



T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA EVRE, MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ VE METALLOPROTEİNAZ DOKU
İNHİBİTÖRLERİ ARASINDAKİ DENGE İLE PODOSİT VE TÜBÜLER
HASAR BELİRTEÇLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR.ÖZGE YALICI

DÜZCE-2021



T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA EVRE, MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ VE METALLOPROTEİNAZ DOKU
İNHİBİTÖRLERİ ARASINDAKİ DENGİ İLE PODOİT VE TÜBÜLER
HASAR BELİRTEÇLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. ÖZGE YALICI

TEZ DANIŞMANI: DR.ÖĞRT.ÜYESİ KÜRŞAD ÖNEÇ

DÜZCE-2021

ÖZET

Amaç: Kronik böbrek hastalığı (KBH) dünyada ve ülkemizde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Güncel verilere göre KBH'nın prevalansındaki artış devam etmekte olup, artış hızı azalmaktadır. Çalışmamızda çeşitli etyolojik nedenlere bağlı olarak KBH gelişmiş hastalarda, KBH'nın evrelerine göre endotel disfonksiyon belirteçleri ile tübüler ve glomerüler hasar ve bunların biyokimyasal belirteçleri arasındaki ilişkiyi değerlendirdik. KBH'nın etyolojisi ve hastalığın evresi ile endotel hasarlanmasının böbrek fonksiyonları üzerine etkisini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Çalışma prospektif bir vaka kontrol çalışması olarak tasarlandı. Çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nefroloji ve İç Hastalıkları servis ve polikliniklerine Ocak 2020 - Haziran 2020 yılları arasında başvuran, Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) kriterlerine göre evre 1,2,3,4,5 KBH tanısı ile takipli veya yeni tanı almış 132 hasta ve 38 kişilik kontrol grubu dahil edildi. Hasta grubunda 23 kişi evre 1, 22 kişi evre 2, 23 kişi evre 3a, 20 kişi evre 3b, 23 kişi evre 4, 21 kişi evre 5 KBH olarak belirlendi. Hasta ve kontrol grubundan yaş, cinsiyet, ek hastalıkları, kullandıkları ilaçlar gibi bilgiler, kan ve idrar örnekleri alındı. Her iki grubun alınan kan örneklerinden Kidney Injury Molekül-1(KIM-1), Matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, Tissue inhibitors of metalloproteinase-1 (TIMP), TIMP-2 düzeyleri ve alınan idrar örneklerinden nefrin düzeyi ELİSA yöntemi ile incelendi.

Bulgular: Çalışmamıza 132 hasta, 38 kişi kontrol grubu olmak üzere toplam 170 kişi dahil edildi. Bütün analizler yaşa göre düzeltilerek yapıldı. KBH evresi arttıkça plazma KIM-1, TIMP-2, MMP-2 ve idrarda nefrin düzeylerinde artış saptandı (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$). Kalsiyum kanal blokörü kullanan grupta plazma MMP-2 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük saptandı ($p<0.05$).

Sonuç: KBH etyolojisinden bağımsız olarak plazma KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 ve idrarda nefrin düzeylerinin renal hasarın göstergesi olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Kronik böbrek yetmezliği, kronik böbrek yetmezliği evre, Kidney Injury Molekül-1, Matrix Metalloproteinase-2, Matrix Metalloproteinase-9, Tissue inhibitors of metalloproteinase-1, Tissue inhibitors of metalloproteinase-2, Nefrin

ABSTRACT

Objective: Chronic kidney disease (CKD) is an important public health problem in the world and in our country. According to current data, the increase in the prevalence of CKD continues and its rate of increase is decreasing. In our study, we evaluated the relationship between endothelial dysfunction markers and tubular and glomerular damage and their biochemical markers according to the stages of CKD in patients who developed CKD due to various etiological reasons. We investigated the etiology of CKD and the effect of the stage of the disease and endothelial damage on kidney functions.

Materials and methods: The study was designed as a prospective case-control study. Applied to Düzce University Medical Faculty Hospital Nephrology and Internal Diseases services and outpatient clinics between January 2020 and June 2020, 132 patients with a diagnosis of stage 1,2,3,4,5 CKD with a diagnosis of CKD according to KDIGO criteria and a control group of 38 people were included. In the patient group, 23 patients were stage 1, 22 patients were stage 2, 23 patients were stage 3a, 20 patients were stage 3b, 23 patients were stage 4, 21 patients were stage 5 CKD. Information such as age, gender, comorbidities, medications used, and blood and urine samples were taken from the patient and control groups. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1), Matrix metalloproteinase (MMP) -2, MMP-9, Tissue inhibitors of metalloproteinase-1 (TIMP), TIMP-2 levels from blood samples of both groups and nephrine levels in urine samples ELISA It was examined by method.

Results: Our study included a total of 170 people, 132 patients and 38 control group. All analyzes were made by correcting for age. As the CKD stage increased, plasma KIM-1, TIMP-2, MMP-2 and urine nephrine levels increased ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.05$, respectively). In the group using calcium channel blocker, plasma MMP-2 levels were found to be statistically significantly lower ($p < 0.05$).

Conclusion: Regardless of the etiology of CKD, we think that plasma KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 and urinary nephrine levels can be used as an indicator of renal damage.

Keywords: Chronic renal failure, chronic renal failure stage, Kidney Injury Molecule-1, Matrix Metalloproteinase-2, Matrix Metalloproteinase-9, Tissue inhibitors of metalloproteinase-1, Tissue inhibitors of metalloproteinase-2, Nephren

ÖNSÖZ

Tezimin hazırlanmasında ve eğitim sürecimde değerli katkılarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Doktor Öğretim Üyesi Kürşad ÖNEÇ'e,

Hastaların toplanması ve klinik takipleri sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarıma ve istatistiksel analizlerde yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Şengül CANGÜR'e,

Uzmanlık eğitimime bilgi ve tecrübeleriyle emekleri geçen değerli hocalarım Doç. Dr. Onur EŞBAH, Profesör Doktor Tansu SAV, Doç. Dr. Serkan TORUN, Doç. Dr. Birgül ÖNEÇ, Doç. Dr. Türkay AKBAŞ, Doktor Öğretim Görevlisi Atilla ÖNMEZ, Doktor Öğretim Üyesi Salih TOKMAK'a

Tez sürecinde yardımlarını esirgemeyen, desteğini ve sevgisini hep hissettiğim annem ve babama,

Uzmanlık eğitimim süresince çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum başta Uzman Doktor Merve ERÇELİK, Araştırma Görevlisi Gül AKIN, Araştırma Görevlisi Perihan YAĞCI, Uzman Doktor Hilal Şöhret ÖZDEMİR olmak üzere değerli arkadaşlarıma,

Teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Dr. Özge YALICI

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER	xi
TABLolar.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Böbreğin Anatomisi	5
2.2. Böbrek Histolojisi	6
2.2.1.Glomerül.....	6
2.2.2.Tübüller	11
2.3. Böbrek Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi	11
2.3.1.Ekzojen Filtrasyon Belirteçleri.....	11
2.3.2.Endojen Filtrasyon Belirteçleri	11
2.3.3.Kreatin	12
2.4. Kronik Böbrek Yetmezliği	13
2.4.1.Tanımı	13
2.4.2.Evreleme.....	13
2.4.3.Epidemiyoloji ve İnsidansı	14
2.4.4.Etyoloji	15
2.4.5.Patofizyoloji	17
2.4.6.Klinik Bulgular.....	22
2.4.7.Tedavi.....	23

2.5. Böbrek Yetmezliği Tanısında Biyobelirteçler.....	23
2.5.1.Kidney İnjury Molekül-1(KIM-1).....	23
2.5.2.Matrix metalloproteinase (MMP)	25
2.5.3.Tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP)	30
2.5.4.Nefrin	31
3. GEREÇ YÖNTEM.....	35
3.1. Çalışma Grubu.....	35
3.2 Klinik Değerlendirme ve Örnek Toplanması	35
3.3.Örneklem Genişliği	36
3.4 İstatistik Analiz	36
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ	58
7. KAYNAKLAR	60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİN

KBH: Kronik Böbrek Hastalığı

GFH: Glomerüler Filtrasyon Hızı

eGFH: estimated Glomerüler Filtrasyon Hızı

TGF-β: Transforming Growth Factor Beta

ZO-1: Zonula Occludens – 1

NF- κB: Nuclear Factor kappaB

MCP-1: Monosit Kemotaktik Protein-1

KIM-1: Kidney Injury Molecule-1

MMP: Matrix Metalloproteinaz

TIMP: Metaloproteinazların Doku İnhibitörleri

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

GBM: Glomerüler Bazal Membran

MDRD: Modification of Diet in Renal Diseases Sturdy

CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Callaboration

Ig: Immünglobulin

CD2AP: CD2 İlişkili Protein

NKF: National Kidney Foundation

KDIGO: Kidney Disease Improving Global Outcomes

SCr: Serum Kreatin

CrCl: Kreatin Klirensi

RRT: Renal Replasman Tedavisi

DM:Diabetes Mellitus

HT:Hipertansiyon

DN: Diyabetik Nefropati

α SMA: α -Smooth Muscle Actin

FSP1: Fibroblast Specifik Protein 1

MLIBS: metal iyonuna bağılı ligand bağlama alanına

T: Treonin

S: Serin

P: prolin

TM: Transmembran

SDBY: Son Dönem Böbrek Yetmezliği

LC3II: Mikrotübülle İlişkili Protein 1 Hafif Zincir 3 Alfa

PEX: Hemopeksin Bölgesi

RECK: Kazal motifli sistein açısından zengin reversiyon protein

TNF: Tümör Nekroz Faktör

GF: Büyüme Faktör

SPLA2: Sekretuar Fosfolipaz A2

OS: Oksidatif Stres

EGF: Epidermal Büyüme Faktör

FGF: Fibroblast Büyüme Faktör

PDGF : Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör

CTGF: Bağ Dokusu Büyüme Faktör

HGF: Hepatosit Büyüme Faktör

NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

NADH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid

NCK1: Tirozin Kinase Adaptör Protein 1'in Katalitik Olmayan Bölgesi

NCK2: Tirozin Kinase Adaptör Protein 2'in Katalitik Olmayan Bölgesi

PI3K: Fosfoinositid 3-kinaz

IR: İnsülin Reseptörü

IRS-1: İnsülin Reseptörü Subtrat-1

PIP2: Fosfatidilinositol-4,5-Bifosfat

PIP3: Fosfatidilinositol-3,4,5-Trifosfat

MPV: Ortalama trombosit hacmi

ACEI/ARB: Anjiotensin Converting Enzim İnhibitörü/Anjiotensin Reseptör Blokörü

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent assay

KAH:Koroner Arter Hastalığı

CRP: C reaktif protein

ŞEKİLLER

Şekil 1.Glomerülün yapısı (2) 6

Şekil 2.Yarık Diyafram(8).....	9
Şekil 3. Podosit ayakası çıkıntılarının moleküler yapısı (9)	10
Şekil 4.Glomerüler Filtrasyon Hızını Hesaplama Formülleri (10)	12
Şekil 5.Podosit ve GBM Bağlantısı (8).....	19
Şekil 6.Glomerüloskleroz basamakları (13).....	20
Şekil 7.İnsan KIM-1 proteininin yapısı (20)	24
Şekil 8.MMP-2 ve 9 aktivitesinin ve ekspresyonunun düzenlenmesi (37)	26
Şekil 9.MMP-2 ve 9 Böbrek Fibrozis Etki Mekanizması (37)	29
Şekil 10.İnsan dermal fibroblastlarında TNF- α 'nın mekanizması ve kollajen aracılı pro-MMP-9 aktivasyonu(40).....	30
Şekil 11.Nefrin sitoplazmik kompartmanındaki tirozin kalıntıları (72).....	32
Şekil 12.Büyüme Faktörlerine Göre Akt'nin Hücre Yüzeyine Doğru Aktivasyonu(85)	33

TABLÖLAR

Tablo 1.GFH'ye göre sınıflama (1).....	13
Tablo 2.Türkiye RRT gören hastaların insidansı ve prevalansı (12)	14
Tablo 3. Türkiye'deki Hemodiyalize Giren Hasta Sayısı (12)	15
Tablo 4.Kronik böbrek hastalığında risk faktörleri (13)	16
Tablo 5.2019 yılı içinde ilk RRT olarak HD'e başlayan insidan hastaların SDBY etyolojisine göre dağılımı (12).....	16
Tablo 6.Kronik Böbrek Hastalığının Klinik Özellikleri (15).....	22
Tablo 7.2019 yılında Türkiyedeki RRT prevalansı (12).....	23
Tablo 8.Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri.....	38
Tablo 9.Kontrol Grubu ve KBH Evreleri'nin Kan Basıncı Ölçümleri ve Laboratuvar Değerlerinin Karşılaştırması	41
Tablo 10.Kontrol Grubu ve KBH Evrelerinde Biyomarkerlar Arasındaki İlişki.....	43
Tablo 11. Biomarkerlar ile Kan Basıncı ve Laboratuvar Değerleri Arasındaki İlişki	44
Tablo 12.Kronik Böbrek Hastalığı Etiyolojisine göre Biyomarkerlar ile İlişkisi	45
Tablo 13.Diabetes Mellitus İle Biyomarkerlar Arasındaki İlişki	45
Tablo 14.Hipertansiyon İle Biyomarkerlar Arasındaki İlişki.....	46
Tablo 15.ACEI/ARB Kullanımını ile Biyomarkerlar Arasındaki İlişki.....	46
Tablo 16.Kalsiyum Kanal Blokörü Kullanımını ile Biyomarkerlar Arasındaki İlişki	47

1. GİRİŞ

Kronik böbrek hastalığı (KBH), 3 aydan daha uzun süren böbrek fonksiyon kaybı olarak tanımlanmaktadır. Böbrek fonksiyonunun en iyi göstergesi olarak, glomerüler filtrasyon hızı (GFH) görülür. GFH hesabında kreatin, yaş, cinsiyet ve ırk parametreleri kullanılır.

GFH'ye göre sınıflamada; evre 1 $GFH \geq 90$ ml/dk/1.73 m² (normal yada yüksek) , evre 2 $GFH: 60-89$ ml/dk/1.73 m² (hafif azalmış), evre 3a $GFH: 45-59$ ml/dk/1.73 m² (hafif-orta derece azalmış), evre 3b $GFH: 30-44$ ml/dk/1.73 m² (orta-ağır derece azalmış), evre 4 $GFH 15-29$ ml/dk/1.73 m² (ağır derecede azalmış) , evre 5 $GFH < 15$ ml/dk/1.73 m² KBH olarak ayrılmıştır (1).

Renal hasarlanma mekanizmalarını, glomerüler ve tübülointerstisyel hasarlanma olarak iki alt grupta inceleyebiliriz. Glomerüler hasarlanmayı yapısal bozukluklar, hücresel bağışıklık, immünkompleksler, atübüler glomerüller, immün sistem etkinlikleri ve podositler olarak gruplayabiliriz.

1)Yapısal bozukluklar, böbreğin süzme fonksiyonunda problemlere yol açar. Yarık diyafram veya bazal membranda yapısal defektler sonucu proteinüri ve/veya hematüri görülmesi yapısal bozukluklara örnektir.

2)İmmünkompleksler glomerülde üç şekilde çökebilir; dolaşımdaki immünkompleksler, in situ, çökelen antijenler.

3)Hücresel bağışıklık; duyarlanmış T hücrelerinin glomerüler hasarlanmayla ilişkisini gösteren deneysel çalışmalar mevcuttur.

4)İmmün sistem etkileri; glomerüldeki immünkompleks ya da duyarlanmış T hücrelerinin çağırdıkları lökosit, monosit, makrofaj, trombosit ve mezengial hücreler, birçok biyolojik aktif molekül salgılar. Bu moleküllerden biri olan transforming growth factor-beta (TGF- β) bağ dokusunda glomerüloskleroz gelişiminde önemlidir. Fibrin, Bowman boşluğuna geçerek paryetal hücreleri ile birlikte yarım ay şeklinde bir yapı oluşur. Glomerüllerdeki ekstrasellüler matriks artışı, mezengial hücrelerde artış ile kontrol altına alınmaya çalışılacaktır. İmmünkomplekslerin ve diğer maddelerin ortadan kaldırılmasında mezengial

hücreler rol oynamaktadır. Matriksin iyileşme çabası segmental ve global sklerozu doğurabilir.

