



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI**

**DİYABETES MELLİTUS VE SON DÖNEM BÖBREK
HASTALIĞININ PERİFERİK KANDAKİ CD34 +
HÜCRE SAYISI ÜZERİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. İlker ALTUN

KAYSERİ – 2011



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI**

**DİYABETES MELLİTUS VE SON DÖNEM BÖBREK
HASTALIĞININ PERİFERİK KANDAKİ CD34 +
HÜCRE SAYISI ÜZERİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. İlker ALTUN

**Danışman
Doç. Dr. Bülent ESER**

KAYSERİ – 2011

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması ve yürütülmesi aşamasında yardımlarını esirgemeyen başta Doç. Dr. Bülent Eser olmak üzere Doç. Dr. Fatih Tanrıverdi, Uzm. Dr. İsmail Koçyiğit ve çalışma arkadaşım Dr. Haluk Mumcuoğlu'na, eğitimimde emeği geçen saygıdeğer hocalarıma, Akan Hücre Ölçüm Laboratuvarı'nın değerli çalışanlarına, 5 yıllık ihtisasım süresince beraber, omuz omuza çalıştığım tüm arkadaşlarıma ve beni ben yapan, bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan canımdan çok sevdiğim anneme, babama ve kardeşlerime çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iii
TABLO LİSTESİ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI	3
2.1.1. Evreleme	3
2.1.2. Etiyoloji	4
2.1.3. KBH'nın Seyri	5
2.1.4. Tanı	5
2.1.5. Tedavi	6
2.2. DİYABETİK NEFROPATİ	6
2.2.1. Diyabetik Nefropati Evrelemesi	6
2.2.2. Diyabetik Nefropati Patogenezi	7
2.3. AKIM SİTOMETRİ	9
2.3.1. CD34 + Hücre Sayım Teknikleri	10
2.4. KÖK HÜCRELER	11
2.4.1. Kök Hücre Tipleri	13
2.4.2. Embriyonik Kök Hücreler (EKH)	13
2.4.3. Erişkin Kök Hücreler	13
2.4.4. Hematopoietik Kök Hücreler (HKH)	14
3. HASTALAR ve YÖNTEM	16
3.1. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER	18
4. BULGULAR	19
5. TARTIŞMA	24
6. SONUÇLAR	29
7. KAYNAKLAR	31

KISALTMALAR

ACE	: Anjiotensin converting enzim
BK	: Beyaz küre
CD	: Cluster of differantiation
DM	: Diyabetes mellitus
DM-KBH	: Diyabetik kronik böbrek hastalığı
DNp	: Diyabetik nefropati
EKH	: Embriyonik kök hücre
GFH	: Glomerüler filtrasyon hızı
HB	: Hemanjioblast
Hb	: Hemoglobin
HKH	: Hematopoietik kök hücre
HLA	: Human Leucocyte Antijen
KBH	: Kronik böbrek hastalığı
KİT	: Kemik iliği transplantasyonu
MAPC	: Multipotent erişkin progenitor hücreler
MDRD	: Modification of diet in renal disease
MKH	: Mesenkimal kök hücre
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NON-DM KBH	: Diyabetik olmayan kronik böbrek hastalığı
PE	: Phycoerytrin
PLT	: Platelet
RRT	: Renal replasman tedavisi
SDBH	: Son dönem böbrek hastalığı
TGFβ-1	: Transforming growth faktör beta-1
VEGF	: Vasküler endotel growth faktö

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Kronik böbrek hastalığının evreleri.....	4
Tablo 2.	Kronik böbrek hastalığına neden olan hastalıklar ve Türkiye’deki insidansları	4
Tablo 3.	Hasta ve kontrol gruplarının temel karakteristik özellikleri	19
Tablo 4.	Gruplar arasındaki BK, Hb, BFT ve GFH düzeylerinin karşılaştırılması	20
Tablo 5.	Gruplar arasında CD34 düzeylerinin karşılaştırılması	21
Tablo 6.	Spearman korelasyon analizi kullanılarak bazı klinik parametrelerin CD34 hücre sayısı ile korelasyonu	22
Tablo 7.	Yaş ve grupların CD34 üzerine etkisinin çoklu doğrusal regresyon analizi ile değerlendirilmesi	22
Tablo 8.	Yaş, KBH ve DM’un CD34 üzerine etkisinin çoklu doğrusal regresyon analizi ile değerlendirilmesi	23

DİYABETES MELLİTUS VE SON DÖNEM BÖBREK HASTALIĞININ PERİFERİK KANDAKİ CD34 + HÜCRE SAYISI ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Farklı hücre tiplerine dönüşebilme potansiyeline ve kendisini yenileyebilme yeteneğine sahip olan hücrelere kök hücre denir. Vücudumuzdaki herhangi bir hücre grubunda ölüm ya da hasar meydana gelince kök hücreler hangi hücreye ihtiyaç varsa o hücreye dönüşüm gösterirler. Özellikle diyabetes mellitus (DM) gibi kronik hastalıklarda kök hücre miktarında azalma meydana gelir. Bu nedenle dönüşüm ve onarım mekanizmaları bozulur ve hastalığın progresyonu olumsuz yönde etkilenir. Diyabetik nefropati DM'un komplikasyonlarından birisidir ve dünyada son dönem böbrek hastalığının (SDBH) en sık görülen nedenidir. Bu çalışmanın amacı SDBH ve diyabetin periferik kandaki kök hücre miktarına etkisini araştırmaktır.

Hastalar ve Yöntem: Bu çalışmaya 2010 Eylül, 2011 Şubat tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı servisine yatırılan SDBH tanısı almış ve daha önce hiç diyaliz yapılmamış 65, Endokrinoloji Bilim Dalı polikliniğine ayaktan başvuran nefropatisi olmayan DM tanısı olan 25 hasta ve 31 sağlıklı gönüllü alındı. SDBH tanısı olan grup etyolojik olarak DM olan (DM-KBH) (n:29) ve DM olmayan (NON-DM KBH) (n:36) diye ikiye ayrıldı. Tüm hasta ve sağlıklı gönüllülerden bir defaya mahsus olmak üzere rutin tam kan sayımı, böbrek fonksiyon testi ve periferik kandan CD34 + hücre sayısına bakıldı. Tüm hastaların idrar mikroalbumin/kreatinin düzeylerine bakıldı ve glomerüler filtrasyon hızları iki farklı yöntemle hesaplandı.

Bulgular: Tüm gruplar karşılaştırıldığında sağlıklı grup ile kıyaslandığında DM kontrol grubunda ve DM olan SDBH grubunda CD34 + hücre sayısı anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). DM olmayan SDBH grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). SDBH olan grupta DM olan hastalarda CD34 + hücre sayısı DM olmayan hastalarla kıyaslandığında anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.05$). Mikroalbumin/kreatinin oranı ile CD34 + hücre sayısı arasında orta düzeyde negatif korelasyon mevcuttu.

Sonuç: Sağlıklı kontrol grubunda CD34 + hücre sayısı DM-KBH ve DM kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı. NON-DM KBH grubunda CD34 + hücre sayısı, DM-KBH grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak daha yüksek saptandı. Sonuç olarak bu çalışmada DM'ta ve diyabetik nefropatiye bağlı gelişen SDBH olgularında CD34 + hücre sayısında anlamlı miktarda azalma olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik Nefropati, Kronik Böbrek Hastalığı, Hematopoietik Kök Hücre

EFFECT OF DIABETES MELLITUS AND END STAGE RENAL DISEASE ON THE COUNT OF PERIPHERAL BLOOD CD34 + CELL

ABSTRACT

Aim: Stem cell are cells which have the potency of transforming to different cell types and have the ability to self renewal. In case of death or damage for any group of cells in our body, stem cells transform to cells which are needed. Number of stem cells decline in chronic diseases such as diabetes mellitus (DM). So, the mechanisms for transforming and repair are breakdown and the course of the disease is impaired. Diabetic nephropathy is one of the complications of DM and the most common cause of end-stage renal disease (ESRD) worldwide. In this study, the aim was to determine the number of peripheral stem cell count in patients with diabetes mellitus and ESRD.

Patients and Methods: This study was performed from 2010 September to 2011 February with; 65 hospitalized patients whom had diagnosed as ESRD but not on hemodialysis in Department of Nephrology, 25 diabetic patients without diabetic nephropathy admitted to outpatient clinic of Department of Endocrinology of Erciyes University and 31 healthy volunteers. The group ESRD was divided into two; as diabetic (DM-CKD) (n=29) and non-diabetic (NON-DM CKD) (n=36). Complete blood count, renal function tests and CD34 + cell count was analysed once from all patients and control group. The microprotein/creatinin levels were measured and glomerular filtration rates were calculated with two different methods.

Results: Compared among all groups, CD34 + cell count was found statistically lower in DM group and DM group with ESRD compared with the healthy group ($p<0.05$). There was no statistically significant difference between non-diabetic ESRD and healthy group. ($p>0.05$). CD34 + cell count was significantly lower in diabetic ESRD compared with group non-diabetic ESRD($p<0.05$). There was a moderate negative correlation between microalbumin/creatinin levels and CD34 + cell count.

Conclusion: The count of CD34 + cells in healthy control group was significantly higher than DM-CKD and DM control group. The count of CD34 + cells in NON-

DM CKD group was significantly higher when it's compared with DM-CKD group. In conclusion this study showed that CD34 + cell count was significantly declined in patients with DM and ESRD due to diabetic nephropathy.

Key Words: Diabetic Nephropathy, Chronic Renal Disease, Hematopoietic Stem Cell

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllarda gerek allojeneik gerekse otolog kemik iliği transplantasyonlarının artması sonucunda kök hücre naklinin birçok dokuda ikincil faydalarının olduğu anlaşılmıştır. Hematopoetik kök hücrenin doku onarımı ve rejenerasyon potansiyelleri ve immunosupresif ve gezici özellikleri mevcuttur. İntravenöz infüzyon sonrası genellikle kemik iliğine yönelir ve burada yerleşme eğilimi gösterirler. Eğer inflamasyonun bulunduğu bir doku varsa bu bölgeye de yerleşebilirler (1).

Kök hücrelerin hareketleri, kemokinlerin az yoğun olduğu bölgeden daha yoğun olduğu bölgeye doğrudur. İnflamasyon bölgesinde artmış kemokin düzeyleri kök hücreleri bulundukları bölgeye çekerler.

Kök hücrelerin mezodermal dokulara dönüşebildiği bilinmekle beraber plastisiteyi sayesinde invitro koşullarda nöron gibi ektodermal, hepatosit gibi endodermal dokulara dönüşümü de sağlanabilmiştir. Kolay elde edilebilirliği, yüksek çoğaltılabilme potansiyeli ve moleküler biyoloji mühendisliği ile çeşitli değişikliklerin yapılabilmesi bu hücrelerin doku onarımı ve yenilenmesinde kullanılabilmesini sağlamaktadır. Çalışmalarda beyin, miyokard, karaciğer, pankreas ve eklem hasarını onarabildikleri gösterilmiştir (2).

