3,28 \pm 1,36$ n:12) sağlıklı gruba göre (OA: $3,1 \pm 1,02$ g/dL n:25) anlamlı yüksek olarak saptandı.

Grup 2'deki Hastaların Değerlendirilmesi

Grup 2'ye alınan hastaların düşük moleküler ağırlıklı toksinler değerlendirildiğinde ortalama kreatin değeri (OCr: $3,7 \pm 2,3$ n:13) sağlıklı gruba göre (OCr: $0,4 \pm 0,11$ mg/dL n:25) istatistiksel olarak anlamlı yüksek, üre değeri ($120,2 \pm 53,53$ n:13) sağlıklı gruba göre (OÜ: $28,9 \pm 9,5$ mg/dL n:25) anlamlı yüksek, ürik asit değeri (OÜA: $7,23 \pm 2,02$ n:13) sağlıklı gruba göre (OÜA: $3,9 \pm 1,2$ mg/dL) istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. Orta moleküler ağırlıklı toksinler değerlendirildiğinde ortalama β -2 mikroglobulin değeri (O β -2: $22,927 \pm 15200$ n:13) sağlıklı gruba göre (O β 2: 642 ± 92 n:25) anlamlı yüksek, PTH değeri (OPTh: $641 \pm 267,2$ n:13) sağlıklı gruba göre (OPTh: $60,25 \pm 13,25$ pg/mL n:25) anlamlı yüksek, TSH değeri (OTSH: $3,36 \pm 1,22$ n:13) sağlıklı gruba göre (OTSH: $1,25 \pm 1,1$ n:25)

anlamli yüksek olarak saptandi. Yüksek moleküler ağırlıklı toksinler değ erlendirildiğinde ise ortalama homosistein (OH: $16,5 \pm 3,6$ n:13), CRP (OCR: $0,62 \pm 1,15$ n:13), SAA (OSAA: $12,6 \pm 3,21$ n:13) ve albümin (OA: $5,25 \pm 1,86$ n:13) sağı klı gruba göre anlamli yüksek olarak saptandi.

Grup 1 ve Grup 2'deki Hastaların Üremik Toksinler Yönünden Değ erlendirilmesi

Grup 1'e alınan hastalarla Grup 2'ye alınan hastalar üremik toksinlerin moleküler ağırlıklarına göre değ erlendirildiğinde düşük molekül ağırlıklı toksinlerin Grup 2'de Grup 1'e göre istatistiksel olarak yüksek olduğu saptandi. ($p < 0,05$; Cr: $p = 0,03$, Üre: $p = 0,024$, Ürik asit: $p = 0,031$) Orta molekül ağırlıklı toksinler karşılaştırıldığında Grup 2'nin Grup 1'e göre yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptandi. ($p > 0,05$; β -2 mikroglobulin: $p = 0,23$, PTH: $p = 0,623$, TSH: $p = 0,612$) Yüksek molekül ağırlıklı toksinler karşılaştırıldığında da yine Grup 2'nin Grup 1'e göre yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptandi. ($p > 0,05$; Homosistein: $p = 0,741$, CRP: $p = 0,314$, SAA: $p = 0,421$, Albumin: $p = 0,674$)

4.3.Hastaların Kardiyovasküler Tutulum Değ erlendirmesi

Grup 1'deki Hastaların Değ erlendirmesi

Grup 1 'e alınan hastaların ortalama augmentasyon indeksinde (OAİ: $23 \pm 4,9$; n:12) sağı klı gruba göre istatistiksel olarak anlamli artış saptandi ($p < 0,05$). Ort. PWV değ eri (OPWV: $4,5 \pm 0,12$; n:12), CİMT değ eri (Ort. cİMT: $0,43 \pm 0,02$; n:12) , sol ventrikül kitle indeksinin ortalama değ eri (OSVKİ: $26,21$; n:12) ise istatistiksel olarak farklı olmadığı saptandi. ($p > 0,05$)Tüm hastaların EKO bulguları normal olarak saptandi. (Tablo.10)

Grup 2'deki Hastaların Değ erlendirmesi

Grup 2'deki hastaların ortalama augmentasyon indeksinde (OAİ: $28,6 \pm 4,79$ n:13), sağı klı gruba göre istatistiksel olarak anlamli artış saptandi ($p < 0,05$) , grubun ortalama PWV değ eri (OPWV: $4,48 \pm 0,16$ m/s; n:13), ortalama CİMT değ eri(Ort.cİMT: $0,446 \pm 0,026$; n:13), SVKİ (Ort. SVKİ: $29,72$ n:13)sağı klı gruba göre artış yoktu, istatistiksel olarak anlamli değ ildi. ($p > 0,05$) .(Tablo10)

Grup 1 ve Grup 2'nin Karşılaştırılması

Grup 1'e alınan hastalar ile Grup 2'ye alınan hastaların AIx, PWV, CIMT, SVKİ değerleri karşılaştırıldığında; grup 2'nin ortalama augmentasyon indeksi (Ort. AIx: %28,6±4,79 n:13), Grup 1'e göre (Grup 1 Ort. AIx: %23±4,9; n:12) istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ($p<0,05$). Grup 2'deki hastaların ortalama PWV ,ortalama CIMT ve ortalama SVKİ değerleri Grup 1 'e göre artmıştı, ama istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0,05$). (Tablo 10)

4.4. Grup 1 ve Grup 2'deki Hastaların Regülatör T Hücre düzeylerinin (Treg) Değerlendirilmesi

Grup 1'deki hastaların CD4+CD25+Foxp3+ Treg hücre düzeyi (Grup 1 Ort. Treg: % 5,1 ± 0,4 ;n:12), sağlıklı gruba göre (Treg Normal: % 7±0,5) anlamlı düşük olduğu saptandı ($p<0,05$). Grup 2'deki hastaların da ortalama Treg CD4+CD25+Foxp3+ Treg hücre düzeyi (Grup 2 Ort. Treg: % 3,2 ± 0,3 ; n:13) sağlıklı gruba göre anlamlı düşük düzeyde saptandı ($p<0,05$).

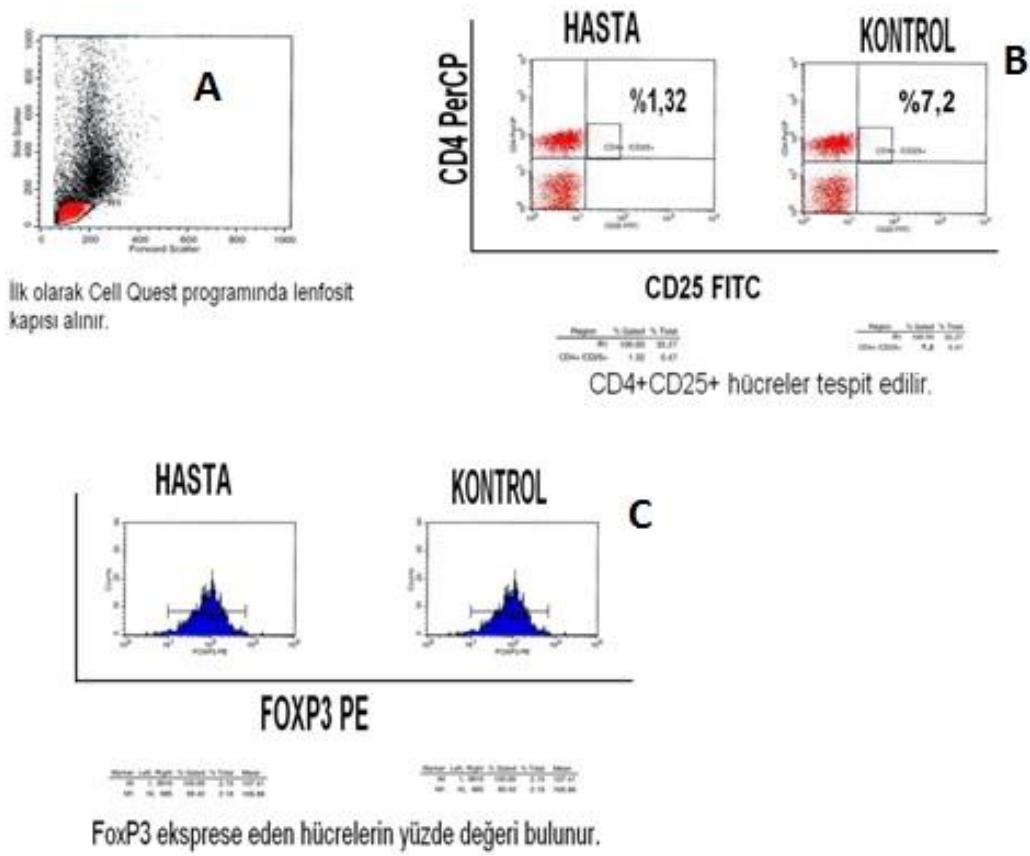
Grup 1 ve Grup 2'deki hastaların CD4+CD25+Foxp3+ Treg hücre düzeyleri karşılaştırıldığında grup 2'nin grup 1'e göre anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p<0,05$). (Tablo 10)