5)Atübüler glomerüller; fonksiyonel nefron olarak görev yapmayan, bağ dokusu ile kaplı olması sebebi ile filtrasyonun durduğu ve sadece kan akımına izin veren bir yapıdır.

6)Podositler; glomerüldeki visseral epitel hücreleridir. İskeminin podositlerdeki etkisi, pedisellerde silinmeye sebep olur. Erken yarık diyafram kaybı, junction proteinleri arasında bulunan Nephl ve zonula occludens-1(ZO-1) proteinlerinin ilişkisinin kaybıyla ortaya çıkar. Her iki durumda da pediseller silinir, vakuolizasyon gibi reversible değişikliklerle beraber epitel hücreler bazal membrandan ayrılır ve protein kaçısı meydana gelir. İrreversible hasarı gören podositler çoğalarak yenilenemeyecektir. Podositlerde kısıtlı DNA sentezi ile bir miktar onarım görülebilir. Eğer bu işlemi gerçekleştiremiyorlarsa canlı podositler kendilerini birbirine doğru ilerleyip boşluğu doldurmaya çalışırlar. Bu mümkün değilse, podositten yoksun bazal membran alanları ortaya çıkacaktır ve Bowman kapsülünde yapışıklıklar meydana gelecektir. Sonuç olarak önce fokal segmental skleroz sonra da global skleroz gelişecektir.

Tübüler hasarlanma, 2 kısımda incelenebilir; büyük tıkaçlarla oluşan luminal tıkanma ve filtre edilen makromoleküllerin tübüller üzerine etkisi.

1)Büyük tıkaçlarla oluşan luminal tıkanma; glomerülde yapışıklık sonucu tübülün tıkanması ve bunun sonucunda atübüler glomerül gelişmesidir.

2)Filtre edilen makromoleküllerin tübüller üzerine etkisi; proteinüri ve hematüri olarak ortaya çıkar. Glomerüler filtrasyon bariyerinde problem olması sonucu albüminüri ortaya çıkar. Proteinüri ilişkisini incelersek; glomerüle filtrata geçen albümin, proksimal tübülden geri emilip dolaşıma verilir ve küçük bir kısmı lizozomal olarak yıkılır. Normal miktardan fazla albüminin proksimal tübüle geçmesi toksik etki yapar. Toksik etkiye maruz kalan tübül epitel hücreleri aktifleşip sekresyon yaparlar; adezyon molekülleri, fibrozis sürecine katkı yapan TGF- β gibi büyüme faktörleri ve sitokin salgırlar. Bu maddeler inflamasyonu tetikler, hasarlanma ve intertisyel fibroze sebep olur. Ayrıca artan TGF- β reseptörleri ile tübül epitel hücreleri, TGF- β 'nın hedef hücresi haline gelirler. İnflamasyona sebep

olan mekanizmalardan bir diğeri de, proteine maruz kalan proksimal tübül hücrelerinde, nuclear factor κ B(NF- κ B) bağımlı yolağın aktifleştirdiği kemokinlerdir. Kemokinler tübülün bazolateralinden sekrete edilir ve inflamasyonu tetikler. İnflamasyonda monositlerin böbrek hasarlanmasında önemli rolü vardır. Monositler özellikle diyabetiklerde monosit kemotaktik protein-1(MCP-1) ile aktifleşir, aktive makrofajlara dönüşür. Aktive makrofajlar, salgıladıkları reaktif oksijen radikalleri ve pro-inflamatuar sitokinlerle parankim hücrelerinde hasar, apoptoz ve nekroz oluştururlar.

Hematüri ile ilişkisi ise, tübül epitel hücrelerinin eritrositleri fagosite edip, parçalaması sonucu açığa çıkan demir ve hemoglobinin tübüllerde oluşturduğu toksik etkidir (2).

Kidney injury molecule-1 (KIM-1), proksimal tübülün apikal membranına lokalize, 38.7-kDa ağırlığında, tip 1 transmembran glikoproteinidir. Sağlıklı böbrekte görülmez ancak iskemik ve toksik durumlara yanıt olarak tespit edilebilir. İskemi veya reperfüzyon hasarı ve nefrotoksik madde maruziyetinden sonra, KIM-1 hasarlı proksimal tübül epitelinde belirgin şekilde hücre yüzeyine doğru exprese edilir (3, 4).

Matrix Metalloproteinaz (MMP) -2, -3, -9, -13, -14, -24, -25, -27, -28 ve Metaloproteinazların Doku İnhibitörleri (TIMP) -1, -2 ve -3'ün tümü böbreklerde tespit edilen biyobelirteçlerdir. MMP-2'nin, tavşan böbreğindeki toplayıcı kanallarda, sıçanların glomerül ve proksimal tübüllerinde ve maymunun proksimal ve distal tübüllerinde de eksprese edildiği gösterilmiştir. MMP-9 esas olarak glomerülde görülmüştür. Ancak, maymun proksimal ve distal tübülünde ve tavşan böbreğindeki toplayıcı kanallarda ekspresyon raporları bulunmaktadır. İnsanda gelişen böbrek hastalığında, MMP-2'nin tübüler atrofi, glomerüloskleroz ve tübülointerstisyel fibrozisde rolü olduğu üzerine bazı kanıtlar sunulmuştur. Glomerüller, TIMP-1 ve TIMP-2 mRNA'yı eksprese eder. TIMP-1 ve -2 ekspresyonunun insanlarda glomerüloskleroz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (5).

Nefrin, spesifik olarak podosit septal membranında eksprese edildiği gösterilen ilk transmembran globülinidir. Septumun morfolojisinin korunmasında önemli bir rol oynar. Mezengial hücre hiperplazisi ve sklerozu, glomerüler bazal membran kalınlaşması, subendotelyal bant genişlemesi ve ciddi proteinüri de nefrin

kaybı ile ilişkilidir. Patolojik koşullarda nefrin ile podosinin downregülasyon ile düzenlenmesi, glomerüler hasarın biyobelirteci olabilir. Sonuç olarak, idrarda nefrin ekspresyonu podosit hasarının erken bir göstergesi olarak görülür (6).

Çalışmamızda çeşitli etyolojik nedenlere bağlı olarak kronik böbrek yetmezliği gelişen hastalarda, kronik böbrek yetmezliği evrelerine göre endotel disfonksiyon belirteçleri ile tübüler ve glomerüler hasar ve bunların biyokimyasal belirteçleri arasındaki ilişkisinin değerlendirilmesi ve etiyolojik neden ve hastalığın evresi ile endotel hasarlanmasının böbrek fonksiyonları üzerine etkisinin araştırılması planlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreğin Anatomisi

Böbrekler kolumna vertebralisin iki yanında, karın arka duvarına yaslanmış, psoas kasının lateralinde oblik yerleşmiş, retroperitoneal iki adet organdır. On ikinci torakal vertebra ile üçüncü lomber vertebra arasında longitudinal yerleşmiştir. Sağ böbrek, karaciğer nedeniyle biraz daha aşağıdadır (7, 8). Erişkin erkekte böbreğin ortalama boyutları 11x6x3 cm'dir. Böbrek boyutu vücut kitle indeksi ile ilişkilidir, yaş, cinsiyet ve ırklara göre değişiklik gösterir (2).

Böbrekte, dıştan içe doğru sırasıyla bölgeler; korteks , medulla , minör ve major kaliksler , renal sinüs ve renal pelvistir (2). Renal korteks; böbreğin en dış katmanıdır, yapısında glomerül denilen kapiller yumaklar bulunur. Glomerüler kapiller, Bowman kapsülü denilen, proksimal tübülün genişlemiş son kısmı olan yapıyla çevrelenmiştir (7, 8).