Diyabetes mellitus (DM) dünyada en yaygın görülen kronik hastalıklardan birisidir ve özellikle pankreas beta hücrelerinde yıkım ve buna bağlı olarak insülin salgılamasında azalma fizyopatolojide önemli rol oynamaktadır. Kök hücre replasmanı

yapılarak bu hücrelerin onarılabileceği ile ilgili çalışmalar mevcuttur (2). Böylece glisemik kontrol sağlanarak komplikasyon riski en aza indirilebilir. DM tanısı olan hastalarda diyabetik nefropati sık görülen (%25 ile %40) bir komplikasyondur. Diyabetik nefropati hastalarının da yarısından fazlası son dönem böbrek hastalığına gidiş göstermektedir Bu çalışmada son dönem böbrek hastalığı ve DM tanısı olan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre periferik kan kök hücre miktarındaki değişikliği araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI

Kronik böbrek hastalığı (KBH), çeşitli nedenlere bağlı olarak nefronların ilerleyici ve geri dönüşümsüz olarak kaybı ile ortaya çıkan bir sendromdur. Hastalığın başlangıcından itibaren renal replasman tedavisi (RRT) ihtiyacı ortaya çıkıncaya kadar geçen süre temelde yatan nedene göre değişiklikler göstermektedir. Süreç başladıktan sonra glomerüler filtrasyon hızı (GFH) zamanla azalır. GFH azaldıkça üremiye bağlı semptomlarda artış olur. Serum kreatinin konsantrasyonu, azalmış GFH, albüminüri gibi böbrek hasarı göstergelerinin toplumda tam olarak ortaya konması mümkün olmadığından hastalığın net prevalansını belirlemek zordur (3). Türk Nefroloji Derneği'nin 2008 yılı verilerine göre Türkiye'de RRT gerektiren son dönem böbrek hastalığı (SDBH) nokta prevalansı milyon nüfus başına 756 ve insidansı ise milyon nüfus başına 188 olarak saptanmıştır (4).

2.1.1. Evreleme

KBH, GFH'na göre beş evreye ayrılır (5). Bu evrelere ait özellikler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Kronik böbrek hastalığının evreleri

Evre	
Evre 1	GFH 90 ml/dk/1,73m ² ve üzerindedir. Ancak beraberinde renal hasar bulguları
Evre 2	GFH 60-89 ml/dk/1,73m ² arasındadır. Persistan albüminüri mevcuttur.
Evre 3	GFH 30-59 ml/dk/1,73m ²
Evre 4	GFH 15-29 ml/dk/1,73m ²
Evre 5	GFH 15 ml/dk/1,73m ² 'nin altındadır (Son dönem böbrek hastalığı)

2.1.2. Etiyoloji

KBH'na yol açan nedenlerin dağılımı ülkeden ülkeye, cinsiyet ve ırka göre farklılıklar göstermesine rağmen hastalığın etiyolojisinde en sık neden diyabetes mellitustur (DM) (6). Ülkemizde KBH nedenleri tablo 2 özetlenmiştir (4).

Tablo 2. Kronik böbrek hastalığına neden olan hastalıklar ve Türkiye'deki insidansları

Hastalık	İnsidansı (%)
Diyabetes mellitus (DM)	27,9
Hipertansif böbrek hastalığı	26,4
Kronik glomerülonefrit	8,7
Kistik renal hastalıklar	4,4
Pyelonefrit	4,2
Amiloidoz	2,1
Renal vasküler hastalıklar	1,2
Diğer nedenler	7,8
Etiyolojisi bilinmeyen	16,1

2.1.3. KBH'nın Seyri

KBH sürecinde temel sorun, böbrek fonksiyonlarının önlenemez bir şekilde bozulması sonucu hastalığın son dönem böbrek hastalığına (SDBH) ilerlemesidir (7). Böbrek fonksiyonları bozuldukça hem hastalığın komplikasyonları, hem de buna bağlı mortalite ve morbidite artmaktadır. Hastalığın seyri ve ilerlemesi GFH ölçümü, kreatinin klirensinin hesaplanması veya serum kreatininin takip edilmesi ile veya takipteki hastanın renal replasman tedavisi ihtiyacının ortaya çıkması ile değerlendirilebilir (5). GFH, böbrek hastalığının hem tanısında hem de takibinde en önemli parametrelerden biridir. Toplanan 24 saatlik idrar ile hesaplanabileceği gibi cinsiyet, yaş ve ırka göre de değişik formüllerle hesaplanabilir:

24 saatlik idrar toplanarak kreatinin klirensi hesaplanması: Kreatinin klirensi (ml/dk)= İdrar kreatinini (mg/dl) x İdrar volümü (ml/24 saat)/ Serum kreatinini (mg/dl) x 1440

MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) formülü (8): GFH= 186 x [(Serum kreatinini mg/dl)-1,154] x [(Yaş)-0,203] x [0,742 (kadın) ise]

Cockcroft-Gault formülü (9): Kreatinin klirensi (ml/dk) = (140-Yaş) x İdeal kilo / (72 x Serum kreatinini) (Bulunan değer kadınlarda 0,85 ile çarpılmalıdır)

Yaş ilerledikçe bazal böbrek fonksiyonlarında meydana gelen bozulma diyalize giren popülasyonun en önemli kısmının neden yaşlılar tarafından oluşturulduğunu açıklamaktadır (10,11). Seyri değiştirilemeyen faktörlerin yanında proteinüri, hipertansiyon, kan şekeri kontrolü, sigara, dislipidemi, kalsiyum-fosfor dengesi ve aneminin kontrolü gibi değiştirilebilir faktörler GFH'ndaki azalmayı etkileyebilmektedir (5).

2.1.4. Tanı

Kan üre azotu ve kreatinin düzeyinde yükseklik böbrek hastalığı tanısının konulmasında önemli parametrelerdir. Akut ve kronik böbrek hastalığının ayrımı ise daha ileri tetkikler gerektirebilir. Böbreklerin küçüldüğünün radyolojik olarak gösterilmesi, aneminin varlığı, üremik kemik hastalığı bulgularının ortaya çıkışı, öyküde hastalığın en sık nedenleri olan DM ve hipertansiyon gibi hastalıkların bulunması KBH tanısını koydurmada yardımcıdır. Semptomların uzun süreli olması ve palyatif önlemlerle tamamen giderilememesi de hastalığın kronik olduğunun dolaylı göstergeleri olabilir (12).

2.1.5. Tedavi

KBH sürecindeki bir hastaya klinik yaklaşım birçok faktörü içermektedir. Böbreklerin rezervlerini saptamak, geri döndürülebilir faktörleri düzeltmek, hastalığın ilerlemesini durdurmak ya da yavaşlatmak, komplikasyonları önlemek, yaşam kalitesini artırmak ve SDBH evresinde diyaliz veya transplantasyon gibi RRT yöntemlerini uygulamak hastalık tedavisinde temel basamakları oluşturmaktadır. Temel olarak iki tip diyaliz yöntemi vardır:

1. Hemodiyaliz (HD)

2. Periton diyalizi (PD)

Bu iki diyaliz yönteminin hangisinin daha iyi olduğu, daha uzun hasta sağ kalımı sağladığı tam olarak ortaya konamamıştır. Transplantasyon günümüzde SDBH tedavisinde seçilecek altın standart yöntemdir. Diyalize göre daha efektif ve rölatif maliyeti daha düşüktür (13,14). Ancak tüm dünyada temel sorun transplantasyon yapılacak böbrek bulmaktır. Bu nedenle diyaliz tedavileri renal replasman amacıyla en sık başvurulanan yöntemlerdir.

2.2. DİYABETİK NEFROPATİ

Ülkemizde ve dünyada SDBH nedenleri arasında diyabetik nefropati birinci sırada yer almaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde düzenli diyaliz tedavisine giren hastaların %40'ını DM'ye bağlı SDBH oluşturmaktadır. Ülkemizde de Türk Nefroloji Derneği 2008 verilerine göre hemodiyaliz hastaları arasında DM %30,7 ile SDBH nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır (15). Diyabetik nefropati gelişiminde genetik yatkınlık, hiperglisemi süre ve şiddeti, hipertansiyon, renin anjiyotensin aldosteron sistemi aktivasyonu ve sigara kullanımı risk faktörleridir (16). Obezite, insülin rezistansı, hiperlipidemi, diyetle yüksek protein alımı, albüminüri varlığı ise prognozu kötüleştirilmektedir (17).

2.2.1. Diyabetik Nefropati Evrelemesi

Diyabetik nefropati gelişim süreci 5 evrede incelenmektedir (16):

- Evre I (hiperfiltrasyon): Glomeruler filtrasyon hızı (GFR) normal değerin %20-40'ı oranında artmıştır. Nefronlarda hipertrofi gelişmiş olup idrarda mikroalbumin saptanmamaktadır.

- Evre II (sessiz dönem): GFR, hiperfiltrasyon evresine göre azalmış olmakla birlikte halen normalin üzerinde veya normaldir. Glomeruler bazal membranda kalınlaşma ve mezangial matrikste artış vardır
- Evre III (gizli nefropati): İdrarla albumin atılımı 30–300 mg/gün arasındadır. GFR yılda yaklaşık 1,1 ml/dk azalır. Tip 2 DM hastalarının çoğu tanı konduğunda bu dönemdedir.
- Evre IV (aşıkâr nefropati): Günde 300 mg'ı aşan albuminüri ve 500 mg'ı aşan proteinüri vardır. Bu evrede GFR yılda 10–12 ml/dk azalır. Hastaların çoğu hipertansiftir. Hipertansiyon varlığı prognozu kötüleştirir.
- Evre V (son dönem böbrek hastalığı): Tip 1 DM hastalarının %50'si, tip 2 DM hastalarının ise %20-30'u, 10 yıl içinde evre IV'ten V'e ilerler. Bu dönemde hastaların renal replasman tedavisine gereksinimi vardır.

2.2.2. Diyabetik Nefropati Patogenezi

Genetik: Yapılan çalışmalarda tip 1 ve tip 2 diyabetin her iki formunda da diyabetik nefropati'nin ailesel kümelenme gösterdiği ortaya konmuştur (18,19). Ailevi yatkınlık, genetik bir bozukluğun varlığını düşündürmekle birlikte, Diyabetik nefropati gelişimiyle ilişkilendirilebilecek bir gen açıkça gösterilememiştir. Bazı çalışmalar, anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) geni üzerindeki 5 delesyon ile Diyabetik nefropati arasındaki ilişkiye dikkat çekmekte ise de çelişkili sonuçlar da bildirilmiştir (20,21).