	<i>Normal</i>	<i>Grup-1 (n:12)</i>	<i>P değeri</i>	<i>Grup-2 (n:13)</i>	<i>P değeri</i>
Ortalama AIx	%9,41±8,54	%23±4,9	P<0.05	%28,6±4,79	p<0,05
Ortalama PWV	5,3±0,7 m/s	4,5±0,12 m/s	p>0.05	4,48±0,16m/s	p>0,05
Ortalama	0,404±0,041	0,43±0,02	p>0.05	0,446±0,026	p>0,05

CIMT					
Ortalama	36	26,21	p>0.05	29,7	p>0.05
SVKİ					
Ortalama	%7±0,5	% 5,1 ± 0,4	p<0,05	% 3,2 ± 0,3	p<0,05
Treg Düzeyi					

T
ablo
13:
Çalışm
aya
alınan
hastala
rın
ortala

ma Alx, PWV, CIMT, SVKİ, CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre düzeyleri ile anlamlılık değerleri.



Şekil 7: Hasta ve kontrol grubundan örnek flow sitometrik CD4+CD25+FoxP3+ hücrelerin değerlendirilmesi. **A)** Lökositler arasından lenfosit kapısı alınmış bir bölge (kırmızı alan) **B)** Lenfositler arasından CD4 (+) CD25 (+) olan hücreler **C)** CD4(+) CD25 (+) hücrelerden FoxP3 transkripsiyon faktörü eksprese eden hücre yüzdesi.

4.5.Sonuç

KVS Tutulum ve KBH Evresi ile İlişisinin Değerlendirilmesi

1.Kardiyovasküler tutulum parametreleri KBH olan tüm hastalarda KBH evrelendirilmesi yapılmadan sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında; ortalama AIX değerinin sağlıklı gruba göre anlamlı yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$). Ortalama PWV, Ortalama CIMT ve ortalama SVKİ değerleri sağlıklı gruba göre yüksek fakat istatistiksel bir anlamının olmadığı saptandı ($p>0,05$).

2.Hastaların KBH evrelendirilmesi yapıldıktan sonra (Grup1 Evre1,2,3 ve Grup2 Evre3,4) KVS tutulum parametreleri değerlendirildiğinde; grup 2'deki hastaların ortalama AIX değeri, sağlıklı gruba göre anlamlı yüksek ($p<0,05$); ortalama PWV değeri, ortalama CIMT ve ortalama SVKİ değerinin sağlıklı gruba yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptandı ($p>0,05$). Grup 1'in ortalama AIX değeri sağlıklı gruba göre anlamlı yüksek ($p<0,05$) ; ortalama PWV, ortalama CIMT, ortalama SVKI değerlerinin de sağlıklı gruba göre yüksek fakat anlamsız olduğu saptandı ($p>0,05$).

3.Grup 1 ve grup 2 kendi aralarında karşılaştırıldığında ise grup2'deki hastaların ortalama AIX değeri, grup1'deki hastalara göre anlamlı yüksek olduğu ($p<0,05$); ortalama PWV, ortalama CIMT, ortalama SVKİ değerinin de grup 1'e göre yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptandı ($p>0,05$).

Üremik Toksinlerin Moleküler Ağırlıkları Yönünden Değerlendirilmesi

1.Tüm hastalar üremik toksinlerin moleküler ağırlıkları yönünden sağlıklı grup ile karşılaştırıldığında; düşük moleküler ağırlıklı, yüksek moleküler ağırlıklı ve protein bağlı üremik toksinler hasta grupta sağlıklı gruba göre anlamlı yüksek saptandı ($p<0,05$).

2.Hastaların KBH evrelendirilmesi yapıldıktan aynı parametler değerlendirildiğinde hem grup1'deki hastaların düşük moleküler ağırlıklı üremik toksinleri sağlıklı gruba göre anlamlı yüksek; grup2'deki hastaların düşük molekül ağırlıklı, orta molekül ağırlıklı ve protein bağlı üremik toksinleri sağlıklı gruba göre anlamlı yüksek saptandı ($p<0,05$).

3.Grup 1 ve grup 2 kendi aralarında karşılaştırıldığında ise yalnız düşük molekül ağırlıklı üremik toksinlerin grup2'deki hastaların grup 1'e göre anlamlı yüksek olduğu

($p<0,05$); orta molekül ağırlıklı ve protein bağılı üremik toksinlerin ise yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız olduğu sağılandı ($p>0,05$).

Treg Hücre Düzeyinin Değerlendirilmesi

1.Grup1 ve grup 2'deki tüm hastaların Treg hücre düzeyi sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı ($p<0,05$).

2.Grup 1 ve grup 2'deki hastaların CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre düzeyleri karşılaştırıldığında grup 2'nin grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu saptandı ($p<0,05$).

5.TARTIŞMA

Kronik böbrek hastalığı, ilerlemiş nefron kaybıyla ortaya çıkan renal fonksiyonların azalmasıyla ve glomerular filtrasyon oranının ciddi şekilde azalmasıyla kendini gösteren bir

hastalıktır. Buna bağılı olarak gelişen vaskülopati ve kardiyovasküler bir hastalık bireylerde en önemli mortalite nedenidir (199).

Kronik böbrek hastalığına sahip bireyler çoğu kez hipertandüdür. Hipervolemi ve plazma renin-angiotensin sistemi aktivitesindeki artış hipertansiyonun patogeneğinde rol oynayan iki önemli faktördür. Öte yandan, amiloidoza bağılı son dönem böbrek hastalığında hipertansiyon yoktur; hatta hastalar çoğu kez hipotandüdür (200).

Bu hastalarda iskemik kalp hastalığı da sıktır. Hastalardaki lipid metabolizması bozuklukları, hipertansiyon, glukoz intoleransı ve metastatik vasküler kalsifikasyonlar bu patolojide rol oynayan en önemli faktörlerdir (201).

Üremik hastalarda volüm yüklenmesine, hipertansiyona, anemiye, iskemik kalp hastalığına ve diğerk bazı nedenlere bağılı sol ve/veya sağ kalp yetersizliği ve sol ventrikül hipertrofisi sıktır (202). Ödem de bu hastalarda oldukça fazla görülen bir bulgudur. Etyolojik faktörler arasında, kalp yetersizliği, hipoproteinemi ve terminal oligürik hastalardaki sıvı yüklenmesi önemli yer alır (203).

Perikardit de son dönem böbrek hastalığının en sık rastlanılan komplikasyonlarından biridir. Çoğu kez fibrinöz tiptedir; bazen hemorajik perikardit de görülür ve kalp tamponadına yol açabilir (204).

Çocuklarda KBH'ye bağılı KVVH'de geleneksel risk faktörlerinin dışında kronik inflamasyonun önemli bir yeri vardır. Kronik inflamasyon, SDBH olan hastaların ortak özelliklerinden biridir. Dolaşımdaki inflamasyon sürecine katkısı olan sitokinler ile KBH ve KVVH risk faktörleri arasında güçlü bir bağı olduğu ve KBH'nin ilerlemesine aracılık ettiğı öne sürülmüştür (205). Çocuklarda bu süreç altında yatan hücresel mekanizmayı ve süreçte etkili olan hücre gruplarını saptamak erişkinlere göre daha zordur (206). Hangi hücre grubunun bu süreci uyardığı veya baskıladığı henüz net olarak bilinmemektedir (207).