2.1.1.Kan damarları

Böbrekler kardiyak outputun %20'sini alırlar. Aorttan ayrılan ana renal arter, renal hilusta ön ve arka dallara ayrılır. Ön segmental arter böbreğin üst, orta , ön ve alt kısmının beslenmesinden sorumlu iken böbreğin arka tarafını posterior dal besler. Segmental dallarda kollateral bulunmadığı için tıkanma halinde ilgili alanda doku infarktı meydana gelir. Arterler sırası ile segmental arter, interlober arter, arkuat arter, interlobüler arter, afferent arterioldür. Bu arterler glomerülde sonlanır. Glomerüler yumaktan sonra kan efferent arteriol ile devam eder. Efferent arterioller glomerülden çıktıktan sonra dallanma göstererek korteksin peritübüller kapiller ağını oluşturur. Renal medullaya doğru inen efferent arterioller bolca dallanma gösterir ve medüller alanın ana beslenmesinden sorumlu vasa rektaları oluştururlar. Kan kapillerden sırasıyla, interlobüler, arkuat ve interlober venlere en sonda ana renal vene dökülür(2).

2.1.2.Lenfatikleri

Kortekste arterlere, medullada vasa rektaya lenfatik damar ağı eşlik eder. Küçük lenfatikler böbreği hilumdan terk eder ve en son paraortik lenf nodlarına dökülür (2).

2.2.Böbrek histolojisi

Böbrek korteksi, kortikal labirent ve medüller ışınlar olarak ikiye ayrılır. Kortikal labirent; glomerüller, proksimal ve distal kıvrımlı tübüller, bağlayıcı tübüller, interlobüler arter, venler, arterioller, venül, kapiller ve lenfatikleri içeren kısımdır. Medüller ışın; dış ve orta korteks nefronlarına ait proksimal ve distal tübüllere ile toplayıcı kanalların uzanımından oluşur. Medulla, tübül tipine göre; iç ve dış medulla olarak iki kısımda incelenir.

Nefron, böbreğin fonksiyonel ünitesidir. Glomerüller sadece renal kortekse yerleşiktirler. Renal tübüller sırasıyla; proksimal tübül, henle kulbu, distal tübül olmak üzere üç kısımda incelenir (2).

2.2.1.Glomerül

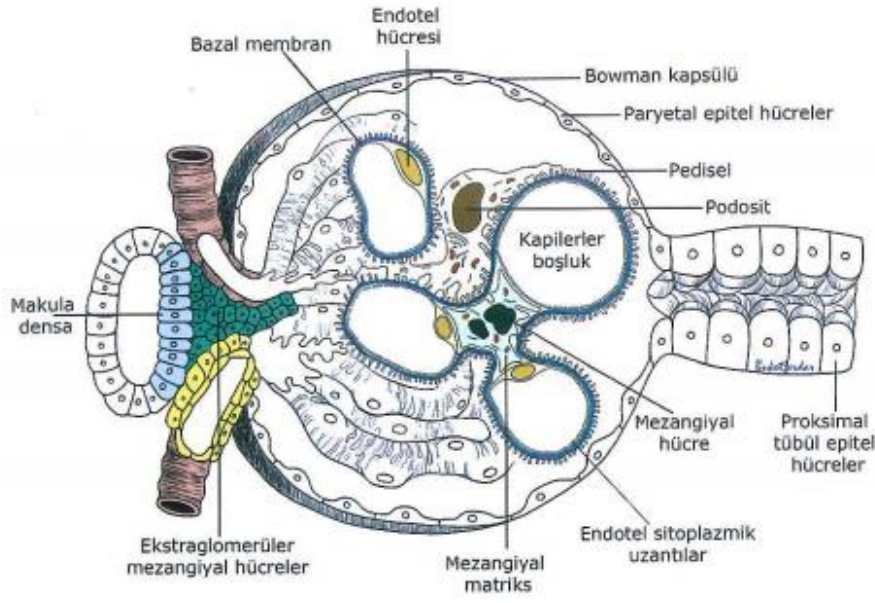
Glomerül; bazal membran, ekstrapmedüller bir matriks, kapiller, mezengial hücreler, endotelial hücreler, visseral epitelyal hücreler (podosit) ve paryetal epitelyal hücreler içerir (Şekil 1) (2).

Bowman kapsülü: Paryetal epitel ve bazal membrandan oluşur.

Bowman boşluğu: Paryetal ve visseral epitel arasında boşluktur.

Glomerüler yumak: Afferent arteriol ile efferent arteriol arasındaki kapiller yumaktır. Glomerülün bu tarafına damarsal kutup denir. Kapiller yumağın iç yüzünü döşeyen epitel ve bazal membran özelliklidir. Glomerülün bazal membranın endotel ile döşeli olmayan dış yüzünü örten visseral epitelyum hücreleri (podositler) mevcuttur. Tübüler kutup ise Bowman boşluğunda biriken filtratın açıklıktan proksimal tübüle geçtiği kutuptur. Mezengial hücreler ise glomerülde homeostasisin sağlanması ve hücreler arası matriksin düzenlenmesinde rol alır (2).

Şekil 1.Glomerülün yapısı (2)



Glomerül yapısında; kapiller, mezangiyal hücreler, endotel hücreleri, visseral epitel hücreleri, paryetal epitel hücreleri, bazal membran, ekstrasellüler matriks bulunur.

Kapiller: Glomerüler kapillerin iç yüzeyini döşeyen endotel hücreleri fenestralıdır. Endotel hücreleri yapılarındaki polianyonik glikoproteinler sayesinde negatif yüklüdür. Bu polianyonik proteinlerden en önemlisi endotel hücreleri ve podositler tarafından üretilen podokalsindir. Podositler tarafından üretilip, endotel işlevinde önemli rol oynayan bir diğer madde vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'dür. VEGF, endotelde fenestrasyon oluşumunu indükler, permeabiliteyi artırır ve bütünlüğün korunmasında rol oynar (2).

Mezengium: Kollajenöz matriks ve bu matriks ile çevrili mezengial hücrelerden oluşur. Jukstaglomerüler aparatındaki mezengial hücreler hasarlanma durumunda glomerül içine göç ederek çoğalabilme yeteneğine sahiptirler. Mezengial hücreler içerdikleri myozin ve aktin miyoflamentler sayesinde kasılma yeteneğine sahiptirler. Mezengial hücrelerin bu özellikleri filtrasyonda önemlidir. Fagositoz yaparak mezengiumdan makromolekülleri temizleme özelliğine sahiptirler (2).

Glomerüler bazal membran (GBM): Podositler ve endotel hücreleri arasında yer alır. Her iki hücre grubunda GBM üretiminde görev alır. Elektron mikroskopunda üç tabaka şeklinde görülür; iç lamina lusida (lamina rara), lamina densa ve dış lamina

lusida (lamina rara)'dır. GBM'nın büyük kısmı Tip IV kollajen olmak üzere, entaktin (nidojen), fibronektin, laminin ve sülfatlı proteoglikanlardan oluşur (2).

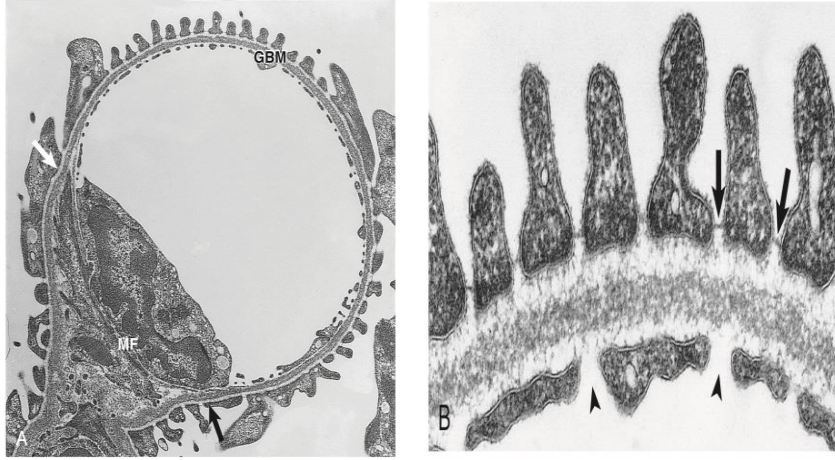
Visseral epitel hücreleri (podositler): Podositler glomerül içindeki en büyük, özelleşmiş hücrelerdir. GBM'nın dış yüzeyini çevrelerler. Podositlerin stoplazmik uzantıları vardır; hücre gövdesinden dışarı uzanır ve kapilleri çevrelerler (**Birincil çıkıntı**). Bu yapıların ayrışması sonucu oluşan **ayaksı çıkıntılar(Pedisel)**, kapilleri sarar. Podositler çok sayıda endoplazmik retikulum, golgi ve lizozom içerirler. Kontraksiyon kabiliyetini sağlayan mikroflamentler (aktin, myosin, α -aktinin, talin ve vinkulin) pedisellerde yoğunudur (2).