Hiperglisemi: DM'de kronik hiperglisemi sonucu glukozun aracılık ettiği metabolik değişiklikler komplikasyonların gelişmesinde ana hazırlayıcıdır. Diyabetik nefropati gelişiminde bu metabolik olayların birbirleriyle etkileşim içinde olduğu anlaşılmıştır. Glukozun etkisiyle yapımı artan radikal oksijen ürünlerinin bu metabolik yolların aktivasyonu ve karşılıklı etkileşiminde önemli olduğu anlaşılmıştır (22). Hipergliseminin etkili olduğu metabolik yollar aşağıda sunulmaktadır:

a-Glukozun direkt toksik etkileri (glukotoksisite): Glukoz, hücrelere doğrudan toksik etkide bulunur. Glukozun direkt toksik etkileri arasında hücre çoğalması, hücre dışı matriks birikimine neden olan kollajen, fibronektin, laminin, transforming growth faktör beta-1 (TGFβ-1) sentez artışı ve mezangial hücrelerde azalmış heparan sülfat sentezine bağlı proteinüri bulunmaktadır (23).

b-Polyol yolu aktivasyonu: Böbrekler, lens ve retinaya glukozun geçişi insülden bağımsızdır (16). Glukoz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) varlığında, aldoz redüktaz enzimi tarafından sorbitole dönüştürölür. Hiperglisemide bu dönüşümün artması ile tüketime bağı olarak NADPH azalırken sorbitol artar.

Sorbitol nikotinamid adenin dinükleotid varlığında, sorbitol dehidrogenaz enzimiyle fruktoza dönüştürölür. Fruktozun non-enzimatik glikozillenmesi sonucu aşırı glikozillenmiş son ürünler oluşur ve doku hasarına neden olur. Ayrıca hücre içinde artan sorbitol etkisiyle miyoinositol ve Na⁺-K⁺ATP'az (sodyum-potasyum adenozin trifosfataz) aktivitesi azalır. Sodyum hücre içinde birikir, osmoregülasyon bozulur, hücre ödemi ve fonksiyon bozukluğı ortaya çıkar. NADPH, nitrik oksit sentezi ve serbest radikallerin uzaklaştırılmasında rol alan glutatyon yapımında kullanılır.

Hiperglisemide NADPH tüketiminin artması ile nitrik oksit yapımı azalır, serbest radikallere bağı vasküler hasar gelişir (23).

c-Non enzimatik glikozillenme ve ileri glikozilasyon son ürünleri: Enzim aracılığı olmaksızın aminoasit, lipid ve lipoproteinlerin kendiliğinden indirgenmesiyle ilk basamakta Amadori cisimleri meydana gelir. Daha sonraki basamakta hiperglisemi düzeyine bağı olarak aşırı glikozillenmiş son ürün oluşur (24). Artmış son ürün oluşumu, diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarının patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (25).

Oksidatif stres: Diyabetteki vasküler değışiklikler, hücre hasarına neden olan radikal oksijen ürünleri ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşur (26). Bu vasküler değışiklikler diyabetin tüm mikro ve makrovasküler komplikasyonlarından sorumlu tutulmaktadır (25).

Büyüme faktörleri: Diyabetik nefropati gelişiminde, büyüme faktörlerinin uygunsuz sentezi önemli rol oynamaktadır (27). TGFβ-1, doku onarımı ile ilgili fizyolojik işlevleri düzenler, hücrelerdeki matriks protein sentezini uyarır, hücre farklılaşması ve çoğalmasını etkiler. Hiperglisemi TGFβ-1 sentezini uyarak kollajen yapımını arttırır (28). Fibrozis oluşumunda Tip IV kollajen birikimi önemlidir. Fazla TGFβ-1 sentezleyecek şekilde genetik değışikliğe uğratılmış sıçanlarla yapılan çalışmalarda, bu madde ile mezengiyal matriks artışı ve glomerüloskleroz arasındaki ilişki gösterilmiştir (29). VEGF, anjiogenesis ve mikrovasküler geçirgenliğı arttıran güçlü bir sitokindir. VEGF artışı ile

hiperfiltrasyon, proteinüri ve glomeruler hipertrofi ilişkili bulunmuştur (30). Deneysel diyabet modellerinde trombosit, fibroblast (31) ve konnektif doku (32) kaynaklı büyüme faktörlerinin de diyabetik nefropati patogenezi ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Hemodinamik faktörler: Diyabete bağlı renal hasarın gelişimi ve ilerlemesiyle ilgili en erken bulgu hiperfiltrasyon ve intraglomerüler basınç artışına neden olan hemodinamik değişimlerdir (33). Efferent arteriollerde oluşan vazokonstriksiyona kıyasla afferent arteriollerde meydana gelen vazodilatasyon intraglomeruler basıncı arttırır (34). Bu hemodinamik değişiklikler artmış proteinüri ve hızlanmış glomeruloskleroz ile birliktelik gösterir (33).

Renin anjiotensin aldosteron sistemi: Diyabetiklerde, böbrek dokusunda hem glomerülde hem de intersitisyumda lokal renin anjiotensin aldosteron sistemi uyarılmıştır (35,36). Hiperglisemi ile artan doku anjiotensin II düzeyleri, oksidatif stres ürünlerinin oluşumu ve endotel hasarına neden olur ve bu süreç vazokonstriksiyon, tromboz, inflamasyon, vasküler yeniden yapılanma, TGFβ-1 aracılıklı hücre dışı matriks birikimi ile sonuçlanır (37).

2.3. AKIM SİTOMETRİ

Sitometri, hücrelerin veya biyolojik partiküllerin fiziksel ya da kimyasal karakterlerinin ölçülmesidir (38). "Akım" sitometri ise, akan bir sıvının içerisindeki hücrelerin özelliklerinin incelenmesi olarak tanımlanabilir (39,40). Alt tiplerine kadar hücre ve biyolojik çalışmalar için epitop ekspresyonu akım sitometrinin major kullanım alanlarıdır (41). Akım sitometri ışık mikroskopisine nazaran çok daha fazla hücreyi daha kısa sürede inceleyebilmesi sayesinde avantaj sağlamaktadır. Akım sitometrik teknik ile 1 saniyede 500 hücre sayılıp ortalama 10.000 hücre 20 saniyede analiz edilebilir (42).

Akım sitometrik analiz hücre süspansiyonunun hazırlanması, hücrelere monoklonal antikor eklenmesi, cihazın kalibrasyonu, kontrol ve örneklerin cihazda çalışılması, veri analizi, veri yorumu ve raporu aşamalarından oluşur. Analiz için kan, kemik iliği, bronkoalveoler lavaj sıvısı, beyin omurilik sıvısı, eklem sıvısı, asit sıvısı, plevral sıvı, doku biyopsi örnekleri, parafin bloktaki dokular ve hücre kültürü örnekleri kullanılabilir (43).

Akım sitometride, hücrenin büyüklüğü, hücrenin içyapısı ve hücrede incelemek istediğimiz antijene ait işaretlediğimiz monoklonal antikorun floresansı ölçülmektedir.

İmmün sisteme ait hücrelerin karakteristik görünümünü sağlayan ve mevcut hücreleri birbirinden ayırmamıza yardımcı olan yüzey molekülleri bulunmaktadır. Bu hücre yüzey moleküllerinin tamamına “Cluster of Differentiation” (CD)(Farklılaşma kümesi) işaretleyicileri denilmektedir. Bu moleküller çoğunlukla protein yapısındadır ve hücrelerde adezyon, fagositoz ve migrasyon gibi birçok hücresel olayın içinde yer almaktadır (44).

CD34; My-10 olarak da bilinen 105–120 kDa boyutunda, siyalomusin benzeri özellikler gösteren ve yoğun bir şekilde glikozillenmiş olan tip I transmembran glikoproteinidir. Hücre yüzeyinde CD62L (L-Selektin) için ligand görevi üstlenir. Muhtemelen CD62L ve CD62E aracılığıyla sitoadezyondan sorumludur. Hematopoietik öncü hücrelerde, kemik iliği stromal hücrelerinde ve kapiller endotelde bulunan endotelyal prekürsör hücrelerde bulunmaktadır. Kök hücre işaretleyicisi olarak bilinir ve kemik iliği, periferik kan ve diğer dokulardaki kök hücrelerin tespitinde kullanılır (45).

2.3.1. CD34 + Hücre Sayım Teknikleri

CD34 sayımı için akım sitometride iki farklı yöntem uygulanabilir. Uygulanan ilk yöntemde öncelikle beyaz küre üzerindeki CD34 + hücre oranları bulunur. Daha sonra tam kan sayımında elde edilen mutlak beyaz küre değerleri kullanılarak hesaplama yapılır ve iki aşamalı ölçüm olarak isimlendirilir. İkinci yöntemde ise birim hacimde bulunan CD34 + hücre sayısı direkt ölçülür ve tek aşamalı (single platform, truecount) yöntem olarak isimlendirilir. Tek aşamalı ölçüm için iki seçenek mevcuttur birinci seçenekte volumetrik cihazlar kullanılır diğerinde ise mutlak sayısı bilinen parlak floresan veren boncuklar eklenerek birim hacimdeki hücre sayısı hesaplanır. Bu yöntemle kan dışı ürünlerde (kord kanı, kemik iliği gibi) görülebilen çekirdekli kırmızı küre ya da küme trombositlerden kaynaklanan hatalı beyaz küre sayımlarına bağlı oluşan hatalar dışlanmış olur. Laboratuvarlar arası farklılıklar azalır. Sayımlar için seçilecek antikorlar, “Class” III veya II epitoplara özgün olmalı ve tercihan phycoerytrin (PE) işaretli olmalıdır, “Class”II FITC konjuge antikorlar kullanılmamalıdır. En sık kullanılan “Single”platform ISHAGE metodu ile yapılan

ölçümlerdir. Yönteme yapılan bazı eklemeler ile CD34 + hücre alt gruplarının veya hücre canlılığının da değerlendirilmesi de mümkün olmaktadır (46).

2.4. KÖK HÜCRELER

Kök hücre, bir canlının vücudunda çok uzun bir süre bölünmeye devam ederek kendini yenileyebilen ve bu sayede farklılaşmış hücreler oluşturabilen farklılaşmamış hücrelere verilen addır. Başka bir ifadeyle, kendisini yenileyebilme yeteneğine ve farklı hücre tiplerine dönüşebilme potansiyeline sahip olan hücrelere kök hücre denir. Vücudumuzdaki kas, karaciğer, sinir hücreleri gibi hücrelerin hedefleri bellidir ve bu hücreler bölündükleri zaman yine kendilerine benzer bir hücre oluştururlar. Mezenkimal kök hücrelerin bu hücrelerden farklı olarak belirlenmiş bir fonksiyonları yoktur. Bu yüzden aldıkları sinyallere göre farklı hücre tiplerine dönüşebilirler. Bunu belirleyen en önemli etkenler de genetik özellikler ve dış uyaranlardır. Vücudumuzdaki herhangi bir hücre grubunda ölüm ya da hasar meydana gelince kök hücreler ihtiyaç duyulan hücre grubuna dönüşüm gösterirler. Bir hücreyi, kök hücre olarak tanımlamak için 5 tane gerekli ölçüt vardır (47).