Regülatör T hücrelerinin temel fonksiyonu bağıışıklık yanıtının gerekmediğı zamanda T hücrelerin baskılanmasını sağlamaktır. Bu mekanizma özellikle otoimmün yanıtların baskılanmasında ve enfeksiyon sonrasında patojen mikroorganizma temizlediğinde yararlıdır. Regülatör T hücre fonksiyonlarındaki eksikliklerin birçok otoimmün hastalığa yol açabileceğı bildirilmiştir (208). Regülatör T hücreleri efektör T hücrelerini salgıladıkları immün sistem baskılayıcı TGF- β ve IL-10 sitokinleri aracılığıyla veya efektör T hücrelerine doğrudan bağlanarak kontak bağımlı olarak gerçekleştirebilirler. Çok yakın zamanda yapılan

bir çalışmada ise regülatör T hücreleri eksiltelen farelerin HSV-2 virüsüne karşı uygun bağışıklık yanıtı geliştiremediği ve enfeksiyonun sinir dokusun üzerinden merkezi sinir sistemine kadar ilerleyebildiği gösterilmiştir (209).

Regülatör T hücreler çocuklarda ve erişkinlerde farklı yöntemlerle analiz edilmektedir. Fakat çocuklarda Treg hücreleri saptamak erişkinlere göre periferik kanda düzeyleri daha düşük olduğundan daha zordur. Treg hücreler yüzeylerindeki belirteçlere veya çekirdekdeki transkripsiyon faktörüne göre hazırlanan panellerle flow sitometrik olarak saptanabilirler. Bunlar CD4+CD39+ paneli, CD4+CD73+ paneli, CD4+CD25+CD127- paneli, CD4+CD25+ paneli ve bu çalışmada kullandığımız CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre panelidir.

Bu tez çalışmasında da KBH'ye sahip bireylerde kardiyovasküler tutulum risklerinin değerlendirilmesi için Aİx, PWV, CIMT, SVKİ gibi arteriyal kalınlık belirteçleri kullanılarak tutulumun hastalığın hangi evresinde başladığı ve bu evrelerdeki Treg hücre düzeyinin tutulumla ilişkisi araştırılmak istenmiştir.

Her hastaya ve kontrol grubuna yukarıda sayılan kardiyovasküler tutulum değerlendirme testleri ve Treg hücre düzeyini saptamak için flow sitometrik test uygulanmıştır.

Hastaların öncelikle K/DQOI kriterlerine göre KBH evrelendirilmesi yapılmıştır. Hastalar evrelerine göre İki gruba ayrılmıştır. Evre 1,2,3 olanlar grup 1'e; evre 4,5 olanlar grup 2'ye alınmıştır.

Grup 1 (n:12) ve grup 2'ye (n:13) alınan her hastada kardiyovasküler tutulum parametreleri değerlendirildiğinde ortalama Aİx, ortalama PWV, ortalama CIMT, ortalama SVKİ değeri sağlıklı gruba göre yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p<0,05$). Grup 1 ve grup 2 kendi aralarında karşılaştırıldığında ortalama Aİx değerinin grup 2'de grup 1'ye göre anlamlı yüksek olduğu ($p<0,05$); ortalama PWV, ortalama CIMT ve ortalama SVKİ değerinin de yüksek olduğu ama istatistiksel bir anlamı olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$). Literatürde KBH'ye bağlı KVH'ye sahip olan hastalarda kardiyovasküler tutulum değerlendirildiğinde Aİx, PWV, CIMT, SVKİ değerlerinin sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek değerde olduğu bildirilmiştir. Bizim bu çalışmadan elde ettiğimiz veriler literatüre uygun niteliktedir.

Grup 1'e alınan hastalarla Grup 2'ye alınan hastalar üremik toksinlerin moleküler ağırlıklarına göre değerlendirildiğinde düşük molekül ağırlıklı toksinlerin Grup 2'de Grup 1'e göre istatistiksel olarak yüksek olduğu saptandı. ($p < 0,05$; Cr: $p = 0,03$, Üre: $p = 0,024$, Ürik asit: $p = 0,031$) Orta molekül ağırlıklı toksinler karşılaştırıldığında Grup 2'nin Grup 1'e göre yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptandı. ($p > 0,05$; β -2 mikroglobulin: $p = 0,23$, PTH: $p = 0,623$, TSH: $p = 0,612$) Yüksek molekül ağırlıklı toksinler karşılaştırıldığında da yine Grup 2'nin Grup 1'e göre yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız olduğu saptandı. ($p > 0,05$; Homosistein: $p = 0,741$, CRP: $p = 0,314$, SAA: $p = 0,421$, Albumin: $p = 0,674$)

Grup 1 ve grup 2'deki hastaların CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre düzeyleri sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında her iki gruptaki hastaların ortalama Treg düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Grup 1 ve grup 2'de yer alan hastalar kendi aralarında karşılaştırıldığında grup 2'deki hastaların ortalama Treg düzeyinin grup 1'e göre anlamlı düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

Grup 1'deki hastalarda sadece augmentasyon indeksinde artış saptanması damar endotel düzeyinde bir hasarlanma olabileceğini düşündürmüştür. KBH'de KVS tutulumunda özellikle endotel hasarın olmasının en önemli etkeni yangısal reaksiyon olup T hücre aktivasyonunun enflamasyona yol açtığı kabul edilmektedir.

Literatürde KBH'ye bağlı KVH'de Treg hücrelerin hücresel mekanizmada rolünün olup olmadığını bildiren herhangi bir yayın yoktur. Bu çalışmamızda hastalığın evresi arttıkça kardiyovasküler tutulumun arttığı ve Treg hücrelerin düzeyinin düştüğü saptanmıştır. Bu sonuçtan yola çıkarak Treg hücrelerin KBH'li çocuklarda kardiyovasküler tutulumda rolü olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar önerilen hipotezi destekler niteliktedir. Hastalığın evresi arttıkça Treg hücre düzeyinin anlamlı derecede düştüğü ve kardiyovasküler riskin de arttığı saptanmıştır.

6.SONUÇ

1. Treg hücreleri analiz etmek için kullandığımız CD4+CD25+FoxP3+ hücre paneli çekirdekte Foxp3 transkripsiyon faktörü eksprese etmesiyle karakterize edilen Treg hücrelerin düzeylerini saptamada güvenilir bir yöntemdir.

2.Hastaların tümü kardiyovasküler tutulum parametreleri yönünden sağlıklı grupla karşılaştırıldığında hastalığın evresi arttıkça ortalama AIX değerinde anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$). AIX değerindeki bu artış bize damar endotel düzeyinde bir hasarlanma olabileceğini düşündürmüştür.

3.Hastalığın evresi arttıkça düşük moleküler ağırlıklı toksinlerin düzeyinde de anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0,05$).

4.Kronik böbrek hastalığına sahip çocukların tümünde CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücrelerin düzeyi sağlıklı gruba göre düşük saptanmıştır.

5..Hastalarda KBH evrelendirilmesi yapıldıktan sonra Treg hücre düzeyi karşılaştırıldığında yine hastalığın evresi arttıkça Treg hücre düzeyinin anlamlı olarak düştüğü saptanmıştır ($p<0,05$).

6.Kronik böbrek hastalığına sahip çocuklarda kardiyovasküler tutulum, hastalığın evresi ilerledikçe ortaya çıktığı saptanmıştır ve bu tutulumun oluşumunda Treg hücrelerin eksikliğinin inflamasyonu artırıcı rolü olduğunu düşünmekteyiz.

7.Hastalarda kardiyovasküler tutulumun engellenmesinde düşük moleküler ağırlıklı, orta moleküler ağırlıklı ve protein bağlı üremik toksinlerden kurtulmanın yanı sıra Treg hücre düzeyini de artırmanın önemli olduğunu düşünmekteyiz.

6.KAYNAKLAR

1. Fine RN, Whyte DA, Bodystun II. Conservative management of chronic renal insufficiency. In: Avner ED, Harmon WE, Niaduet P (eds). Pediatric Nephrology. 5th edn. Philadelphia USA Lippincott Williams and Wilkins, 2004:1296-1298.
2. Chavers BM, Solid CA, Sinaiko A, et al. Diagnosis of cardiac disease in pediatric end-stage renal disease. Nephrol Dial Transplant 2011;26:1640-5.