Elektron mikroskopta, lamina rara eksterna ve pediseller arasında "**Yarık diyafram**" denilen bir yüzey alanı bulunur (Şekil 2). Yarık diyafram:

- Komşu pedisellerin sitoplazmik membranları,
- İki pedisel arasında köprü gibi uzanan çok ince, ekstrasellüler matriksten oluşan, yarık diyafram denilen bir membran
- Pedisellerin sitoplazmalarını içerir.

Yarık diyaframın normal yapısının korunması, özellikle süzme işlevinin sürdürülmesinde önemli rol oynayan başlıca moleküller; Nefrin, Neph1, Neph2, FAT1, P-Cadherin'dir (2).

Şekil 2.Yarık Diyafram(8)



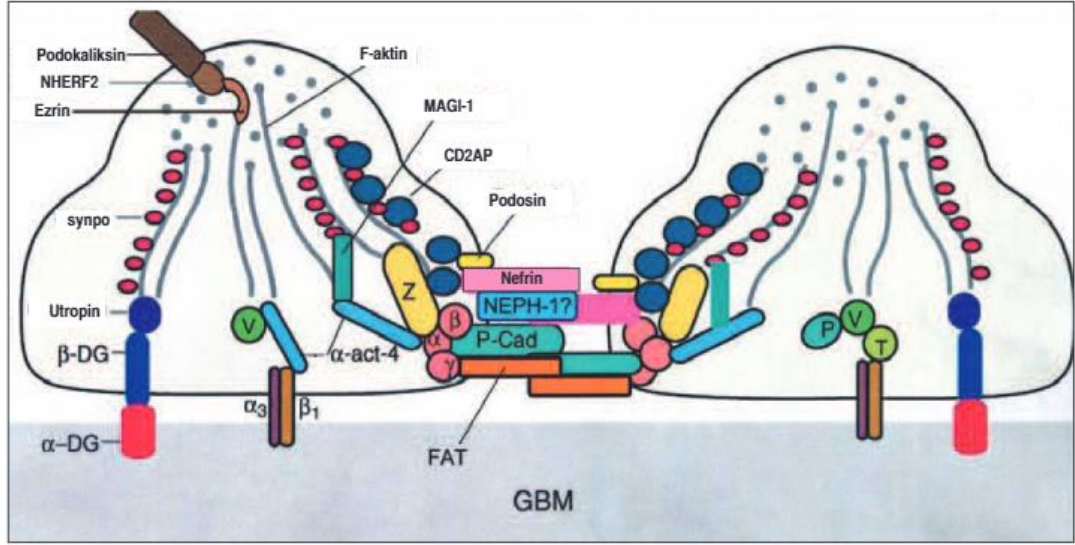
A: Mezengial açılar(oklar) hem perikapiller alana sapar hem de mezengiumu örter. **B:** Filtrasyon bariyeri, glomerül duvarının çevrelesel kısmı açık gözenekler(ok başları) sahip endotel. GBM'yı ve birbirine kenetlenen ayaklı çıkıntıları içerir. Çıkıntılar ince diyaframlar(oklar) ile köprülenen filtrasyon yarıkları ile ayrılır(Transmigasyon elektron mikroskopisi[TEM]; büyütme: A:X8770, B:X50,440)

Nefrin: Yarık diyaframının ana yapısal proteindir. NPHS1 geninde kodlanır. Sinyalizasyonda önemli işlev görür. Immünglobulin(Ig) süper ailesinin bir üyesidir. Böbrek dışı bazı organlarda da eksprese edilir (Şekil 3) (2).

Podosin: Band 7 stomatin ailesi üyesidir. Ekspresyonu böbrekle sınırlıdır. Nefrin, Nephl ve CD2AP ile karşılıklı etkileşim içindedir. Sinyalizasyonda görev alır (Şekil 3) (2).

CD2 Associated Protein (CD2AP): Hücre içi adaptör bir proteindir. Böbrekte podosit, proksimal, distal ve toplayıcı tübüllerde eksprese edilir. Nefrinin sitoplazmik kuyruğuna bağlanarak nefrin ile aktin arasındaki köprü işlevi görür (Şekil 3) (2).

Şekil 3. Podosit ayaksa çıkıntılarının moleküler yapısı (9)



Bu şekil, yarık diyafram kompleksi ile iki bitişik podosit ayaksa çıkıntısını göstermektedir. NEPH-1'in yarık diyaframda lokalizasyonu ve nefrin ile etkileşimi henüz bildirilmemiştir. Aktin hücre iskeleti ortak podositteki aşağı akış yoludur. Podosite üç alandan girer; apikal alan, yarık diyaframın lateralinden ve podositi GBM bağlayan podosit ayaksa çıkıntılarının tabanından girer. Üç alandan herhangi birinde etkilenme sonucunda podositlerin ayaksa çıkıntılarında silinme ve proteinüri/nefrotik sendroma neden olacaktır. α -act-4, α -aktinin-4; $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$ integrin; α -DG, α -dystroglikan; β -DG, β -dystroglikan; NHERF2, $Na^{(+)} / H^{(+)}$ değiştirici düzenleme faktörü 2; P, paxillin; P-cad, P-kaderin; synpo, synaptopodin; T, talin; V, vinculin

Neph1: Transmembran bir proteindir. Böbrekte podosit-yarık diyafram alanına sınırlıdır. Hücre içi bölgesi podosin ve ZO-1 ile, hücre dışı bölgesi nefrin ile ilişki halindedir (Şekil 3) (2).

Neph2: Bir homodimerdir. Nefrin ile heterodimer oluşturur (2).

Alfa-aktinin: Sinaptopodein ile bağlantı kurarak, diferansiyasyonu tamamlanmış podosit yapısında yer alır. Aktin fibrinleri podosit iskeletinin korunmasında ve sinyalizasyon kaskadının sürdürülmesinde rol oynar (Şekil 3) (2).

2.2.2.Tübüller

Her bir böbreğin tübül sistemi üç ana bölüme ayrılır; proksimal tübül, henle kulbu ve distal tübüldür. Tübül sistemi bağlayıcı tübül ve toplayıcı kanal sistemi sonrasında üriner sisteme bağlanır (2).

2.3.Böbrek Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

KBH eGFH'ye göre evrelendirilir. GFH için normal seviye, erkekler için yaklaşık 130 ml/dak/1.73m² ve kadınlar için 120 ml/dak/1.73m²'dir. GFH, 40 yaşından sonra yılda yaklaşık 0.75 ml/dak olarak azalır. GFH'daki azalma, nefron sayısından veya tek nefronun fizyolojik veya hemodinamik değişikliklerinden kaynaklanabilir (10).

2.3.1.Ekzojen Filtrasyon Belirteçleri

İnülin, ideal bir filtrasyon markeri olarak tanımlanan ilk maddedir ve filtrasyon ölçümünde altın standart kabul edilir. Alternatif ekzojen maddeler arasında tespit kolaylığı için sıklıkla radyoizotoplara şelatlı olan iothalamat, ioheksol, etilendiamintetraasetik asit ve dietilentriaminpentaasetik asit bulunur (10).

2.3.2.Endojen Filtrasyon Belirteçleri

Endojen filtrasyon markerları, vücutta nispeten sabit bir oranda üretilen ve büyük ölçüde glomerüler filtrasyona uğrayan maddelerdir. Kreatinin, klinik uygulamada en sık kullanılan endojen filtrasyon belirtecidir (10).