- 1) Kök hücreler, uzun süre bölünebilme ve kendi kendilerini yenileme yeteneğine sahiptirler.
- 2) Kök hücreler özelleşmemişlerdir. Bir kök hücre, bir kalp kasında olduğu gibi kanı vücuda pompalamak için komşu hücrelerle birlikte çalışmaz, eritrositlerde olduğu gibi oksijeni dokulara taşıyamaz. Ancak, özelleşmiş hücrelere dönüşmek üzere kaynak oluşturabilir.
- 3) Kök hücreler, özelleşmemiş hücrelere kaynaklık edebilirler. Bu olaya farklılaşma denir. Kök hücreler birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler. Bunun en iyi örneğini döllenmiş yumurta hücresi ya da zigottan itibaren görebiliyoruz. Vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahip bu ilk embriyonel hücreye "totipotent" (her şeyi yapabilen) hücre denmektedir. Bu hücreler sınırsız farklılaşma ve farklı yönlerde gidebilme yeteneğine sahip kök hücrelerdir. Erken embriyoner dönemde 4 hücreden 8 hücreye kadar olan tüm blastomerler totipotenttir. Fertilizasyonun yaklaşık 5. gününde bu hücreler "blastosist" denilen içi boşluklu hücre topluluklarına dönüşürler. Blastosistin iç hücre kitlesindeki hücreler (embriyoblastlar), endoderm, ektoderm ve mezodermden köken alan çok farklı hücre çeşidine (yaklaşık 250 çeşit) farklılaşabilirler. Bu özelliğe sahip hücrelere "pluripotent" hücreler denir. İnsan

embriyonik kök hücreleri blastosistin iç hücre kitlesinden elde edilirler ve pluripotenttirler. Gelişimin ilerleyen dönemlerinde (fetal hayat), hücreler biraz daha özel görevlere sahip olup ve erişkin tip kök hücrelere dönüşürler. Bu erişkin kök hücreleri tipik olarak yer aldıkları dokunun hücre tiplerini üretirler. Kemik iliği kök hücreleri en iyi örnektir. Biraz daha özelleşmiş bu hücrelere "multipotent" hücreler denir (48).

Bir kök hücrenin dizi değiştirmesi veya farklılaşması için başlıca 4 alternatif yol mevcuttur (49). Pluripotent veya multipotent kök hücreler daha sonra belirli hücre dizilerine farklılaşacak progenitor hücreleri oluştururlar.

Transdeterminasyon: Belli hücre grubunu oluşturmaya programlanmış bir kök hücrenin, başka bir yönde hücre oluşturmak üzere planlanmış diğer bir kök hücreye değişip, bu prekürsörün hücre tiplerini oluşturmasıdır.

Transdiferansiyasyon: Farklılaşmış bir hücrenin diğer bir farklılaşmış hücrenin fenotipini almasıdır. Burada hücrenin gen ekspresyon şekli tamamen farklı bir hücre tipine dönüşür. Örneğin normal memeli gelişimi esnasında, özefagusta düz kas hücrelerinin iskelet miyozitlerini oluşturması transdiferansiyasyona örnektir (50).

Dediferansiyasyon: İlk iki terimin toplamını anlatır. Dediferansiye olacak bir hücre farklılaşmış bir hücre veya bir hücre grubunu yapmaya planlanmış hücre olabilir. Bu tür bir hücrenin, diğer bir hücre grubuna farklılaşmasını takiben diğer kola kaymasına dediferansiyasyon denilir (49).

Hücre füzyonu: Deneysel bir örnek tedavi amaçlı klonlama ile gösterilmiştir. Burada, olgun ve bir hücre grubunu oluşturmaya programlanmış hücrenin çekirdeği, çekirdeği çıkarılmış bir ovum içerisine sokularak tekrar programlanabilir ve böylece değişen çevre ile olgun çekirdeğin tekrar programlanması çoğu dokunun oluşumunu sağlar (51).

4) Kök hücreler, hasar gören alıcıya nakil sonrasında kaynak dokuyu işlevsel olarak tekrar çoğaltabilirler.

5) Kök hücreler, in vivo koşullarda doku hasarının olmadığı durumlarda bile farklılaşmamış kuşaklara katkı sağlayabilirler.

2.4.1. Kök Hücre Tipleri

Embriyodan, fetal dokulardan, kordon kanından çeşitli kök hücreler izole edilmiştir. Bunun yanında kemik iliği, beyin, deri, göz, kalp, böbrek, akciğer, gastrointestinal sistem, pankreas, karaciğer, meme, over, prostat ve testis gibi memeli erişkin dokularından da kök hücreler izole edilmiştir (52).

2.4.2. Embriyonik Kök Hücreler (EKH)

EKH, blastokistin i  hücre kitlesinden elde edilir, bu kitle vücuttaki bütün dokuların yanı sıra embriyon dışı endoderm, ektoderm, mezoderm ve amniyon gibi dokulara kaynaklık eder. Dolayısıyla bu hücreler pluripotenttir (53).

EKH'ler sınırsız kendi kendilerini yenileme kapasitesine sahiptirler ve tüm fetal dokulara ve erişkin kök hücrelerine ve bunların daha farklıla mı  progenit rlerine farklıla abilir. EKH'ler in vitro süspansiyonda kültür edildiklerinde kendiliklerinden embriyonik cisimler oluştururlar.

 nsan ve fare EKH'leri, hücre biyolojisinin pek çok temel ve uygulamalı yönleri için güçlü araçları temsil etmektedir. EKH'lerin in vitro koşullarda özgün hücre serilerine farklılaşmasına dayanan gözlemler, bu hücrelerin; yeni ilaçların tanımlanması ve toksisitelerinin belirlenmesi için gen hedeflerinin tanımlanmasında, gelişimsel biyolojide teratojenik ve toksik bileşiklerin tanımlanmasında, gen tedavilerinde, malignitelerin oluşum mekanizmalarının öğrenilmesinde, hücre kaynaklı tedavilerde kullanılmak üzere, daha olgun hücrelerin ve dokuların üretilmesinde kullanılabileceğini göstermektedir (54).

 nsan EKH'leri kullanılarak tedavi edilebilecek hastalıklar arasında; Alzheimer, parkinson, tip I diyabetes mellitus, multiple skleroz, amiyotrofik lateral skleroz, omurilik zedelenmesi, iskemik kalp hastalığı, depo hastalıkları, kanser, osteogenezis imperfekta, romatoid artrit yer alabilir.

2.4.3. Erişkin Kök Hücreler

Erişkin kök hücre olarak adlandırılan bir grup hücre ve bu hücreleri destekleyen başka hücreler erişkinde; kemik iliği, kalp, böbrek, beyin, deri, göz, gastrointestinal sistem, karaciğer, pankreas, akciğer, meme, over, prostat ve testis gibi organlarda tespit edilmiştir (55). Erişkin kök hücreler, adı geçen organda kendilerine ait bir mikroçevre içerisinde kısa veya uzun bir süre dinlenmede kalabilirler. Bunlar,  zel

mikroçevre içerisinde yüksek telomeraz aktivitesine sahip oldukları halde EKH'lerle karşılaştırıldıklarında daha kısıtlı bir farklılaşma potansiyelleri vardır ve daha sınırlı sayıda progenitör hücre oluştururlar. Erişkin kök hücreler, mikroçevrelerindeki değişiklikleri takiben proliferere olabilirler veya daha olgun ve dokuya özel hücre tiplerine farklılaşabilirler (56).

Erişkin kök hücrelerin kendi kendilerini yenilemeleri esnasında, her bir kök hücre simetrik olarak bölünmeyle iki benzer kardeş kök hücreleri oluşturur. Aksine, farklılaşma esnasında kök hücrenin asimetric bölünmesi ise, bir kardeş kök hücre ile bir kardeş ara geçiş kök hücre oluşumuna yol açar. Erişkin kök hücreleri, özellikle hematopoetik kök hücreler, bazı fizyolojik veya patolojik koşullarda dolaşım yoluyla diğer uzak dokulara yayılabilirler.

2.4.4. Hematopoietik Kök Hücreler (HKH)

Hematopoetik sistem, özel fonksiyonları olan birçok hücreden oluşmaktadır. Eritrositler dokulara oksijen taşımakla görevlidirler. Megakaryositlerden köken alan trombositler hemostazda rol alan hücrelerdir. Granülositik hücreler (nötrofil, bazofil ve eozinofiller) ve makrofajlar bakteri, mantar ve paraziter infeksiyonlara karşı savunma hattını sağlayan myeloid sistemi oluşturmaktadır. Bu hücrelerin bazıları aynı zamanda doku ve kemiklerin yeniden şekillendirilmesinde ve ölü hücrelerin ortamdan uzaklaştırılmasında görev almaktadır. B lenfositler seri hücreleri spesifik antikor sentezinden sorumlu iken, T lenfositler virüsle enfekte hücreler ve kanser hücreleri gibi vücuda yabancı hücreleri direkt olarak öldürebilme ya da izole edebilme fonksiyonuna sahiptir. Kan hücrelerinin çoğunun periferik kanda yaşam süreleri kısadır ve devamlı olarak yenilenmeleri gerekmektedir. Ortalama olarak günde bir milyar yeni hematopoetik hücreye ihtiyaç vardır. Bu üretimin devamlılığı hematopoetik kök hücreler (HKH) ile sağlanmaktadır.

Yüksek saflıktaki insan HKH'leri genellikle deneysel çalışmalarda kullanılmakta, klinik çalışmalarda ise temel olarak CD34 belirteci kullanılmaktadır. CD34 pozitif hücre topluluğu HKH ve progenitör kan hücreleri açısından oldukça zengin olmasının yanısıra diğer hücre tiplerini de içerebilmektedir. CD34 pozitif CD90 pozitif kombinasyon yüksek oranda saflık sağlayabilmektedir. HKH'ler kemoterapi ve/veya radyoterapi ile miyeloablasyon sağlanan hastalara verildiğinde adezyon

molekülleri sayesinde kemik iliğinde yerleşir ve yeni kan hücrelerini oluşturur, yani engraftment özelliği gösterir.

Allojeneik kemik iliği transplantasyonu (KİT) ile lösemiler, kemik iliği yetmezlikleri, prelösemik sendromlar tedavi edilirken, yüksek dozda kemoterapi uygulanmasına imkan sağlayacak otolog KİT ile çoğu solid tümörlerin tedavisi mümkün olmaktadır. Kemik iliğindeki HKH'ler pluripotent özellikte olup, en azından 10 farklı fonksiyonel hücre tipini oluşturabilirler. Hematopoiezis esnasında, periferik kanda az miktarda CD34 + hücrelerin bulunması, HKH'lerin kemik iliği ile diğer organlar arasında sürekli bir hareketini akla getirir. Kemoterapiden sonra kemik iliğinin tekrar yapılanması ve büyüme faktörlerinin uygulanması CD34 + hücrelerin periferik kan içerisine mobilizasyonunu kolaylaştırır. Kemik iliği ve mobilizasyondan sonra periferik kanda bulunan CD34 + hücrelerde transkripsiyon faktörlerinin tanımlanması, CD34 + hücrelerin kendi kendilerini yenileme, farklılaşma, mobilizasyon ve migrasyon özelliklerini de ortaya çıkarır (57).