3. Parekh RS, Carroll CE, Wolfe RA, Port FK. Cardiovascular mortality in children and young adults with end-stage kidney disease. *J Pediatr* 2002;141:191-7.
4. Mitsnefes MM, Daniels SR, Schwartz SA, Khoury P, Meyer RA, Strife CF. Severe left ventricular hypertrophy in pediatric dialysis: prevalence and predictors. *Pediatr Nephrol* 2000;14:898-902.
5. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP, Tracy RE, Wattigney WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. *N Engl J Med* 1998;338:1650-6.
6. Balakrishnan VS, Guo D, Rao M, et al. Cytokine gene polymorphisms in hemodialysis patients: association with comorbidity, functionality, and serum albumin. *Kidney Int* 2004;65:1449-1460
7. Walker MR, Kasproicz DJ, Gersuk VH, Benard A, Van Landeghen M, Buckner JH, Ziegler SF.: Induction of Foxp3 and Acquisition of T Regulatory Activity by Stimulated Human CD4⁺ CD25⁻ T Cells. *J Clin Invest*. 2003; 112:1437-43.
8. Shalmi CL, Dutcher JP, Feinfeld DA, Chun KJ, Saleemi KR, Freeman LM, Lynn RI, Wiernik PH. Acute renal dysfunction during interleukin-2 treatment: Suggestion of an intrinsic renal lesion. *J Clin Oncol* 8: 1839-1846, 1990.
9. Turner JE, Paust HJ, Steinmetz OM, Panzer U. The Th17 immune response in renal inflammation. *Kidney Int* 77: 1070-1075, 2010.
10. Lowrie EG, Lew NL. Commonly measured laboratory variables in hemodialysis patients: relationships among them and to death risk. *Semin Nephrol*. 1992; 12: 276-
11. 283. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulter F, Diczfalussy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition; inflammation and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int*. 1999; 55: 1899-1911.
12. 12. Shoji T, Emoto M, Tabata T, Kimoto E, Shinohara K, Maekawa K, et al. Advanced atherosclerosis in predialysis patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 2002; 61: 2187-2192.
13. Bengt Fellström. Risk factors for and management of post-transplantation cardiovascular disease. *BioDrugs* 2001; 15: 261-278.
14. Causes of death. United States Renal Data System. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 81-88.
15. Orth SA, Stockmann A, Conradt O et al. Smoking as a risk factor for end-stage renal failure in men with primary renal disease. *Kidney Int* 1998; 54: 926-931

16. London GM, Parfrey PS: Cardiac disease in chronic uremia: pathogenesis. *Adv ArenalAeplace Ther* 1997; 4: 194-211.
17. Van Duijnhoven EC, Cheriex EC, Tordoir JH, Kooman JP, van Hooff JP. Effect of closure of the arteriovenous fistula on left ventricular dimensions in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16: 368-372.77
18. Akinlolu O. Ojo. Cardiovascular complications after renal transplantation and their prevention. *Transplantation* 2006; 82: 603-611.
19. Prichard S. Risk factors for coronary artery disease in patients with renal failure. *Am J Med Sci* 2003; 325: 209-213.
20. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet*. 1999; 354: 407-413.
21. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Traditional and emerging cardiovascular risk factors in end-stage renal disease. *Kidney Int Suppl* 2003; 85: 105-110.
22. Mustafa Arıcı and John Walls. End-Stage Renal Disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: Is C-reactive protein the missing link *Kidney International*. 2001; 59: 407-414.
23. Blancher J et al: Arterial calcifications, arterial stiffness and cardiovascular risk in end stage renal disease. *Hypertension*. 2001; 38: 938-942.
24. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Böhm R, et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: A crosssectional study. *Lancet* 2003; 361: 827–833.,
25. Paul JL. Influence of uremia on polymorphonuclear leukocytes oxidative metabolism in end-stage renal disease and dialyzed patients. *Nephron* 1991; 57: 428-Reslerova M, Moe SM. Vascular calcification in dialysis patients: pathogenesis and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 96-99.
26. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 607-617.
27. Jaradat MI, Molitoris BA. Cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Semin Nephrol* 2002; 22: 459-73.
28. Hunt JL, Fairman R, Mitchell ME, Carpenter JP, Golden M, Khalapyan T, et al. 3rd: Bone formation in carotid plaques: A clinicopathological study. 2002; 33: 1214-1219.

29. Schwarz U, Buzello M, Ritz E, Stein G, Raabe G, Wiest G, et al. Morphology of coronary atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 218-223.
30. Foley RN, Parfrey PS, Harnet JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE. Hypoalbuminemia, cardiac morbidity and mortality in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 1996; 7: 728-736.
31. Grimm RH, Svendsen KH, Kasiske B, Keane WF, Wahi MM. Proteinuria is a risk factor for mortality over 10 years of follow-up. MRFIT Research Group. *Kidney Int*. 1997; 63: 10-14.
32. Keane WF, Eknoyan G, NKF PC. Proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, elimination (PARADE): a position paper of the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis*. 1999; 33: 1004-1010.
33. Anavekar NS, Gans DJ, Berl T, Rohde RD, Cooper W, Bhaumik A, et al. Predictors of cardiovascular events in patients with type 2 diabetic nephropathy and hypertension: A case for albuminuria. *Kidney Int*. 2004; 66: 50-55.
34. Avram M, Sreedhara R, Fein P. Survival on hemodialysis and peritoneal dialysis over 12 years with emphasis on nutritional parameters. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 77-80.
35. Dwyer J, Larive B, Leung J. Nutritional status affects quality of life in Hemodialysis (HEMO) Study patients at baseline. *J Ren Nutr* 2002; 12: 213–223.
36. Lowrie EG, Lew NL. Death risk in hemodialysis patients: the predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis* 1990; 15: 458-482.
37. Devereux RB, Casale PN, Eisenberg RR, Miller DH, Kligfield P. Electrocardiographic detection of left ventricular hypertrophy using echocardiographic determination of left ventricular mass as the reference standard: Comparison of Standard criteria, computer diagnosis and physician interpretation. *J Am Coll Cardiol* 1984; 3: 82-87.
38. Sezer S, Arat Z, Özdemir FN. Kronik Böbrek Yetmezliğinde Malnutrisyon. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2000; 3: 125-129.
39. Fleischmann E, Teal N, Dudley J. Influence of excess weight on mortality and hospital stay in 1346 hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55: 1560-1567.
40. Mehrotra R, Kopple JD. Nutritional management of maintenance dialysis patients: Why aren't we doing better? *Annu Rev Nutr* 2001; 21: 343-379.

41. Kalantar-Zadeh K, Block G. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int* 2003; 63: 793-808.
42. Kalantar-Zadeh K, Fouque D, Kopple JD, Outcome research, nutrition, and reverse epidemiology in maintenance dialysis patients. *J Ren Nutr.*2004; 14: 64-71.
43. Dwyer JT, Larive B, Leung J, Rocco V, Grene T. For the HEMO Study Group. Are nutritional status indicators associated with mortality in the Hemodialysis (HEMO) Study? *Kidney Int* 2005; 68: 1766-1776.
44. Clarkson RM, Brenner MB. The Kidney. 2007; 28: 489-504. 68. London MG. Cardiovascular disease in chronic renal failure pathophysiologic aspects. *Seminars in dialysis.* 2003; 16: 85-94.
45. Koren MJ, Devereux RB, Casale PN, Savale DD, Laragh JH. Relation of left ventricular mass and geometry to morbidity and mortality in uncomplicated essential hypertension. *Ann Intern Med* 1991; 114: 345-352.
46. Foley RN, Clinical epidemiology of cardiac disease in dialysis patients: Left ventricular hypertrophy, ischemic heart disease and cardiac failure. *Semin Dial* 2003; 16: 111-117.
47. Unger P, Wissing KM, de Pauw L, Neubauer J, van de Borne P. Reduction of left ventricular diameter and mass after surgical arteriovenous closure in renal transplant recipients. *Transplantation* 2002; 74: 73-79.
48. Amman K, Ritz E. Cardiac disease in chronic uremia: pathophysiology. Heffernan KS, Karas RH, Patvardhan EA et al. Peripheral arterial tonometry for risk stratification in men with coronary artery disease. *Clin Cardiol* 2010; 33: 94-98
49. Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA et al. Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. *Am Heart J* 2003; 146: 168-17
50. Millasseau SC, Guigui FG, Kelly RP et al. Noninvasive assessment of the digital volume pulse. Comparison with the peripheral pressure pulse. *Hypertension* 2000; 36: 952-956
51. Kelly R, Hayward C, Avolio A et al. Noninvasive determination of age-related changes in the human arterial pulse. *Circulation* 1989; 80: 1652-1659
52. Takazawa K, Tanaka N, Takeda K et al. Underestimation of vasodilator effects of nitroglycerin by upper limb blood pressure. *Hypertension* 1995; 26: 520-523
53. Nurnberger J, Keflioglu-Scheiber A, Opazo Saez AM et al. Augmentation index is associated with cardiovascular risk. *J Hypertens* 2002; 20: 2407-2414