2.3.3.Kreatin

Kreatinin, 113 günlük kas katabolizması ürünüdür. Kreatinin avantajları; ölçüm kolaylığı, düşük maliyeti ve yaygın kullanılabilirliğidir. Dezavantajları, belirli bir serum kreatinin seviyesi için geniş bir GFH aralığına karşılık gelmesidir. Kreatinin üretimi; yaş, cinsiyet, ırk ve vücut büyüklüğünden tahmin edilebilecek kas kütlesi ile orantılıdır. Kreatinin kastaki fosfokreatinin yanı sıra diyetle et alımı veya kreatin takviyelerinin metabolizma ile de elde edilebilir. Normal fizyolojik koşullarda dolaşıma sabit bir oranda salınır. Proteine bağlı değildir, glomerül boyunca serbestçe süzülür ve tübüller tarafından salgılanır. GFH, Cockcroft-Gault, Modification of Diet in Renal Diseases Study (MDRD) ve Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) formüllerine göre hesaplanabilir (Şekil 4) (10).

Şekil 4. Glomerüler Filtrasyon Hızını Hesaplama Formülleri (10)

FORMÜL ADI	FORMÜL
Cockcroft-Gault formülü	<u>Erkek Kreatin Klirens(CrCl):</u> $(140 - \text{yaş}) \times \text{ağırlık(kg)} / 72 \times \text{serum kreatinin(mg/dl)}$ <u>KadınCrCl:</u> $(140 - \text{yaş}) \times \text{ağırlık(kg)} \times 0.85 / 72 \times \text{serum kreatinin(mg/dl)}$
Modification of Diet in Renal Diseases Study (MDRD)	<u>Glomerüler Filtrasyon Hızı(ml/dk/1.73m²)</u> = $186 \times (\text{Scr})^{-1.154} \times (\text{Yaş})^{-0.203}$ (eğer kadınsa) $\times 0.742$ (eğer siyahsa) $\times 1.212$
Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI)	<u>Kadın Scr: ≤ 0.7 mg/dL (≤ 62 $\mu\text{mol/L}$):</u> $144 \times (\text{Scr}/0.7)^{-0.329} \times 0.993^{\text{Yaş}}$ [eğer siyah ırk ise $\times 1.159$] <u>Kadın Scr > 0.7 mg/dL (> 62 $\mu\text{mol/L}$):</u> $144 \times (\text{Scr}/0.7)^{-1.209} \times 0.993^{\text{Yaş}}$ [eğer siyah ırk ise $\times 1.159$] <u>Erkek Scr ≤ 0.9 mg/dL (≤ 80 $\mu\text{mol/L}$):</u> $141 \times (\text{Scr}/0.9)^{-0.411} \times 0.993^{\text{Yaş}}$ [eğer siyah ırk ise $\times 1.159$] <u>Erkek Scr > 0.9 mg/dL (> 80 $\mu\text{mol/L}$):</u> $141 \times (\text{Scr}/0.9)^{-1.209} \times 0.993^{\text{Yaş}}$ [eğer siyah ırk ise $\times 1.159$]

CrCl: Kreatin klirens, SCr: Serum kreatin düzeyi

2.4.Kronik Böbrek Yetmezliği

2.4.1 Tanımı

National Kidney Foundation (NKF) kılavuzu böbrek hasarının başlangıç evresinden itibaren hastalığın tüm evrelerini tanımlayabilmek amacıyla KBH ifadesinin kullanılmasını önermektedir (11). KBH, nedene bakılmaksızın 3 ay veya daha uzun süre devam eden böbrek hasarı veya eGFH'nin 90 ml/dak/1,73 m²'nin altında olması olarak tanımlar. KBH tanısı koymak için Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) kılavuzundan yararlanılmaktadır. Hasarın göstergeleri; albüminüri (>30 mg/24saat), idrar sediment bozuklukları, elektrolit ve asit-baz bozuklukları, biyopsi ile saptanan histolojik bozukluklar, radyolojik olarak saptanan böbrek parankim hasarı ve renal transplantasyon öyküsü olarak belirlenmiştir (1). KBH çeşitli hastalıklara bağlı olarak gelişen kronik, progresif ve irreversibl nefron kaybı ile karakterize nefrolojik bir durumdur (11).

2.4.2 Evreleme

KDIGO 2012'de KBH; GFH'a, KBH sebebine ve albüminüriye göre 3 ayrı başlıkta sınıflandırılmıştır. GFH'ye göre sınıflamada Tablo 1'de verilmiştir (1).

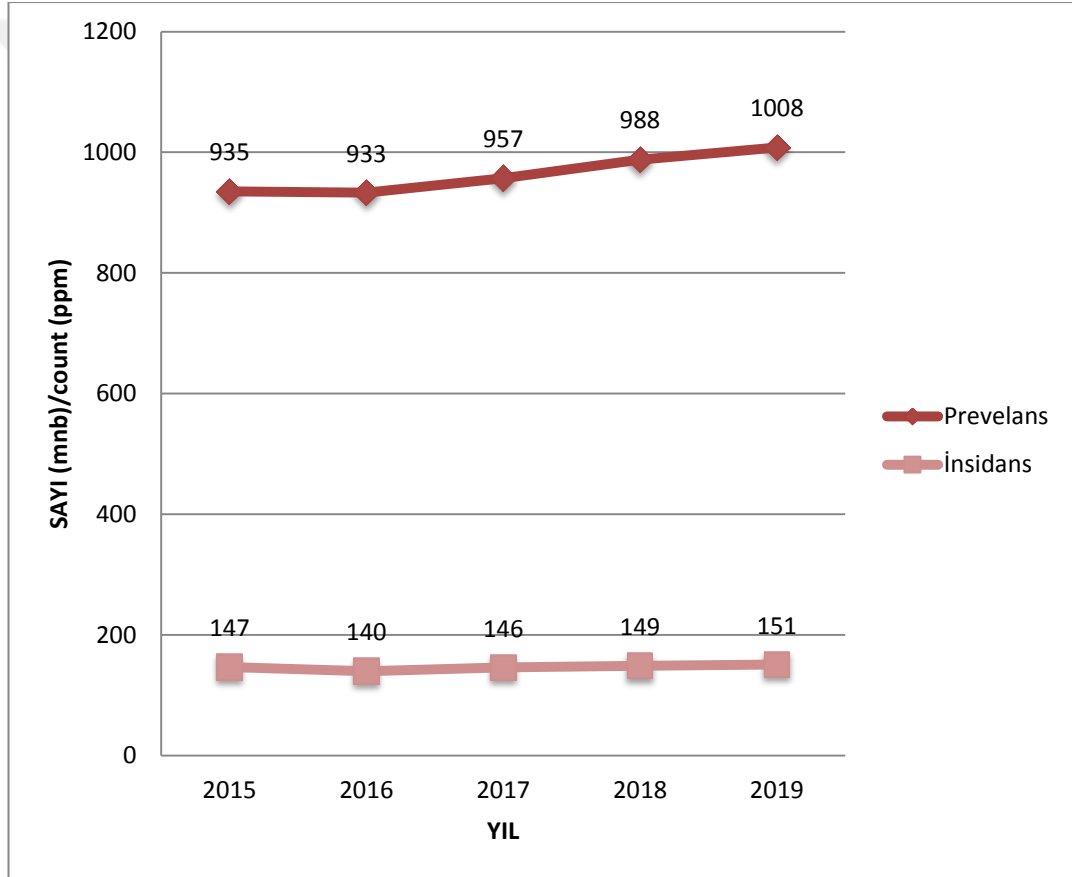
Tablo 1.GFH'ye göre sınıflama (1)

GFH	GFH(ml/dk/1.73m ²)	İsimlendirme
Evre 1	≥90	Normal ya da yüksek
Evre 2	60-89	Hafif azalmış
Evre 3a	45-59	Hafif-orta derecede azalmış
Evre 3b	30-44	Orta-ağır derecede azalmış
Evre 4	15-29	Ağır derecede azalmış
Evre 5	<15	Böbrek yetmezliği