Hematopoietik organlardan elde edilen kök hücrelerin, hematopoietik hücrelerden farklı olarak kemik, kıkırdak, nöral hücreler, pnömositler, kas, deri, endotel, epitel hücreleri, hepatositler gibi hücreleri oluşturma kapasiteleri vardır (58).

MKH (mesenkimal kök hücreler) ve MAPC (multipotent erişkin progenitor hücreler) hematopoietik hücrelerin en önemli belirteci olan CD45'i taşımazlar. MKH'ler kültür ortamından zemine yapışan, hızlı çoğalan ve fibroblast benzeri hücreler olarak belirirler. Kemik iliğinde bulunan çekirdekli hücrelerin (% 0.001 ile % 0.01 gibi) küçük bir kısmını oluştururlar. Mezodermal kökenli dokulara diferansiye olabilirler. İn vitro koşullarda T lenfosit proliferasyonunu inhibe ederler. En önemli özellikleri sistemik dolaşıma verildiklerinde mezodermal kökenli dokulardaki infarkt alanına yerleşebilirler. Bu özellikleri, MKH'lerin kültür süreleri arttıkça ve infarkt eskidikçe azalır. Uzun süreli kültürlerde destek tabakası oluşturur (59).

3. HASTALAR ve YÖNTEM

Bu çalışma 2010 Eylül 2011 Şubat tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı servisine yatırılan son dönem böbrek hastalığı tanısı almış ve daha önce hiç diyaliz yapılmamış hastalarda ve Endokrinoloji Bilim Dalı polikliniğine ayaktan başvuran nefropatisi olmayan diyabetes mellitus tanısı almış olan hastalarda yapıldı. Çalışmaya 121 gönüllü dahil edildi. 65 SDBH tanısı olan hasta grubu, 25 DM tanısı olan kontrol grubu ve 31 sağlıklı kontrol grubu oluşturuldu. Hastaların tamamı 18 yaş ve üzerindeydi. Çalışma prospektif olarak yapıldı. Protokol Helsinki Deklerasyonu'na uygun olarak hazırlandı ve 08.07.2010 tarihinde fakülte etik kurulundan geçti (Etik Kurul Karar no: 2010/50). Hastalara çalışma hakkında bilgi verildi, kabul edenler protokole dahil edildi.

Hastalar dört gruba ayrıldı. Birinci grup 29 kişiydi ve daha önce DM tanısı almış olup diyabetik nefropatiye bağlı evre 5 kronik böbrek hastalığı gelişen ve hiç diyaliz yapılmamış hastalardan oluşturuldu (DM-KBH). İkinci grup 36 kişiydi ve evre 5 kronik böbrek hastalığı tanısı mevcut olup etyolojide DM olmayan, hiç diyaliz yapılmamış hastalardan oluşturuldu (NON-DM KBH). Üçüncü grup 25 kişiydi ve bu gruba DM tanısı olup diyabetik nefropatisi olmayan hastalar alındı. Dördüncü grup sağlıklı kontrol grubu olup 31 kişiydi. Hastaların yaşı, cinsiyeti, alt hastalıkları, daha önce hiç diyaliz yapıp yapılmadığı, kullandığı ilaçlar sorgulandı. Daha önce diyaliz programına alınmış olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Tüm hastalardan ve kontrol grubundan tam kan sayımı gönderildi. Tam kan sayımı SIEMENS ADRIA 2120 cihazı ile orijinal kiti kullanılarak ölçüldü.

Birinci, ikinci ve üçüncü gruptaki hastalardan ayrıca böbrek fonksiyon testi, idrar kreatinini ve idrarda mikroalbümin/kreatinin oranı için numuneler gönderildi. Birinci ve üçüncü gruptaki hastalarda DM tanısı mevcut olup bu hastalardan HbA1c için numune gönderildi. Tüm bu numuneler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında OLYMPUS 2700 cihazı ile orijinal kiti kullanılarak ölçüldü.

Birinci ve ikinci gruptaki kronik böbrek hastalığı olan hastaların hangi evrede olduklarını tespit etmek amacıyla glomerüler filtrasyon hızları hesaplandı. Hastalara 24 saat boyunca idrar toplatıldı. GFH: **(idrar kreatinini x 24 saatlik idrar volümü) / (serum kreatinini x 1440)** formülü ile hesaplandı.

Üçüncü ve dördüncü grup kontrol grubuydu ve bu gruptaki hastalar poliklinik hastası olmaları ve ayaktan takip edilmeleri nedeniyle 24 saatlik idrar toplatılamadı. Bu nedenle böbrek fonksiyon testleri normal olan bu grupta GFH MDRD formülü ile hesaplandı. GFH: **186 x [(Serum kreatinini mg/dl)-1,154] x [(Yaş)-0,203] x [0,742 (kadın) ise]**

Birinci gruptaki diyabetik KBH hastalarından diyabetik retinopati açısından göz konsültasyonu istendi. Diyabetik retinopatisi olmayan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. DM kontrol grubunda idrar mikrolbümin/kreatinin oranı 30 mg/dL'nin üzerinde olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Tüm hastalardan ve kontrol grubundan bir defaya mahsus CD34 için sitratlı tüplere 6'şar ml kan alındı. Alınan örnekler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mehmet Kemal Dedeman Hematoloji ve Onkoloji Hastanesi Akım Sitometri Laboratuvarı'nda BD FACS Calibur (Becton Dickinson San Jose, USA) cihazında çalışıldı. Yöntem olarak tek aşamalı (single platform, procount) yöntemi kullanıldı. EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örnekleri laboratuvarda 40 µm çapındaki partikülleri ayıran süzgeçlerde süzöldükten sonra, her bir tüp için 100 µL örnek alınarak 10 µL P-gp PE ve 10 µL CD34 PerCP işaretleyicileri ile işaretleme yapıldı. Karanlıkta 15 dakika inkübasyon sonrası tüplere 1,5 ml BD FACS lysing solüsyonu ilave edildi ve hızlı bir şekilde vortekslendi. Daha sonra çıkarılan tüpler BD Cell Wash ile 3 sefer yıkandı ve 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süspansiyon halindeki hücreler akım sitometride analiz edilerek CD34 ekspresyonları ölçüldü.

3.1. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Veriler SPSS 15,0 (Statistical Package for the Social Sciences for Windows) ve SigmaStat 3,5 istatistik paket programları ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılımına Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Dört grubun karşılaştırmasında normal dağılım gösteren değişkenler için tek yönlü varyans analizi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal Wallis Analizi kullanıldı. Tek Yönlü Varyans Analizi'nde fark çıkan grupların çoklu karşılaştırmalarında homojen varyans gösteren gruplar için Tukey Testi kullanıldı. Kruskal Wallis Analizi'nde fark çıkan grupların çoklu karşılaştırmalarında Dunn testi kullanıldı. İki grup karşılaştırmalarında normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann Whitney U Testi kullanıldı. Nicel değişkenler arasındaki ilişkiye Spearman Korelasyon Analizi ile bakıldı. İki nitel değişkenin karşılaştırılmasında Ki-kare testinin exact yöntemi kullanıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. CD34 üzerine yaşın ve grupların etkisini göstermek için regresyon analizi uygulandı. Kategorik değişkenler kukla değişkenlere çevrildi. Kukla değişkenler üzerinden grupların CD34 tahminlemesi oluşturuldu. Kukla değişkenler (grup sayısı-1) kadar oluşturuldu.

4. BULGULAR

Gruplar arasında DM kontrol grubunda kadın hasta sayısı erkek hasta sayısından, sağlıklı kontrol grubunda erkek sayısı kadın sayısından daha fazlaydı. Diğer iki grupta kadın erkek sayısı benzerdi. Yaş açısından sağlıklı kontrol grubunda, diğer gruplarla karşılaştırıldığında yaş ortalaması daha düşüktü. Diğer gruplar arasında yaş açısından fark yoktu. DM-KBH grubunda ortalama DM süresi DM kontrol grubu ile kıyaslandığında daha uzundu. Hastaların temel karakteristik özellikleri tablo 3'te gösterildi.

Tablo 3. Hasta ve kontrol gruplarının temel karakteristik özellikleri

	DM-KBH grubu (n:29)	NON-DM KBH grubu (n:36)	DM kontrol grubu (n:25)	SAĞLIKLI kontrol grubu (n:31)	P değeri
Yaş	61(56.75– 66)	58.5(46,5– 66,5)	54(47.25– 66.25)	29(28–34,5)	(P<0.001)
Cinsiyet (E/K)	16/13	17/19	7/18	22/9	
Ort. DM süresi	8±3.45		3±1.16		(P<0.001)

DM kontrol grubunda 16 hasta oral antidiyabetik, 5 hasta insülin kullanırken 4 hasta DM açısından hiç ilaç kullanmıyordu. DM-KBH grubundaki tüm hastalar insülin tedavisi alıyordu.

Gruplar arasında beyaz küre sayısı (BK) açısından DM-KBH grubu ve sağlıklı kontrol grubunda sayı NON-DM KBH grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek saptandı. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. Ortalama hemoglobin düzeyi (Hb); sağlıklı ve DM kontrol grubunda, ayrı ayrı DM-KBH ve NON-DM KBH grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak daha yüksek saptandı. Her iki kontrol grubu kıyaslandığında Hb düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 4).

Birinci ve ikinci gruptaki SDBH hastalarının tümünün GFH değeri 15'in altındaydı ve birinci grupta ortalama GFH değeri 12.34 ± 1.03 , ikinci grupta ortalama GFH değeri 13.28 ± 1.22 'ydi. Üçüncü gruptaki kontrol DM hastalarının tümünde GFH değeri 60'ın üstündeydi ve ortalama GFH değeri 82.21 ± 18.39 'du. Sağlıklı kontrol grubunda ortalama GFH değeri 114.32 ± 35.38 'di (Tablo 4).