54. van Trijp MJ, Bos WJ, Uiterwaal CS et al. Determinants of augmentation index in young men: the ARYA study. *Eur J Clin Invest* 2004; 34: 825–830
55. Smulyan H, Marchais SJ, Pannier B et al. Influence of body height on pulsatile arterial hemodynamic data. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 1103–1109
56. Wilkinson IB, MacCallum H, Flint L et al. The influence of heart rate on augmentation index and central arterial pressure in humans. *J Physiol* 2000; 525 Pt 1: 263–270
57. Wilkinson IB, Mohammad NH, Tyrrell S et al. Heart rate dependency of pulse pressure amplification and arterial stiffness. *Am J Hypertens* 2002; 15: 24–30
58. Fantin F, Mattocks A, Bulpitt CJ et al. Is augmentation index a good measure of vascular stiffness in the elderly? *Age Ageing* 2007; 36:43–48
59. McEniery CM, Yasmin Hall IR et al. Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT). *J Am Coll Cardiol* 2005;46: 1753–1760,
60. Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ et al. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 2004; 43: 1239–1245
61. Clausen P, Feldt-Rasmussen B, Iversen J et al. Flow-associated dilatatory capacity of the brachial artery is intact in early autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Nephrol* 2006; 26: 335–339
62. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association councils on kidney in cardiovascular disease, high blood pressure research, clinical cardiology, and epidemiology and prevention. *Circulation* 2003;108:2154-69 ,
63. Hallan SI, Coresh J, Astor BC, et al. International comparison of the relationship of chronic kidney disease prevalence and ESRD risk. *J Am Soc Nephrol* 2006;17: 2275 84
64. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32:S112-19
65. Weiner DE, Tighiouart H, Amin MG, et al. Chronic kidney disease as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality: a pooled analysis of community-based studies. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1307-15

66. Go AS, Chertow GM, Fan D, et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004;351: 1296-305
67. Magnus P, Beaglehole R. The real contribution of the major risk factors to the coronary epidemics: time to end the 'only- 50%' myth. *Arch Intern Med* 2001;161: 2657-60
68. Sarnak MJ, Coronado BE, Greene T, et al. Cardiovascular disease risk factors in chronic renal insufficiency. *Clin Nephrol* 2002;57: 327-35
69. Addabbo F, Mallamaci F, Leonardis D, et al. Searching for biomarker patterns characterizing carotid atherosclerotic burden in patients with reduced renal function. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:3521-6
70. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, et al. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2006;47:139-48
71. Cannata-Andí'a JB, Fernández-Martín JL, Locatelli F, et al. Use of phosphate-binding agents is associated with a lower risk of mortality. *Kidney Int* 2013;84(5):998-1008
72. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, et al. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis* 1998;31(4):607-17
73. Kestenbaum B, Sampson JN, Rudser KD, et al. Serum phosphate levels and mortality risk among people with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:520-8
74. Goldsmith D, Covic A. Oral phosphate binders in CKD – is calcium the (only) answer? *Clin Nephrol* 2014;81:389-96
75. Kalantar-Zadeh K, Gutekunst L, Mehrotra R, et al. Understanding sources of dietary phosphorus in the treatment of patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5(3):519-30
76. Pohlmeier R, Vienken J. Phosphate removal and hemodialysis conditions. *Kidney Int Suppl* 2010;78:S190-4 ,
77. Giachelli CM. The emerging role of phosphate in vascular calcification. *Kidney Int* 2009;75(9):890-7
78. Ketteler K, Wuthrich R, Floege J. Management of hyperphosphataemia in chronic kidney disease – challenges and solutions. *Clin Kidney* 2013;6:128-36

79. Raggi P, Boulay A, Chasan-Taber S, et al. Cardiac calcification in adult hemodialysis patients. A link between end-stage renal disease and cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol* 2002;20:39(4):695-701
80. Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD, et al. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 2000; 342(20):1478-83
81. Adeney KL, Siscovick DS, Ix JH, et al. Association of serum phosphate with vascular and valvular calcification in moderate CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:381-7
82. Foley RN, Collins AJ, Herzog CA, et al. Serum phosphorus levels associate with coronary atherosclerosis in young adults. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:397-404
83. Guerin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F. Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(7): 1014-21
84. Block GA, Raggi P, Bellasi A, et al. Mortality effect of coronary calcification and phosphate binder choice in incident hemodialysis patients. *Kidney Int* 2007; 71(5):438-41
85. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH (1998) Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 98:731–733
86. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C (1999) Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 55:648–658
87. Schwarz U, Buzello M, Ritz E, Stein G, Raabe G, Wiest G, Mall G, Amann K (2000) Morphology of coronary artery atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 15:218–223
88. Landray M, Wheeler D, Lip GY, Nwman DJ, Blann AD, McGlynn FJ, Ball S, Townend JN, Baigent C (2004) Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: The Chronic Renal Impairment in Birmingham (CRIB) Study. *Am J Kidney Dis* 43:244–253
89. Morris ST, Jardine AG (2000) The vascular endothelium in chronic renal failure. *J Nephrol* 13:96–105

90. Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Malatino LS, Zoccali C (2005) Prognostic value of combined use of biomarkers of inflammation, endothelial dysfunction, and myocardial pathology in patients with ESRD. *Kidney Int* 67:2330–2337
91. Annuk M, Soveri I, Zilmer M, Lind L, Hulthe J, Fellström B (2005) Endothelial function, CRP and oxidative stress in chronic kidney disease. *J Nephrol* 18:721–726
92. Pandolfi A, Di Pietro N, Sirolli V, Giardinelli A, Di Silvestre S, Amoroso L, Di Tomo P, Capani F, Consoli A, Bonomini M (2007) Mechanisms of uremic erythrocyte-induced adhesion of human monocytes to cultured endothelial cells. *J Cell Physiol* 213:699–709
93. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ (1998) Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 9:s16–s23
94. Liao TD, Yang XP, Liu YH, Shesely EG, Cavasin MA, Kuziel WA, Pagano PJ, Carretero OA (2008) Role of inflammation in the development of renal damage and dysfunction in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension* 52:256–263
95. Ishidoya S, Morrissey J, McCracken R, Reyes A, Klahr S (1995) Angiotensin II receptor antagonist ameliorates renal tubulointerstitial fibrosis caused by unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int* 47:1285–1294
96. Diamond JR (1991) Analogous pathobiologic mechanisms in glomerulosclerosis and atherosclerosis. *Kidney Int* 39[Suppl]: S29–S34
97. Fried L, Solomon C, Shlipak M, Seliger S, Stehman-Breen C, Bleyer AJ, Chaves P, Furberg C, Kuller L, Newman A (2004) Inflammatory and prothrombotic markers and the progression of renal disease in elderly individuals. *J Am Soc Nephrol* 15:3184–3191
98. Sarnak MJ, Poindexter A, Wang SR, Beck GJ, Kusek JW, Marcovina SM, Greene T, Levey AS (2002) Serum C-reactive protein and leptin as predictors of kidney disease progression in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *Kidney Int* 62:2208–2215
99. Yu C, Gong R, Rifai A, Tolbert EM, Dworkin LD (2007) Long-term, high-dosage candesartan suppresses inflammation and injury in chronic kidney disease: nonhemodynamic renal protection. *J Am Soc Nephrol* 18:750–759
100. Furuichi K, Wada T, Iwata Y, Kitagawa K, Kobayashi K, Hashimoto H, Ishiwata Y, Asano M, Wang H, Matsushima K, Takeya M, Kuziel WA, Mukaida N, Yokoyama H. CCR2 signaling contributes to ischemia-reperfusion injury in kidney. *J Am Soc Nephrol* 14: 2503-2515, 2003.