2.4.3.Epidemiyoloji ve İnsidansı

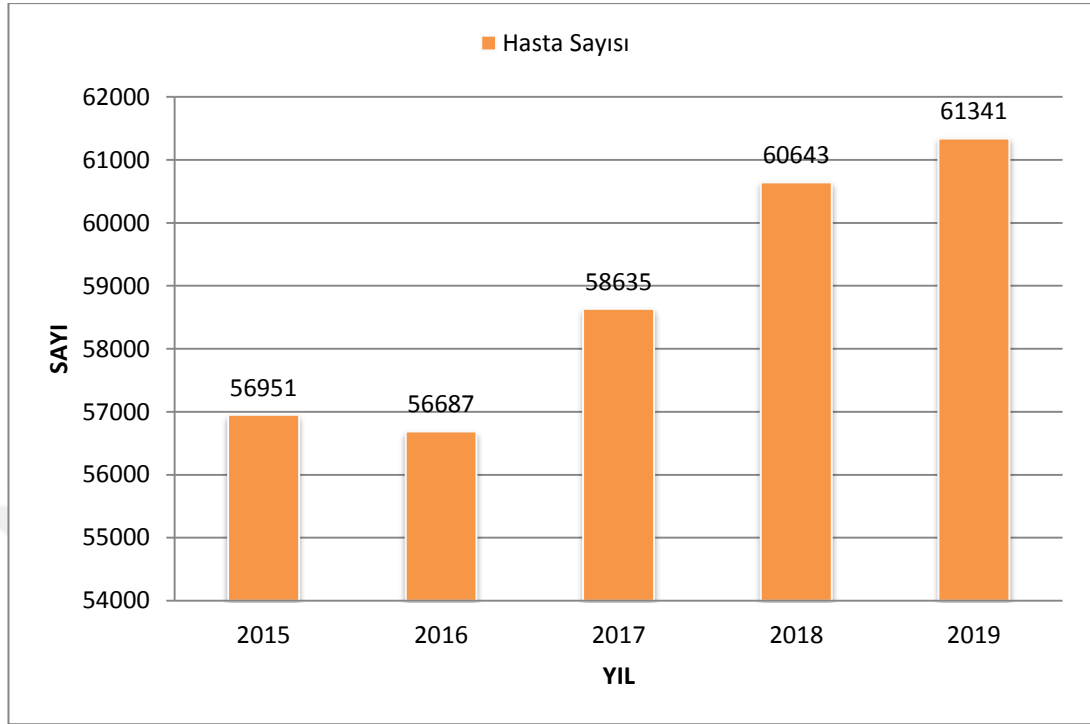
KBH, dünyada ve ülkemizde oldukça sık görülen, yaygın bir halk sağlığı problemidir. Türkiye’de prevelans ve insidansı gittikçe artmaktadır (Tablo 2). Türk Nefroloji Derneği’nin REGISTRY-2019’daki verilerine göre hemodiyalize yeni başlayan hasta sayısı 9.630, toplam prevelan hasta sayısı 83.783’dür (Tablo 3). 2019 yılı sonu itibariyle renal replasman tedavisi (RRT) tedavisi alan hastaların %57.32 erkek, %42.68 kadındır (12).

Tablo 2.Türkiye RRT gören hastaların insidansı ve prevelansı (12)



mnb: Milyon nüfus başına

Tablo 3. Türkiye'deki Hemodiyalize Giren Hasta Sayısı (12)



2.4.4.Etyoloji

KBH gelişimi için birçok risk faktörü mevcuttur. Risk faktörleri Tablo 4'te özetlenmiştir (13). Risk faktörleri, ülkeden ülkeye, ırka ve cinsiyete bağlı olarak değişim gösterir. Geçmişte KBH'nin en sık sebebi glomerülonefritken, günümüzde diyabetik ve hipertansif nefropatiler ön plana geçmiştir. Bu değişikliğin nedeni glomerülonefritlerden korunma ve tedavilerinin etkin bir şekilde yapılması, diyabetli ve hipertansiyonlu hastalarda mortalitenin progresif olarak azalmış olmasıdır. Hem ülkemizde hem de Avrupa ve Amerika'da KBH'nin en sık iki nedeni diyabetes mellitus (DM) ve hipertansiyondur (HT) (Tablo 5) (12).

Tablo 4.Kronik böbrek hastalığında risk faktörleri (13)

Yaş (Yaşlı)	Albüminüri
İrk veya etnik köken (Kafkas olmayan)	Obezite veya metabolik sendrom
Genetik	Dislipidemi
Doğum ağırlığı (Düşük)	Hiperürisemi
Sistemik hipertansiyon	Sigara
Diyabetes Mellitus	Düşük sosyal statü
Kardiyovasküler hastalık	Nefrotoksin maruziyeti: steroid olmayan antienflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler), analjezikler, geleneksel bitkisel kullanım, ağır metaller(kurşun gibi)

Tablo 5.2019 yılı içinde ilk RRT olarak HD'e başlayan insidan hastaların SDBY etyolojisine göre dağılımı (12)

	n	%
<i>Diabetes mellitus</i>	505	39
<i>*Tip 1</i>	50	3.86
<i>*Tip 2</i>	455	35.14
<i>Hipertansiyon</i>	313	24.17
<i>Glomerülonefrit</i>	74	5.71
<i>Polikistik böbrek hastalıkları</i>	39	3.01
<i>Amiloidoz</i>	22	1.70
<i>Tübülointerstisyel nefrit</i>	18	1.39
<i>Obstrüktif nefropati</i>	14	1.08
<i>Renal vasküler hastalık</i>	7	0.54
<i>Diğer</i>	119	9.19
<i>Etyolojisi bilinmeyen</i>	184	14.21
<i>Toplam</i>	1.295	100.00

2.4.5.Patofizyoloji

KBH uygulanan tedaviler progresyonu yavaşlatmayı ve komplikasyonları en aza indirmeyi amaçlar. Patofizyolojisinin daha iyi aydınlatılmasıyla, renal skar ve fibrozisin düzeltilmesine dayanan tedavi seçenekleri gündeme gelmiştir (13).

Renal hasarlanma mekanizmalarını, glomerüler ve tübülointerstisyel hasarlanma olarak iki alt grupta inceleyebiliriz (2).

2.4.5.1.Glomerüler Hasarlanma

Glomerüler hasarlanmayı yapısal bozukluklar, hücresel bağışıklık, immüno kompleksler, atübüler glomerüller, immün sistem etkinlikleri ve podositler olarak gruplayabiliriz.

1)Yapısal bozukluklar, böbrekte glomerüler filtrasyon bariyerini oluşturan bileşenlerin yapısal olarak bozulması glomerüler filtrasyonda değişikliklere yol açar. Yarık diyafram veya bazal membranda yapısal defektler sonucu proteinüri ve/veya hematüri görülmesi yapısal bozukluklara örnektir.

2)İmmüno kompleksler, glomerülde üç şekilde çökebilir; dolaşımdaki immüno kompleksler, in situ, çökelen antijenler.

-İn situ: Glomerüldeki bir komponente karşı antikorların glomerüle yerleşmesiyle oluşur.

-Dolaşımdaki immüno kompleksler: Dolaşımdaki immüno komplekslerin glomerülde birikmesidir. Çok katyonik ve anyonik olan immüno kompleksler subepitelyal alana, nötr olan immüno kompleksler mezengiumda birikmeye eğilimlidirler.

-Çökelen antijenler: Dışarıdan gelen bakteri, DNA ve virüs parçaları, bunlara karşı oluşan antikorlar ile birlikte glomerül bazal membranına ya da mezengiuma çökerler.

3)Hücresel bağışıklık, duyarlanmış T hücrelerinin glomerüler hasarlanmayla ilişkisini gösteren deneysel çalışmalar mevcuttur.