Tablo 4. Gruplar arasındaki BK, Hb, BFT ve GFH düzeylerinin karşılaştırılması

	BK ($10^3 / \mu\text{L}$)	Hb (g/dL)	GFH (ml/dk)	Kre (mg/dL)	BUN (mg/dL)
DM-KBH	$8,5 \pm 1,7^a$	$9,4 \pm 1,3^a$	12.3 ± 1.0^a	5.5 ± 1.15^a	38.2 ± 6.3^a
NONDM-KBH	$6,9 \pm 2^b$	$9,9 \pm 1,8^a$	13.2 ± 1.2^a	5.2 ± 1.02^a	40.2 ± 7.2^a
DM	$8,8 \pm 4^{ab}$	$13,5 \pm 2,1^b$	82.2 ± 18^b	0.9 ± 0.12^b	16.2 ± 3.1^b
SAĞLIKLI	$8,3 \pm 1,4^a$	$14,4 \pm 1,23^b$	114.3 ± 35^b	0.8 ± 0.10^b	14.8 ± 2.4^b

a ve b aralarında istatistiksel olarak anlamlı grupları $p < 0,05$, ab ise diğer gruplar ile anlamlı olmayan durumu göstermekte $p > 0,05$. **BK (4.8-10.8)** :Beyaz Küre **Hb (E:14-18, K:12-16)** :Hemoglobin **BUN (9-23)** :Blood Urea Nitrogen(kan üre azotu) **Kre (0.7-1.3)** :Kreatinin **E:Erkek K:Kadın**

Tüm gruplarda periferik kandaki CD34 + hücre sayısı hesaplandığında; sağlıklı kontrol grubunda CD34 sayısı DM-KBH ve DM kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı. NON-DM KBH grubunda CD34 sayısı, DM-KBH grubu ile

kıyaslandığında anlamlı olarak daha yüksek saptandı. Diğer gruplar arasında CD34 sayısı açısından anlamlı olarak bir fark saptanmadı. (Tablo 5)

Tablo 5. Gruplar arasında CD34 düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta Sayısı (n)	CD34 (10 ⁶ /kg)	P değeri
DM-KBH	36	1,2±0,6 ^a	
NONDM-KBH	29	1,8±0,8 ^{bc}	< 0.05
DM	25	1,7±1 ^{ac}	
SAĞLIKLI	31	2,7±1,2 ^b	< 0.05

a ve b aralarında istatistiksel olarak anlamlı grupları p<0,05, (ab)c ise diğer gruplar ile anlamlı olmayan durumu göstermekte p>0,05.

Birinci ve ikinci gruptaki tüm (n:65) SDBH hastaları ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında SDBH grubunda sağlıklı gruba göre CD34 + hücre sayısı anlamlı olarak daha düşüktü

Tüm gruplar baz alındığında; yaş arttıkça CD34 + hücre sayısının azaldığı gözlemlendi. Bu iki değişken arasındaki ilişki Spearman Korelasyon analizi ile değerlendirildi. Aralarında istatistiksel olarak zayıf korelasyon saptandı.

Mikroalbumin/kreatinin düzeyi ile CD34 + hücre sayısı arasındaki korelasyona bakıldı. İki değişken arasında istatistiksel olarak orta düzeyde korelasyon saptandı. CD34 + hücre sayısı azaldıkça mikroalbumin/kreatinin oranının arttığı gözlemlendi. (Tablo 6)

HbA1c ile CD34 sayısı arasındaki ilişkiye bakıldığında her iki değişken arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı. (Tablo 6)

DM-KBH ve NON-DM KBH grubunda GFR düzeyi ile CD34 sayısı arasındaki ilişkiye bakıldı. İki değişken arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. (Tablo 6)

Tablo 6. Spearmann Korelasyon analizi kullanılarak bazı klinik parametrelerin CD34 hücre sayısı ile korelasyonu

	R	P Değeri
Yaş	-0.21	0.064
GFR	-0.05	0.762
HbA1c	-0.11	0.286
Mikroalb/kre	-0.41	0.003

0<R<0,19 çok zayıf, 0,20<R<0,39 zayıf, 0,40<R<0,59 orta, 0,60<R<0,79 iyi, 0,80<R<1 güçlü korelasyonu ifade etmektedir

Sağlıklı kontrol grubu, DM kontrol grubu ve KBH tanısı olan tüm hastaların bağımlı bir değişken olan CD34 oranı üzerine etkisi çoklu doğrusal regresyon analizi ile karşılaştırıldığında CD34 düşüşü üzerinde KBH'nın DM ve sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha etkili olduğu gösterildi (Tablo 7). Hastaların yaşı ve KBH'na yol açan etyolojik nedenler çoklu doğrusal regresyon analizi ile karşılaştırıldığında, CD34 üzerinde tüm etyolojik nedenler göz önüne alındığında DM'un diğer nedenlere göre istatistiksel olarak en belirgin etkiyi oluşturduğu gösterildi. Yaşın oluşturduğu etki istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi. (Tablo 8)

Tablo 7. Yaş ve grupların CD34 sayısı üzerine etkisinin Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi ile değerlendirilmesi

	Regresyon Katsayıları		P
β_0	2.785	0.322	<0.001
Yaş	-0.001	0.009	0.883
D1	-1.005	0.323	0.002
D2	-0.821	0.324	0.013
D3	-1.477	0.356	<0.001

$$CD34 = 2.785 - 1.005D1 - 0.821D2 - 1.477D3$$

Denkleme göre:

D1(DM)→ D2 ve D3 sıfır olarak baz alındığında: 1.78

D2(NON DM-KBH)→ D1 ve D3 sıfır olarak baz alındığında: 1.965

D3 (DM-KBH)→ D1 ve D2 sıfır olarak baz alındığında: 1.308

Tablo 8. Yaş, KBH ve DM'un CD34 sayısı üzerine etkisinin Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi ile değerlendirilmesi

	Regresyon Katsayıları		P
β_0	2.883	0.328	<0.001
Yaş	-0.004	0.009	0.616
K1	-0.937	0.330	0.005
K2	-1.035	0.322	0.002

$$CD34 = 2.883 - 0.937K1 - 1.035K2$$

Denkleme göre:

K1 (DM)→ K2 sıfır olarak baz alındığında: 1.946

K2 (KBH)→ K1 sıfır olarak baz alındığında: 1.848

5. TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan çalışmalarda özellikle vasküler yapılardaki hasarlanmaya bağlı gelişen bazı kronik hastalıklarda ve bu hastalıklara bağlı gelişen komplikasyonlarda dolaşımdaki CD34 + hücre miktarının önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (60). Vasküler endotelyal yapıların onarım mekanizmalarındaki bozukluk kardiyovasküler olayların gelişmesinde çok önemli rol oynamaktadır. Endotelyal kök hücre miktarındaki azalma onarım üzerinde negatif etki göstermektedir (61). Özellikle makrovasküler hasarlanmalar dolaşımdaki kök hücre sayısının azalmasından önemli ölçüde etkilenmektedir (62,63).

DM, uzun dönem komplikasyonları göz önüne alındığında özellikle vasküler harabiyetin en çok görüldüğü kronik hastalıklardan birisidir. Diyabetik retinopati, diyabetik nefropati ve kardiyovasküler olaylar DM’de en sık görülen makro ve mikrovasküler komplikasyonlardır. Fadini ve arkadaşları tip II DM ve bozulmuş glukoz toleransı tanıları olan toplam 425 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada özellikle sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında yeni tanı almış hastalarda ve 20 yıldan uzun süredir tip II DM tanısı olan hastalarda kandaki CD34 + hücre sayısının anlamlı olarak daha düşük olduğunu göstermişlerdir (64). Yine Fadini ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada CD34 + hücre sayısının DM’a bağlı gelişen vaskülopatide bir markır olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (65). Diğer bir çalışmada CD34 + hücre sayısı ve glukoz toleransı ters orantılı olarak bulunmuş. Bunun da nedeni olarak öncül hücrelerin azalmasının tip II DM’un erken döneminde gerçekleşmiş olabileceği vurgulanmıştır (66). Bizim çalışmamızda ortalama DM

süresi $3\pm1,16$ yıl olan DM kontrol grubunda ve ortalama DM süresi $8\pm3,45$ yıl olan DM-KBH grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre CD34 + hücre sayısının daha düşük olduğu gösterildi.

Diyabetik nefropati DM'un sık görülen bir mikrovasküler komplikasyonudur. Dünyada ve ülkemizde halen SDBH'nın en sık nedenidir (15). Mokino ve arkadaşları 85 tip II DM tanısı olan 58 erkek 27 kadın hasta üzerinde yaptıkları çalışmada hastaları başlangıç üriner albümin atılım oranına göre ayırmışlar ve 12 ay süre ile gözlemlemişler. Başlangıç, 6.ay ve 12. aydaki değerler kıyaslandığında 12 ay sonunda CD34 + hücre sayısı düşük olan hastalarda üriner albümin atılımının daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Kandaki CD34 + hücre düzeyi düşük olan DM'lu hastalarda diyabetik nefropati gelişme riskinin daha yüksek olabileceğini rapor etmişlerdir (67). Dessapt ve arkadaşlarının 44 adet tip I DM tanısı olan hasta üzerinde yaptıkları çalışmada mikroalbüminüri olan hasta grubunda olmayan gruba göre CD34 + hücre sayısının daha düşük olduğu gösterilmiştir (68). Her iki çalışmada da GFR düzeyi ile CD34 + hücre arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. Bu çalışmalarda CD34 + hücre düzeyinin diyabetik nefropati gelişme riskini göstermek için bir markır olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir (67,68). Bizim çalışmamızda SDBH gelişen tüm diyabetik hastalarda diyabetik retinopati mevcuttu. DM-KBH grubundaki tüm hastalarda mikroalbümin / kreatinin oranı 300mg/dl'nin üzerinde idi. DM-KBH grubunda CD34 + hücre sayısı sağlıklı gruba göre anlamlı olarak düşüktü. DM tanısı olup nefropatisi olmayan kontrol grubu ile kıyaslandığında sayı yine düşüktü fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bizim çalışmamızda da GFR düzeyi ile CD34 + hücre sayısı arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. Bunlara ek olarak HbA1C düzeyi arttıkça CD34 + hücre sayısında anlamlı miktarda düşüş olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (67,68). Bu çalışmada HbA1C düzeyi ile CD34 + hücre sayısı arasında zayıf bir korelasyon olduğu gösterildi. Özellikle renal yetmezlik olan DM hastalarındaki yoğun insülin tedavisine bağlı olarak HbA1C düzeyinin azalması ile korelasyondaki bu düşüklük açıklanabilir.

Çalışmamızda mikroalbümin / kreatinin düzeyi 300mg/dl'nin üzerinde olan hastalarda CD34 + hücre sayısı düştükçe mikroalbümin/kreatinin oranının arttığı saptandı. Bu iki değişken arasında orta düzeyde bir korelasyon olduğu gözlemlendi. Bu

sonuca göre mikroalbüminüri geliştikten sonra CD34 + hücre düzeyi SDBH gelişme riski açısından bir gösterge olarak kullanılabilir.