101. Garber SL, Mirochnik Y, Brecklin CS, Unemori EN, Singh AK, Slobodskoy L, Grove BH, Arruda JA, Dunea G. Relaxin decreases renal interstitial fibrosis and slows progression of renal disease. *Kidney Int* 59: 876-882, 2001.
102. Garin EH, Diaz LN, Mu W, Wasserfall C, Araya C, Segal M, Johnson RJ. Urinary CD80 excretion increases in idiopathic minimal-change disease. *J Am Soc Nephrol* 20: 260-266, 2009.
103. Geiler J, Buch M, McDermott MF. Anti-TNF treatment in rheumatoid arthritis. *Curr Pharm Des* 17: 3141-3154, 2011.
104. Genovese MC, McKay JD, Nasonov EL, Mysler EF, da Silva NA, Alecock E, Woodworth T, Gomez-Reino JJ. Interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab reduces disease activity in rheumatoid arthritis with inadequate response to disease-modifying antirheumatic drugs: The tocilizumab in combination with traditional disease-modifying antirheumatic drug therapy study. *Arthritis Rheum* 58: 2968-2980, 2008.
105. Ghee JY, Han DH, Song HK, Kim WY, Kim SH, Yoon HE, Choi BS, Kim YS, Kim J, Yang CW. The role of macrophage in the pathogenesis of chronic cyclosporine-induced nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 23: 4061-4069, 2008.
105. Giannakakis K, Feriozzi S, Perez M, Faraggiana T, Muda AO. Aberrantly glycosylated IgA1 in glomerular immune deposits of IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 18: 3139-3146, 2007.
106. Ginzler EM, Aranow C. Mycophenolate mofetil in lupus nephritis. *Lupus* 14: 59-64, 2005.
107. Ginzler EM, Dooley MA, Aranow C, Kim MY, Buyon J, Merrill JT, Petri M, Gilkeson GS, Wallace DJ, Weisman MH, Appel GB. Mycophenolate mofetil or intravenous cyclophosphamide for lupus nephritis. *N Engl J Med* 353: 2219-2228, 2005.
108. Girardin E, Grau GE, Paunier L, Le CC. Early hemodynamic and renal effects of tumor necrosis factor alpha: Role of thromboxane. *Circ Shock* 42: 20-26, 1994.
109. Walker MR, Kasprovicz DJ, Gersuk VH, Benard A, Van Landeghen M, Buckner JH, Ziegler SF.: Induction of Foxp3 and Acquisition of T Regulatory Activity by Stimulated Human CD4+ CD25- T Cells. *J Clin Invest.* 2003; 112:1437-43.
110. Bluestone JA, Abbas AK. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2003;3:253-7.

111. Sakaguchi S et al. Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Rev* 2006;212;8-27.
112. Hori S, Takahashi T, Sakaguchi S. Control of autoimmunity by naturally arising regulatory CD4⁺ T cells. *Adv Immunol* 2003;81; 331-71.
113. Chess L. The birth of functionally distinct T cell subsets. *J Immunol* 2006;176;3859-60.
114. Sharma R, Zheng L, Guo X, Fu S.M, Ju T, Jarcour W.N. Novel animal models for sjogren syndrome: Expression and transfer of salivary gland dysfunction from regulatory T cell-deficient mice. *Journal of Autoimmunity* 2006; 289-296.
115. Gottenberg JE, Laviea F, Abbed K, Gasnaultb J, Le Nevot E, Delfraissy JF, Taoufik Y, Mariette X. CD4 CD25^{high} regulatory T cells are not impaired in patients with primary Sjögren's syndrome *Journal of Autoimmunity* 24, 2005; 235-242.
116. Abbas, A. K., and A. H. Lichtman. 2004. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. Saunders, Philadelphia.
117. Groux, H., A. O'Garra, M. Bigler, M. Rouleau, S. Antonenko, J. E. De Vries, and M. G. Roncarolo. A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 1997; 389:737.
118. Powrie, F., R. Correa-Oliveira, S. Mauze, and R. L. Coffman. Regulatory interactions between CD45RB^{high} and CD45RB^{low} CD4⁺ T cells are important for the balance between protective and pathogenic cell-mediated immunity. *J Exp Med* 1994; 179:589.
119. Gershon, R. K. A disquisition on suppressor T cells. *Transplant Rev* 1975; 26:170.
120. Kanof, M. E., W. Strober, W. C. Kwan, N. A. O'Connell, and S. P. James. CD4⁺ Leu-8⁺ T cell supernatant activity that inhibits Ig production. *J Immunol* 1991; 147:155.
121. Nishizuka Y, Sakakura T. Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice. *Science* 1969;166;753-5.
122. Gershon RK, Kondo K. Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology* 1970;18;723-37.
123. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155; 1151-64.

124. Sakaguchi S et al. Immunologic tolerance maintained by CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev* 2001;182:18-32.
125. Ohata J et al. Enhanced efficacy of regulatory T cell transfer against increasing resistance, by elevated Foxp3 expression induced in arthritic murine hosts. *Arthritis rheum* 2007; 56;2947-56.
126. Umetsu DT. Understanding the immunological basis of asthma; immunotherapy and regulatory T cells. *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf A M*, 2006: 211-4; discussion 215-6.
127. Roncarolo, M. G., R. Bacchetta, C. Bordignon, S. Narula, and M. K. Levings. Type 1 T regulatory cells. *Immunol Rev* 2001; 182:68.
128. Oida, T., X. Zhang, M. Goto, S. Hachimura, M. Totsuka, S. Kaminogawa, and H. L. Weiner. CD4⁺CD25⁻ T cells that Express latency-associated peptide on the surface suppress CD4⁺CD45RB^{high}induced colitis by a TGF-beta-dependent mechanism. *J Immunol* 2003; 170:2516.
129. Sakaguchi S et al. Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Rev* 2006;212;8-27.
130. Chess L. The birth of functionally distinct T cell subsets. *J Immunol* 2006;176;3859-60.
131. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; 299; 1057-61
132. Bluestone JA, Tang Q. How do CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells control autoimmunity? *Curr Opin Immunol* 2005; 17; 638-42
133. Jiang H, Chess L. Regulation of immune responses by T cells. *N Engl J Med* 2006; 354; 1166-76.
134. Maloy, K. J., L. Salaun, R. Cahill, G. Dougan, N. J. Saunders, and F. Powrie. CD4⁺CD25⁺ T(R) cells suppress innate immune pathology through cytokine-dependent mechanisms. *J Exp Med*. 2003; 197:111.
135. Shevach, E. M. CD4⁺ CD25⁺ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol*. 2002; 2:389.
136. Shimizu, J., S. Yamazaki, T. Takahashi, Y. Ishida, and S. Sakaguchi. Stimulation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. *Nat Immunol*. 2002; 3:135.

137. McHugh, R. S., M. J. Whitters, C. A. Piccirillo, D. A. Young, E. M. Shevach, M. Collins, and M. C. Byrne. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity* 2002; 16:311.
138. Suri-Payer, E., and H. Cantor. Differential cytokine requirements for regulation of autoimmune gastritis and colitis by CD4(+)CD25(+) T cells. *J Autoimmun* 2001; 16:115.
139. Maloy, K. J., and F. Powrie. Regulatory T cells in the control of immune pathology. *Nat Immunol* 2001; 2:816.
140. Fontenot, J. D., M. A. Gavin, and A. Y. Rudensky. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003; 4:330.
141. Lan RY, Ansari AA, Lian ZX, Gershwin ME. Regulatory T cells: development, function and role in autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2005 Jul;4(6):351-63.
142. Sarkar S, Fox DA. Regulatory T cell defects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007 Mar;56(3):710-3
143. Fontenot, J. D., M. A. Gavin, and A. Y. Rudensky. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003; 4:330.
144. Khattri, R., T. Cox, S. A. Yasayko, and F. Ramsdell. An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells. *Nat Immunol* 2003; 4:337.
145. Ramsdell, F. Foxp3 and natural regulatory T cells: key to a cell lineage *Immunity* 2003; 19:165.
146. O'Garra, A., and P. Vieira. Twenty-first century Foxp3. *Nat Immunol* 2003; 4:304.
147. Baud, O., O. Goulet, D. Canioni, F. Le Deist, I. Radford, D. Rieu, S. Dupuis-Girod, N. Cerf-Bensussan, M. Cavazzana-Calvo, N. Brousse, A. Fischer, and J. L. Casanova. Treatment of the immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) by allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 2001; 344:1758.
148. Chen, W., W. Jin, N. Hardegen, K. J. Lei, L. Li, N. Marinos, G. McGrady, and S. M. Wahl. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+

- regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003; 198:1875.
149. Apostolou, I., and H. von Boehmer. In vivo instruction of suppressor commitment in naive T cells. *J Exp Med* 2004; 199:1401
150. Green, E. A., Y. Choi, and R. A. Flavell. Pancreatic lymph node-derived CD4(+)CD25(+) Treg cells: highly potent regulators of diabetes that require TRANCE-RANK signals. *Immunity* 2002; 16:183.
151. Kingsley, C. I., M. Karim, A. R. Bushell, and K. J. Wood. CD25+CD4+ regulatory T cells prevent graft rejection: CTLA-4- and IL-10-dependent immunoregulation of alloresponses. *J Immunol* 2002; 168:1080.
152. Hara, M., C. I. Kingsley, M. Niimi, S. Read, S. E. Turvey, A. R. Bushell, P. J. Morris, F. Powrie, and K. J. Wood. IL-10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigens in vivo. *J Immunol* 2001; 166:3789.
153. Asseman, C., S. Mauze, M. W. Leach, R. L. Coffman, and F. Powrie. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med* 1999; 190:995.
154. Sundstedt, A., E. J. O'Neill, K. S. Nicolson, and D. C. Wraith. Role for IL-10 in suppression mediated by peptide-induced regulatory T cells in vivo. *J Immunol* 2003; 170:1240.
155. Vieira, P. L., J. R. Christensen, S. Minaee, E. J. O'Neill, F. J. Barrat, A. Boonstra, T. Barthlott, B. Stockinger, D. C. Wraith, and A. O'Garra. IL-10-secreting regulatory T cells do not express Foxp3 but have comparable regulatory function to naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2004; 172:5986.
156. Nakamura, K., A. Kitani, and W. Strober. Cell contact-dependent immunosuppression by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta. *J Exp Med* 2001; 194:629.
157. Sarkar S, Fox DA. Regulatory T cell defects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007 Mar;56(3):710-3
158. Burkhart, C., G. Y. Liu, S. M. Anderton, B. Metzler, and D. C. Wraith. Peptide-induced T cell regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis: a role for IL-10. *Int Immunol* 1999; 11:1625.
159. Pontoux, C., A. Banz, and M. Papiernik. Natural CD4 CD25(+) regulatory T cells control the burst of superantigen-induced cytokine production: the role of IL-10. *Int Immunol* 2002; 14:233.

160. Barrat, F. J., D. J. Cua, A. Boonstra, D. F. Richards, C. Crain, H. F. Savelkoul, R. de Waal-Malefyt, R. L. Coffman, C. M. Hawrylowicz, and A. O'Garra. In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4(+) T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *J Exp Med* 2002; 195:603.
161. Miller, C., J. A. Rageb, and R. H. Schwartz. Anergy and cytokine-mediated suppression as distinct superantigen-induced tolerance mechanisms in vivo. *J Exp Med* 1999; 190:53.
162. Apostolou, I., A. Sarukhan, L. Klein, and H. von Boehmer. Origin of regulatory T cells with known specificity for antigen. *Nat Immunol* 2002; 3:756.
163. Haiying Liu and Bernard P Leung, CD4+ CD25+ Regulatory T cells in Health and Disease, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2006; 33: 519-524.
164. Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, Yagi H, Hori S, Fehervari Z, Shimizu J, Takahashi T, Nomura T. Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Rev.* 2006 Aug;212:8-27
165. Fontenot JD, Rasmussen JP, Williams LM, Dooley JL, Farr AG, Rudensky AY. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3. *Immunity.* 2005 Mar;22(3):329-41.
166. Roncador G, Brown PJ, Maestre L, Hue S, Martínez-Torrecuadrada JL, Ling KL, Pratap S, Toms C, Fox BC, Cerundolo V, Powrie F, Banham AH. Analysis of FOXP3 protein expression in human CD4+CD25+ regulatory T cells at the single-cell level. *Eur J Immunol.* 2005 Jun;35(6):1681-91.
167. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol.* 2003 Apr;4(4):330-6.
168. Magistrelli, G., P. Jeannin, N. Herbault, A. Benoit De Coignac, J. F. Gauchat, J. Y. Bonnefoy, and Y. Delneste. A soluble form of CTLA-4 generated by alternative splicing is expressed by nonstimulated human T cells. *Eur J Immunol* 1999; 29:3596
169. Dariavach, P., M. G. Mattei, P. Golstein, and M. P. Lefranc. Human Ig superfamily CTLA-4 gene: chromosomal localization and identity of protein sequence between murine and human CTLA-4 cytoplasmic domains. *Eur J Immunol* 1988; 18:1901
170. Harper, K., C. Balzano, E. Rouvier, M. G. Mattei, M. F. Luciani, and P. Golstein. CTLA-4 and CD28 activated lymphocyte molecules are closely related in

- both mouse and human as to sequence, message expression, gene structure, and chromosomal location. *J Immunol* 1991;147:1037.
171. Linsley, P. S., S. G. Nadler, J. Bajorath, R. Peach, H. T. Leung, J. Rogers, J. Bradshaw, M. Stebbins, G. Leytze, W. Brady, and et al. Binding stoichiometry of the cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 (CTLA-4). A disulfide-linked homodimer binds two CD86 molecules. *J Biol Chem* 1995; 270:15417.
 172. Ling, V., P. W. Wu, H. F. Finnerty, A. H. Sharpe, G. S. Gray, and M. Collins. Complete sequence determination of the mouse and human CTLA4 gene loci: cross-species DNA sequence similarity beyond exon borders. *Genomics* 1999; 60:341.
 173. Oaks, M. K., K. M. Hallett, R. T. Penwell, E. C. Stauber, S. J. Warren, and A. J. Tector. A native soluble form of CTLA-4. *Cell Immunol* 2000; 201:144.
 174. Makoto Miyaral and Shimon Sakaguchi, Natural Regulatory T Cells: Mekhanisms of suppression. *TRENDS in Molekuler Medicine* 2007; 13:3 108-15.
 175. O'Garra, A., and P. Vieira. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. *Nat Med* 2004; 10:801.
 176. Jocea M.R. Van Amelsfort, Kim M.G. Jacobs, Johannes W.J. Bijlsma, Floris P.J.G. Lafeber, and Leonie S. Taams. CD4+ CD25+ Regulatory T Cells in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 2004;50:2775- 2785.
 177. Reginald M. Gorczynski, Lydia Lee, and Ivo Boudakov. Augmented Induction of CD4+ CD25+ Treg using Monoclonal Antibodies to CD200R. *Transplantation* Volume 79, Number 9, may 15, 2005.
 178. Gregg R, Smith CM, Clark FJ, Dunnion D, Khan N, Chakraverty R, Nayak L, Moss PA. The Number of Human Peripheral Blood CD4+ CD25 high Regulatory T Cells increases With Age. *Clinical and Experimental Immunology*. 2005;140:540-546.
 179. Glassock RJ. The pathogenesis of IgA nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 20: 153-160, 2011.
 180. Gomez-Guerrero C, Lopez-Armada MJ, Gonzalez E, Egido J. Soluble IgA and IgG aggregates are catabolized by cultured rat mesangial cells and induce production of TNF-alpha and IL-6, and proliferation. *J Immunol* 153: 5247-5255, 1994.
 181. Gourley MF, Austin HA, III, Scott D, Yarboro CH, Vaughan EM, Muir J, Boumpas DT, Klippel JH, Balow JE, Steinberg AD. Methylprednisolone and cyclophosphamide, alone or in combination, in patients with lupus nephritis. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 125: 549-557, 1996.

182. Goyal A, Crook ED. Thiazolidinediones and progression of renal disease in patients with diabetes. *J Investig Med* 54: 56-61, 2006.
183. Griffin KA, Bidani AK. Progression of renal disease: Renoprotective specificity of renin-angiotensin system blockade. *Clin JAmSoc Nephrol* 1: 1054-1065, 2006.
184. Gross O, Girgert R, Rubel D, Temme J, Theissen S, Muller GA. Renal protective effects of aliskiren beyond its antihypertensive property in a mouse model of progressive fibrosis. *Am J Hypertens* 24: 355-361, 2011.
185. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, McCann LA, Rahman A, Dikalov S, Goronzy J, Weyand C, Harrison DG. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med* 204: 2449-2460, 2007.
186. Haak-Frendscho M, Marsters SA, Mordenti J, Brady S, Gillett NA, Chen SA, Ashkenazi A. Inhibition of TNF by a TNF receptor immunoadhesin. Comparison to an anti-TNF monoclonal antibody. *J Immunol* 15: 1347-1353, 1994.
187. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD, Karpouzas GA, Merrill JT, Wallace DJ, Yazdany J, Ramsey-Goldman R, Singh K, Khalighi M, Choi SI, Gogia M, Kafaja S, Kamgar M, Lau C, Martin WJ, Parikh S, Peng J, Rastogi A, Chen W, Grossman JM. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 64: 797-808, 2012
188. Moustapha A, Naso A, Nahlawi M, et al. Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998;97:138- 41.
189. Lilien M, Duran M, Hoeck KV, Poll-The BT, Schroder C. Hyperhomocysteinemia in children with renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:366-8.
190. Massry S, Smogorzewski M. Mechanisms through which parathyroid hormone mediates its deleterious effects on organ function in uremia. *Semin Nephrol* 1994;14:219-31.
191. Oh J, Wunsch R, Turzer M, et al. Advanced coronary and carotid arteriopathy in young adults with childhood-onset chronic renal failure. *Circulation* 2002;106:100-5.