DM dışında KBH'na yol açan birçok farklı etyolojik faktör bulunmaktadır. KBH ve CD34 + hücre ilişkisi gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Üremik toksinlerin kemik iliği üzerinde toksik etkileri olduğu ve dolaşımdaki CD34 + miktarını negatif yönde etkilediği gösterilmiştir (69,70). KBH gelişiminde vasküler patolojilerin çok önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle kandaki kök hücre miktarının azalması vasküler hasarlanmanın ilerlemesine yol açmakta ve yetmezlik tablosunu derinleştirmektedir (71,72). Bizim çalışmamızda 65 adet evre 5 KBH hastası mevcuttu. Sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kandaki CD34 + hücre sayısının daha düşük olduğu saptandı. Diğer çalışmalardan farklı olarak sadece SDBH mevcut olanlar ve dolaşımdaki CD34 + hücre sayısını etkileyebileceği düşünülerek daha önce hiç diyaliz yapılmamış olan hastalar çalışmaya dahil edildi. Ayrıca hastalar KBH'na yol açan etyolojik nedenler açısından diyabetik ve non diyabetik olarak ayrıldı. DM-KBH grubunda kök hücre sayısı NON DM-KBH grubuna oranla daha düşük olduğu saptandı. Böylece tüm etyolojik faktörler göz önüne alınarak çoklu doğrusal regresyon analizi ile değerlendirildiğinde net olarak görülmektedir ki; CD34 + hücre sayısı üzerine en belirgin etkiyi DM göstermektedir. DM ve KBH kandaki kök hücre sayısını aditif etki göstererek belirgin bir şekilde düşürmektedirler. DM'ta hiperglisemiye bağlı olarak renal damarlarda meydana gelen hasarlanmayla beraber CD34 + hücre üzerindeki bu olumsuz etkisi nedeniyle onarım mekanizmalarının da devre dışı kaldığı düşünülebilir. Böylece kök hücre sayısı düşük olan hastalarda SDBH gelişme riski nispeten artıyor olabilir.

Ayrıca CD34 + hücre sayısı üzerinde yaş faktörünün de etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Shaffer ve arkadaşları 37 sağlıklı vaka üzerinde yaptığı çalışmada genç olan grupta CD34 + hücre sayısının daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (73). Schaubel ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada kök hücre sayısından ziyade yaşla birlikte fonksiyon bozukluğu olduğu öne sürülmüştür (74). Bizim çalışmamızda yaş ile CD34 + hücre sayısı arasında zayıf korelasyon mevcuttu. DM ve KBH dahil edilerek yapılan çoklu doğrusal regresyon analizinde yaş faktörünün etkisi en düşük oranda saptandı. İstatistiksel olarak bu oran anlamlı kabul edilmedi. Bunun nedeni olarak hasta gruplarının demografik yapılarının birbirinden farklı olması ve altta yatan hastalıkların değişiklik göstermesi olabilir.

Bu bilgiler ışığında DM'ta veya KBH'nın erken evrelerinde kök hücre nakli yapılması ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Voltarelli ve arkadaşları 2003 yılında 23 adet tip I DM tanısı olan ve insülin kullanan hastaya otolog kök hücre nakli yapmışlar. Nakil sonrası 23 hastadan 12'sinin devamlı süreyle 8'inin geçici süreyle insülin bağımsız hale geldiği gözlenmiştir. Bu çalışmayla araştırmacılar 20 hastanın HbA1C düzeyinde belirgin bir düşme olduğunu ve hastaların tümünde nakil sonrası serum C-peptit seviyesinde anlamlı yükselmeler olduğunu göstermişlerdir (75). Hong ve arkadaşları deneysel ortamda diyabetik nefropati geliştirilen ratlarda yaptıkları çalışmada hematopoietik kök hücre nakli yapıldıktan sonra nefropatide belirgin bir gerileme olduğunu göstermişlerdir (76). Chade ve arkadaşları deneysel olarak renovasküler hastalık geliştirilen domuzlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada otolog kök hücre nakli yapıldıktan sonra renal damarlarda iyileşme olduğunu göstermişlerdir (77). Tüm bu yayınlardan farklı olarak Tokgöz ve arkadaşları 2007–2008 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yürüttükleri bir çalışmada myeloablatif hematopoietik kök hücre nakli yapılmış 39 akut lösemili olguyu 100 gün boyunca takip etmişler. Hastaların 20'sinde çeşitli dönemlerde akut böbrek yetmezliği gelişmiş. 12 hastada ilk iki hafta içinde, 8 hastada da 2–4 haftalar arasında yetmezlik gelişmiş. Sonuç olarak akut böbrek yetmezliği gelişimi ile nakil sırasında verilen hematopoietik kök hücre sayısı arasında bir ilişki bulunamamıştır. Bu çalışmada gözlenen mevcut tablonun birçok farklı risk faktörünün bir araya gelmesiyle oluşmuş olabileceği öne sürülmüştür (78). Bu çalışmalar ilerleyen yıllarda özellikle kronik hastalıkların tedavisinde kök hücre naklinin önemli bir tedavi seçeneği olması yolunda umut ışığı olmuştur.

Sonuç olarak, DM ve KBH'nda periferik kanda hematopoietik kök hücre sayısı azalmaktadır. Bu azalma DM'a bağlı gelişen SDBH'nda çok daha belirgin olmaktadır. Bu nedenle diyabetik nefropati tanısı olan hastalarda kandaki CD34 + hücre sayısının SDBH gelişme riskini ortaya koymada bir gösterge olarak kullanılabileceği sonucuna varabiliriz. Ayrıca çalışmamızda SDBH'da CD34 + hücre sayısını etkileyen etyolojik faktörler diyabetik ve non diyabetik olarak iki ayrı grupta değerlendirildi ve literatürde bu yönde yapılmış ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Çalışmada yer alan ve henüz hiç diyaliz yapılmamış SDBH tanısı olan hastalar takip edilerek bu hastalara diyaliz yapıldıktan sonra periferik kandaki CD34 + hücre sayısına yeniden bakılabilir. Böylece diyalizin periferik kandaki

hematopoietik kök hücre sayısı üzerindeki etkisi ortaya konabilir. Tüm bunlara ek olarak diyabetik nefropatisi olan hastalara kök hücre nakli yapılarak SDBH'na gidişini yavaşlatmak veya durdurmak mümkün gibi gözükmeyle beraber bu yönde kesin bir yargıya varabilmek için daha fazla ve geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

1. DM kontrol grubunda kadın hasta sayısı erkek hasta sayısından, sağlıklı kontrol grubunda erkek sayısı kadın sayısından daha fazlaydı. Diğer iki grupta kadın erkek sayısı benzerdi.
2. Yaş açısından sağlıklı kontrol grubunda, diğer gruplarla karşılaştırıldığında yaş ortalaması daha düşüktü. Diğer gruplar arasında yaş açısından fark yoktu.
3. Birinci ve ikinci gruptaki SDBH hastalarının tümünün GFH değeri 15'in altındaydı ve birinci grupta ortalama GFH değeri 12.34 ± 1.03 , ikinci grupta ortalama GFH değeri 13.28 ± 1.22 'ydi.
4. Üçüncü gruptaki kontrol DM hastalarının tümünde GFH değeri 60'ın üstündeydi ve ortalama GFH değeri 82.21 ± 18.39 'du. Sağlıklı kontrol grubunda ortalama GFH değeri 114.38 ± 35.38 'di
5. Sağlıklı kontrol grubunda CD34 + hücre sayısı DM-KBH ve DM kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı.
6. NON-DM KBH grubunda CD34 sayısı, DM-KBH grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak daha yüksek saptandı. Diğer gruplar arasında CD34 sayısı açısından anlamlı olarak bir fark saptanmadı.
7. Tüm gruplar baz alındığında; yaş arttıkça CD34 sayısının azaldığı gözlemlendi. Aralarında istatistiksel olarak zayıf korelasyon saptandı.

8. Mikroalbümin/kreatinin düzeyi ile CD34 + hücre sayısı arasındaki korelasyona bakıldı. İki değişken arasında istatistiksel olarak orta düzeyde negatif korelasyon saptandı.
9. HbA1c ile CD34 arasındaki ilişkiye bakıldığında her iki değişken arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı.
10. DM-KBH ve NON-DM KBH grubunda GFR düzeyi ile CD34 sayısı arasındaki ilişkiye bakıldı. İki değişken arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı.
11. Hastaların yaşı ve KBH'na yol açan etyolojik nedenler karşılaştırıldığında, CD34 üzerinde tüm etyolojik nedenler göz önüne alındığında DM'un diğer nedenlere göre istatistiksel olarak en belirgin etkiyi oluşturduğu gösterildi.
12. Yaşın oluşturduğu etki istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi.

7. KAYNAKLAR

1. Le Blanc K, Ringdén O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med.* 2007; 262 (5): 509-25.
2. Brooke G, Cook M, Blair C, et al. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells. *Semin Cell Dev Biol.* 2007; 18 (6): 846-58.
3. Robert AC. The epidemiology of chronic kidney disease. *Kidney International* 2005; 67.14-8
4. Serdengeçti K, Suleymanlar G, Altıparmak MR, Seyahi N. Registry of the nephrology, dialysis and transplantation in Turkey; Registry 2008. Metris Press, 2009.pp. 5–6.
5. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002; 39 (2 Suppl 1): S1-266.
6. Stack AG, Port FK. Son Dönem Böbrek Yetmezliği Hastalarının Demografisi. Ereğ E (çev); In: Diyaliz Tedavisi, Nissenson AR, Fine RN, Süleymanlar G, Ereğ E (Çeviri Editörleri), 3. baskı, Güneş Kitabevi, Ankara; 2004, 1-6
7. Hunsicker LG, Adler S, Caggiula A, et al. Predictors of the progression of renal disease in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *Kidney Int.* 1997; 51 (6): 1908-19.
8. Levey AS, Greene T, Kusek JW, Beck GJ. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinin. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11 (5): 8–28
9. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16 (1): 31–41
10. Feest TG, Mistry CD, Grimes DS, Mallick NP. Incidence of advanced chronic renal failure and the need for end stage renal replacement treatment. *BMJ.* 1990; 301(6757): 897–900.