192. Mitsnefes MM, Kimball TR, Kartal J, et al. Cardiac and vascular adaptation in pediatric patients with chronic kidney disease: role of calcium-phosphorus metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2796-803.
193. 195. Sylvestre LC, Fonseca KP, Stinghen AE, Pereira AM, Meneses RP, Pecoits-Filho R. The malnutrition and inflammation axis in pediatric patients with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007;22:864-73.
194. Balakrishnan VS, Guo D, Rao M, et al. Cytokine gene polymorphisms in hemodialysis patients: association with comorbidity, functionality, and serum albumin. *Kidney Int* 2004;65:1449-1460.
195. Pecoits-Filho R, Sylvestre LC, Stenvinkel P. Chronic kidney disease and inflammation in pediatric patients: from bench to playground. *Pediatr Nephrol* 2005;20:714-20.
196. Demir M, Tonbul HZ. Son Dönem Böbrek Yetmezlikli Hastalarda Malnütrisyon-İnflamasyon-Ateroskleroz (MİA Sendromu). *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2005;14:160-5.
197. Campderá F, Vega A, Abad S, Luño J (2006) Effects of atorvastatin on inflammatory and fibrinolytic parameters in patients with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 17: S231–S235
198. Quiroz Y, Ferrebuz A, Romero F, Vaziri ND, Rodriguez-Iturbe B (2008) Melatonin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and progression of renal damage in rats with renal mass reduction. *Am J Physiol* 294:F336–344T
199. Tu X, Chen X, Xie Y, Shi S, Wang J, Chen Y, Li J (2008) Antiinflammatory renoprotective effect of clopidogrel and irbesartan in chronic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 19:77–83
200. Schlondorff D (1987) The glomerular mesangial cell: an expanding role for a specialized pericyte. *FASEB J* 1:272– 281
201. Zu N, Li P, Li N, Choy P, Gong Y (2007) Mechanism of saikosaponin-d in the regulation of rat mesangial cell proliferation and synthesis of extracellular matrix proteins. *Biochem Cell Biol* 85:169–174
202. Gong R, Rifai A, Dworkin LD (2006) Anti-inflammatory effect of hepatocyte growth factor in chronic kidney disease: targeting the inflamed vascular endothelium. *J Am Soc Nephrol* 17:2464–2473
203. Sankaran D, Bankovic-Calic N, Ogborn MR, Crow G, Aukema HM (2007) Selective COX-2 inhibition markedly slows disease progression and attenuates altered

prostanoid production in Han:SPRD-cy rats with inherited kidney disease. *Am J Physiol* 293: F821–F830

204. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH (1998) Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 98:731–733
205. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C (1999) Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 55:648–658
206. Schwarz U, Buzello M, Ritz E, Stein G, Raabe G, Wiest G, Mall G, Amann K (2000) Morphology of coronary artery atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 15:218–223
207. Landray M, Wheeler D, Lip GY, Nwman DJ, Blann AD, McGlynn FJ, Ball S, Townend JN, Baigent C (2004) Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: The Chronic Renal Impairment in Birmingham (CRIB) Study. *Am J Kidney Dis* 43:244–253
208. Morris ST, Jardine AG (2000) The vascular endothelium in chronic renal failure. *J Nephrol* 13:96–105
209. Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Malatino LS, Zoccali C (2005) Prognostic value of combined use of biomarkers of inflammation, endothelial dysfunction, and myocardial pathology in patients with ESRD. *Kidney Int* 67:2330–2337 cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 9:s16–s23

ÖZGEÇMİŞ

İLETİŞİM BİLGİLERİ

Adı, Soyadı :Özgür ŞENOL

Adres : Kurtuluş cad. Özkoç apt. No:65/4
Bornova/İzmir/TURKEY

Telefon : GSM +90 536 766 75 99

E-mail : ozgursenol88@gmail.com



KİŞİSEL BİLGİLER

Kendimi kişisel becerileri gelişmiş, bilimsel ve grup çalışmasına rahatlıkla uyum sağlayabilen sürekli kendini geliştirmekte olan bir kişi olarak tanımlıyorum. Mesleki sorunlara rahatlıkla çözüm getirebilen, yeni fikirlere açık, düzenli olarak bilimsel gelişmeleri takip eden ve sorumluluk sahibi olan bir biyolog olarak kendimi görmekteyim.

İŞ DENEYİMİ

03.02.2014 - Ege Üniversitesi Hastanesi Doku Tipi Laboratuvarı (Biyolog)

EĞİTİM

09/2012- Ege Üniversitesi- Sağlık Bilimleri Enstitüsü- Kök Hücre (Yüksek Lisans)

2010-2012 Kocaeli Üniversitesi – Eğitim Fakültesi- Pedagojik Formasyon

09/2008 – 06/2012 Kocaeli Üniversitesi – Fen Fakültesi – Biyoloji Bölümü (Lisans)

09/2001 – 06/2006 Suphi Koyuncuoğlu Lisesi – Fen/Matematik Bölümü (Lise)

BİLİMSEL PROJELER

- 2014- İdiopatik Nefrotik Sendrom prognozunda Treg Hücrelerin Rolü
- 2014- Regülatör T Hücrelerin Kronik Böbrek Hastalığına Bağlı Vaskülopatideki Rolü
- 2013- Kronik Böbrek Hastalarında Regülatör Hücrelerin Rolü

2010 - 2012 "Buğdayda (Triticum aestivum) farklı egzoz emisyonlarının oluşturduğu anatomik ve morfolojik değişikliklerin ve pyrogenic PAH birikiminin araştırılması", Mine TERZİ, Halim Aytekin ERGÜL, Özlem AKSOY, Metehan DURMUŞ, Özgür ŞENOL, 20.Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiriler Kitabı, , 289, 290, (2010)

STAJ

- 01/09/2013- Ege Üniversitesi Hastanesi - Doku Tipi Laboratuvarı
- 01/01/2013- 01/03/2013 Ege Üniversitesi – Embriyoloji ve Histoloji Laboratuvarı
- 11/11/2012-28/12/2013 Ege Üniversitesi - Moleküler Tıp Laboratuvarı
- 03/04/2011-04/06/2011 Kocaeli Üniversitesi Hidrobiyoloji Laboratuvarı
- 01/08/2011 – 30/08/2011 İstanbul Adli Tıp Kurumu – Biyoloji Bölümü

SERTİFİKALAR

- Certificate (2013) Flow Cytometry Using Certificate in İstanbul Üniversitesi DETAE
- Certificate(2012) Stem Cell Convention in Marmara University
- Certificate(2012) National Biology Convention in Ege University
- Certificate(2010) National Biology Convention in Pamukkale University

BİLGİSAYAR

Word, Excel, Powerpoint, Outlook: İyi

YABANCI DİLLER

İngilizce: Okuma: Çok İyi, Yazma: Çok İyi Konuşma: İyi YDS : 62,5

Almanca: **Okuma:** Başlangıç, **Yazma:** Başlangıç, **Konuşma:** Başlangıç

HOBİLER VE SOSYAL AKTİVİTE

Hobiler : Müzikal enstrümanlar çalmak, spor yapmak, fotoğraf çekmek ve düzenlemek, seyahat etmek, kitap okumak, çeşitli türde dergileri ve yayınları takip etmek.

Etkinlikler : * Kocaeli Üniversitesi Müzik Kulübü Üyeliği (2008 -2012)
* Kocaeli Üniversitesi Tiyatro Kulübü Üyeliği (2008-2012)
* Kocaeli Üniversitesi Türk Sanat Müziği Korusu

Koro Elemanı (2008-2012)

KULÜP ÜYELİKLERİ

- Ege Üniversitesi- Kök Hücre Kulübü
- Kocaeli Üniversitesi- Biyoloji Kulübü
- Ege Üniversitesi- Müzik Kulübü
- Ege Üniversitesi- Tiyatro Kulübü