11. Jungers P, Chauveau P, Descamps-Latscha B, et al. Age and gender-related incidence of chronic renal failure in a French urban area: a prospective epidemiologic study. *Nephrol Dial Transplant*. 1996; 11 (8): 1542–6.
12. Cassidy MJD, Ter Wee PM. Assessment and Initial Management of The Patient with Failing Renal Function. In: Davison AM; Cameron JS, Grünfeld JP, Ponticelli C, Ritz E, Winerals CG, van Ypersele C. *Oxford Textbook of Clinical Nephrology* (3rd ed) Oxford University Press. Newyork 2005; 1687–1716
13. Laupacis A, Keown P, Pus N, et al. A study of the quality of life and cost-utility of renal transplantation. *Kidney Int*. 1996; 50 (1): 235–42.
14. Russell JD, Beecroft ML, Ludwin D, Churchill DN. The quality of life in renal transplantation--a prospective study. *Transplantation*. 1992; 54 (4): 656–60.
15. Türk Nefroloji Derneği Yayınları, Türkiye’de Nefroloji-Diyaliz ve Transplantasyon, Registry 2008. İstanbul: Art Ofset; 2009.
16. Altıparmak MR, Apaydın S. Yenigün M (Editör). Her yönüyle diabetes mellitus’da diyabetik nefropati. (2.baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2001.s. 383–99.
17. Earle KA, Porter KK, Ostberg J, Yudkin JS. Variation in the progression of diabetic nephropathy according to racial origin. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16 (2): 286–90.
18. Parving H-H, Tarnow L, Rossing P. Genetics of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 1996;7 (12): 2509–17.
19. Seaquist ER, Goetz FC, Rich S, Barbosa J. Familial clustering of diabetic kidney disease. Evidence for genetic susceptibility to diabetic nephropathy. *N Engl J Med*.1989; 320 (18): 1161–5.
20. Young RP, Chan JC, Critchley JA, Poon E, Nicholls G, Cockram CS. Angiotensinogen T235 and ACE insertion/deletion polymorphisms associated with albuminuria in Chinese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 1998; 21 (3): 431–7.
21. Araz M, Yılmaz N, Güngör K, Okan V, Kepekçi Y, Aynacıoğlu AŞ. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and microvascular

- complications in Turkish type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Pract.* 2001; 54 (2): 95–104.
22. Nishikawa T, Edelstein D, Brownlee M. The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int Suppl.* 2000; 77: S26–30.
 23. Pickup J, Williams G. Pathogenesis of diabetic nephropathy. In: Pickup J, Williams G (Eds.). *Textbook of diabetes*. 2nd ed. Edinburgh: Blackwell Science 1997; p.521–22.
 24. Dyer DG, Dunn JA, Thorpe SR, Bailie KE, Lyons TJ, McCance DR, Baynes JW. Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging. *J Clin Invest.* 1993; 91 (6): 2463–9.
 25. Salahudeen AK, Kanji V, Reckelhoff JF, Schmidt AM. Pathogenesis of diabetic nephropathy: a radical approach. *Nephrol Dial Transplant.* 1997; 12 (4):664–8.
 26. Kedziora-Kornatowska KZ, Luciak M, Blaszczyk J, Pawlak W. Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in erythrocytes of patients with non-insulin dependent diabetes with or without diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 1998; 13 (11): 2829–32
 27. Gambaro G, Baggio B. Growth factors and the kidney in diabetes mellitus. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1998; 35 (2): 117–51.
 28. Li JH, Huang XR, Zhu H, Johnson R, Lan HY. Role of TGF β signaling in extracellular matrix production under high glucose conditions. *Kidney Int.* 2003; 63 (6): 2010–9.
 29. Ziyadeh FN, Hoffman BB, Han DC, et al. Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal antitransforming growth factor-beta antibody in db/db diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97 (14): 8015–20.
 30. Lee EY, Shim MS, Kim MJ, Hong SY, Shin YG, Chung CH. Angiotensin II receptor blocker attenuates overexpression of vascular endothelial growth factor in diabetic podocytes. *Exp Mol Med.* 2004; 36 (1): 65–70.

31. Young BA, Johnson RJ, Alpers CE, Eng E, Gordon K, Floege J et al. Cellular events in the evolution of experimental diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1995; 47 (3): 935–44.
32. Twigg SM, Chen MM, Joly AH, Chakrapani SD, Tsubaki J, Kim HS et al. Advanced glycosylation end products up-regulate connective tissue growth factor (insulin-like growth factor-binding protein-related protein 2) in human fibroblasts: a potential mechanism for expansion of extracellular matrix in diabetes mellitus. *Endocrinology.* 2001; 142 (5) : 1760–9.
33. Andersen S. Relevance of single nephron studies to human glomerular function. *Kidney Int.* 1994; 45 (2) : 384–9.
34. Zatz R, Dunn BR, Meyer TW, Anderson S, Rennke HG, Brenner BM. Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest.* 1986; 77 (6) : 1925–30.
35. Price DA, Porter LE, Gordon M, Fisher NDL, De'Oliviera JM, Laffel LM, et al. The paradox of the low-renin state in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 1999; 10 (11) : 2382–91.
36. Anderson S, Jung FF, Ingelfiner JR. Renal renin-angiotensin system in diabetes: functional, immunohistochemical and molecular biological correlations. *Am J Physiol.* 1993; 265 (4 Pt 2) : F477–86.
37. Giacchetti G, Sechi LA, Rilli S, Carey RM. The renin-angiotensin-aldosterone system, glucose metabolism and diabetes. *Trends in Endocrinology and Metab.* 2005; 16 (3) : 120–6.
38. Deniz G. Flow sitometrik tekniklerin klinik kullanımı. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci.* 2007; 3 (43) : 73–80.
39. Villas BH. Flow cytometry: an overview. *Cell Vis.* 1998 Jan-Feb;5 (1) :56–61.
40. Rahman M. Introduction to flow cytometry. Serotec Ltd. Oxford (UK): Published by Serotec Ltd; 2006.
41. Matteucci E, Giampietro O. Flow cytometry study of leukocyte function: analytical comparison of methods and their applicability to clinical research. *Curr Med Chem.* 2008; 15 (6) : 596–603.

42. Peterson RA, Krull DL, Butler L. Applications of laser scanning cytometry in immunohistochemistry and routine histopathology. *Toxicol Pathol.* 2008; 36 (1) : 117–32.
43. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood.* 2008; 111 (8) : 3941–67.
44. Cecil Medicine 23rd edition (LEE GOLDMAN, DENNIS AUSIELLO) (Shf No: 249–251)
45. Beare A, Stockinger H, Zola H, Nicholson I. Monoclonal antibodies to human cell surface antigens. *Curr Protoc Immunol.* 2008; Appendix 4:4A.
46. Fornas O, Garcia J, Petriz J. Flow cytometry counting of CD34 + cells in whole blood. *Nat Med.* 2000;6 (7) : 833–6.
47. Verfaillie CM, Pera MF, Lansdorp PM: Stem cells hype and reality. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2002: 369–91.
48. Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood.* 2003; 102 (10) : 3483–93.
49. Martin-Rendon E, Watt SM. Stem cell plasticity. *Br J Haematol.* 2003;122 (6) : 877–91.
50. Patapoutian A, Wold BJ, Wagner RA. Evidence for developmentally programmed transdifferentiation in mouse esophageal muscle. *Science.* 1995; 270 (5243) : 1818–21.
51. Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature.* 1996; 380 (6569) : 64–6.
52. Mimeault M, Batra SK. Concise Review: recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies. *Stem Cells.* 2006; 24 (11) : 2319–45.
53. Trounson A. The production and directed differentiation of human embryonic stem cells. *Endocr Rev.* 2006; 27 (2) : 208–19.
54. Karaöz E, Ovalı E. Kök hücreler. *Celepler Matbaası, Trabzon,* 2004, s:17–63.
55. Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell.* 2001; 105 (7) : 829–41.

56. Fuchs E, Tumber T, Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell*. 2004; 116 (6) : 769–78
57. Bellantuono I. Hematopoietic stem cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004; 36 (4) : 607–20.
58. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2007; 447 (7146) : 879–80
59. Pittinger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal cells. *Science*. 1999; 284 (5411) : 143–7.
60. Sata M. Circulating vascular progenitor cells contribute to vascular repair, remodeling, and lesion formation. *Trends Cardiovasc Med*. 2003; 13 (6) : 249–53
61. Schmidt-Lucke C, Rossig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, Kamper U, Dimmeler S, Zeiher AM. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation*. 2005; 111 (22) : 2981–7
62. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003; 348 (7) : 593– 600
63. Loomans CJ, de Koning EJ, Staal FJ, Rookmaaker MB, Verseyden C, de Boer HC, Verhaar MC, Braam B, Rabelink TJ, van Zonneveld AJ. Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004; 53 (1) : 195–9
64. Fadini GP, Miorin M, Facco M, et al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in peripheral vascular complications of type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 2005; 45 (9) : 1449–57
65. Fadini GP, Sartore S, Albiero M, et al. Number and function of endothelial progenitor cells as a marker of severity for diabetic vasculopathy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26 (9) : 2140–6

66. Fadini GP, Pucci L, Vanacore R, Baesso I, Penno G, et al. Glucose tolerance is negatively associated with circulating progenitor cell levels. *Diabetologia*. 2007; 50 (10) : 2156–63
67. Makino H, Okada S, Nagumo A, Sugisawa T, et al. Decreased circulating CD34 + cells are associated with progression of diabetic nephropathy. *Diabet Med*. 2009; 26 (2) : 171–3
68. Dessapt C, Karalliedde J, Dattani N, Atkar R., et al. Circulating Vascular Progenitor Cells in Patients With Type 1 Diabetes and Microalbuminuria *Diabetes Care*. 2010; 33 (4) : 875–7.
69. Degroot K, Bahlmann FH, Sowa J, et al. Uremia causes endothelial progenitor cell deficiency. *Kidney Int*. 2004; 66 (2) : 641–6
70. Coppolino G, Bolignano D, Campo S, Loddo S, Teti D, Buemi M. Circulating progenitor cells after cold pressor test in hypertensive and uremic patients. *Hypertens Res*. 2008; 31 (4) : 717–24.
71. Choi JH, Kim KL, Huh W, Kim B, et al. Decreased number and impaired angiogenic function of endothelial progenitor cells in patients with chronic renal failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24 (7) : 1246–52
72. Rodriguez-Ayala E, Yao Q, Holmen C, Lindholm B, Sumitran-Holgersson S, Stenvinkel P. Imbalance between detached circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells in chronic kidney disease. *Blood Purif*. 2006; 24 (2) : 196–202
73. Shaffer R, Greene S, Arshi A, Supple G, et al. Flow Cytometric Measurement of Circulating Endothelial Cells: The Effect of Age and Peripheral Arterial Disease on Baseline Levels of Mature and Progenitor Populations. *Cytometry Part B Clini Cytom* 2006; 70 (2) : 56–62.
74. Scheubel RJ, Zorn H, Silber RE, et al. Age-dependent depression in circulating endothelial progenitor cells in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 42 (12) : 2073–80.
75. Voltarelli JC, Couri CEB, Stracieri AB, et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA*. 2007; 297 (14) : 1568–76.

76. Hong Z, Hao Ming T, Yang L, et al. Mesenchymal stem cells transplantation mildly ameliorates experimental diabetic nephropathy in rats. *Chin Med J*. 2009; 122 (21) : 2573–9
77. Alejandro R Chade, Xiangyang Z, Ronit L, James D, Simari RD, et al. Endothelial progenitor cells restore renal function in chronic experimental renovascular disease. *Circulation*. 2009; 119 (4) : 547–57
78. Tokgoz B, Kocyigit I, Polat G, Eser B, et al. Acute renal failure after myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors, and relationship with the quantity of transplanted cells. *Ren Fail*. 2010; 32 (5) : 547–54.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Araş. Gör. Dr. İlker ALTUN'a ait "Diyabetes Mellitus ve Son Dönem Böbrek Hastalığının Periferik Kandaki CD34 + Hücre Sayısı Üzerine Etkisi " adlı çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

İmza:

Başkan : Prof. Dr. Kürşat ÜNLÜHİZARCI

İmza

Üye : Prof. Dr. Murat SUNGUR

İmza

Üye: Prof. Dr. Bülent TOKGÖZ

İmza

Üye :Doç. Dr. Bülent ESER

İmza

Üye :Yrd. Doç. Dr. Fatih KURNAZ

İmza