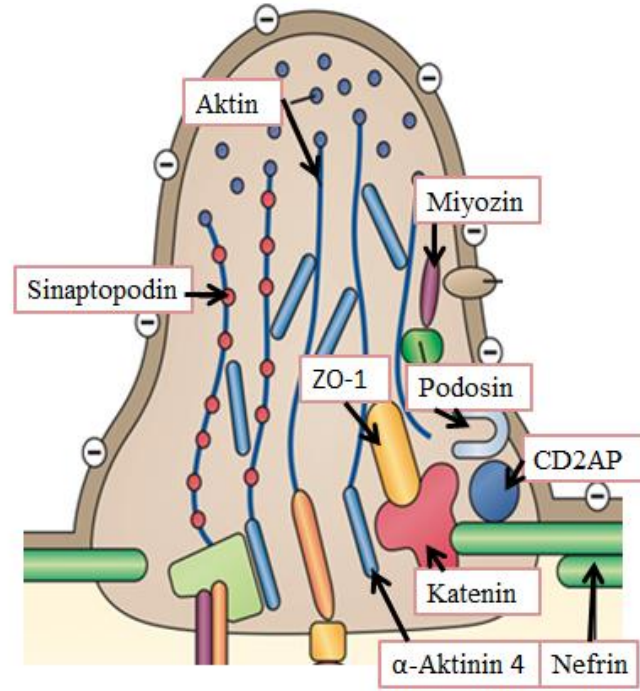
4)İmmün sistem etkileri; glomerüldeki immüno kompleks ya da duyarlanmış T hücrelerinin çağırdıkları lökosit, monosit, makrofaj, trombosit ve mezengial

hücreler, birçok biyolojik aktif molekül salgılar. Bu moleküllerden biri olan TGF- β bağ dokusunda glomerüloskleroz gelişiminde önemlidir. . Fibrin, Bowman boşluğuna geçerek paryetal hücreleri ile birlikte yarım ay şeklinde bir yapı oluşur. Glomerüllerdeki ekstrasellüler matriks artışı, mezengial hücrelerde artış ile kontrol altına alınmaya çalışılacaktır. İmmünkomplekslerin ve diğer maddelerin ortadan kaldırılmasında mezengial hücreler rol oynamaktadır. Matriksin iyileşme çabası segmental ve global sklerozu doğurabilir.

5)Atübüler glomerüller; glomerüllerin tübül kutubunun bağ dokusu ile kaplanması sonucu tübül ile irtibatın kesildiği glomerüllerdir. Fonksiyonel nefron olarak görev yapmayan, idrar süzmenin durduğu ve sadece kan akımına izin veren bir olarak izlenirler.

6)Podositler (visseral glomerüler epitel), glomerüldeki visseral epitel hücreleridir. İskeminin podositlerdeki etkisi, pedisellerde silinmeye sebep olur. Erken yarık diyafram kaybı, junction proteinleri arasında bulunan Neph1 ve ZO-1 proteinlerinin ilişkisinin kaybıyla ortaya çıkar (Şekil 5). Her iki durumda da pediseller silinir, vakuolizasyon gibi reversible değişikliklerle beraber epitel hücreler bazal membrandan ayrılır ve protein kaçıışı meydana gelir. İrrversible hasarı gören podositler çoğalarak yenilenemeyecektir. Podositlerde kısıtlı DNA sentezi ile bir miktar onarım görülebilir. Eğer bu işlemi gerçekleştiremiyorlarsa canlı podositler kendilerini zorlayarak birbirine doğru ilerleyip boşluğu doldurmaya çalışırlar. Bu mümkün değilse, çıplak bazal membran alanları ortaya çıkacaktır ve Bowman kapsülünde yapışıklıklar meydana gelecektir. Sonuç olarak önce fokal segmental skleroz sonra da global skleroz gelişecektir (Şekil 6) (2).

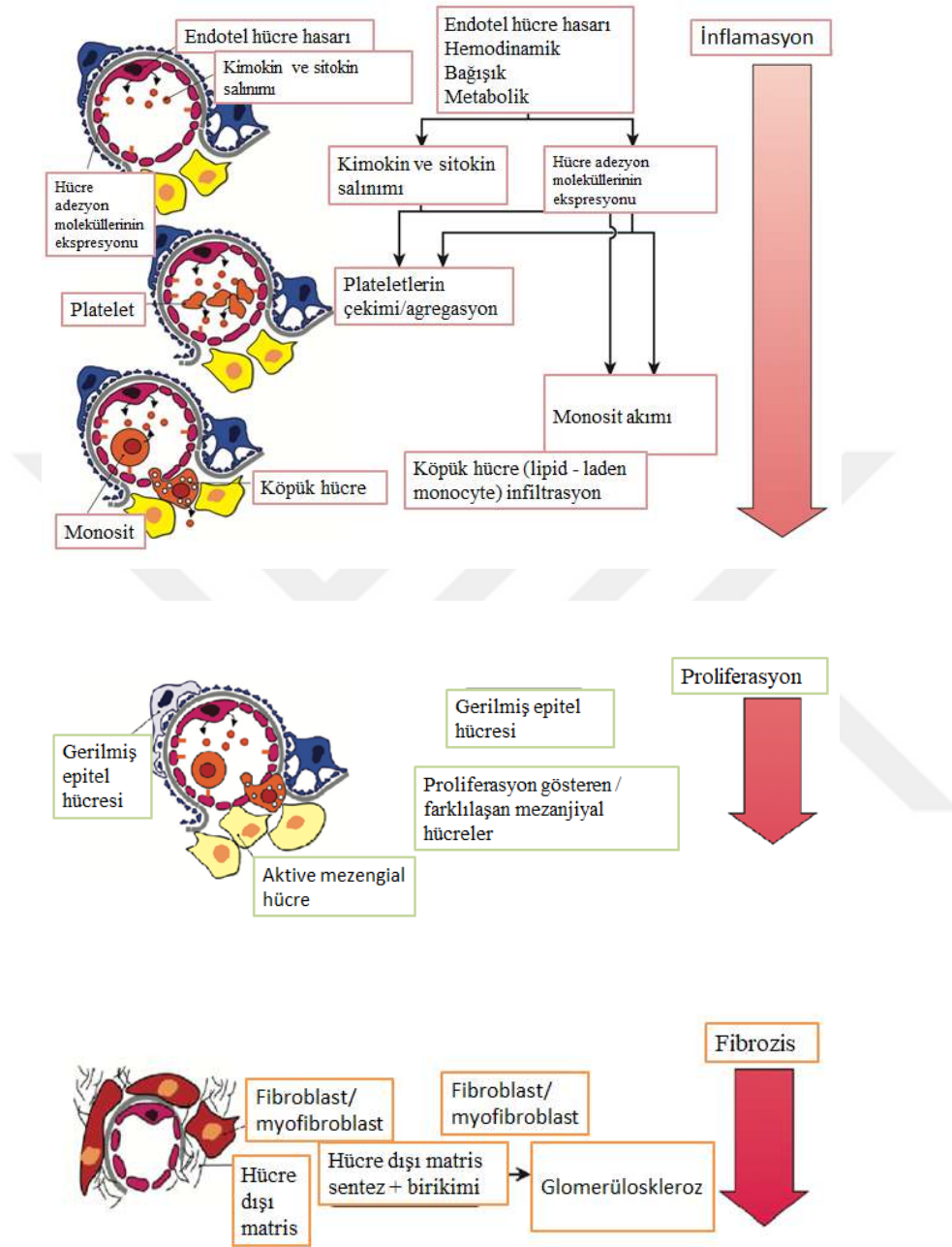
Şekil 5.Podosit ve GBM Bağlantısı (8)



Yarık diyafram kaybı, junction proteinleri arasında bulunan Neph1 ve ZO-1 protein ilişkisi kaybı ile ortaya çıkar. Podositlerde reversible olarak epitel hücreleri bazal membrandan ayrılır ve protein kaçısına neden olur.

Bazı deneysel veriler göstermektedir ki podositlerde %40'dan fazla kayıp olması sonucunda segmental skleroz ve progresif KBH gelişmektedir. Lupus nefriti gibi bazı sistemik hastalıklar, çoğu glomerülonefrit, diyabetik nefropati (DN) olmak üzere glomerüler hastalıkların progresif seyredenlerinde podositin bir hedef hücre olduğunu gösteren açık kanıtlar mevcuttur (13).

Şekil 6.Glomerüloskleroz basamakları (13)



İnflamasyon; glomerülde hemodinamik, immün sistem veya metabolik sebeplerden dolayı endotel hasarı gelişir. Ardında sitokin, kemokin salınımı ve hücre adezyon moleküllerinin salınımı artar. Sonuç olarak trombosit agregasyonu, monosit akımı ve köpük hücreleri oluşumu gerçekleşir.

Proliferasyon; epitel hücreleri gerilir, mezengial hücreleri ise farklılaşır ve proliferasyon olurlar

Fibrozis; fibroblastlar ve myofibroblastlar oluşur. Hücre dışı matris sentez birikimi olur ve sonuç olarak glomerüloskleroz gelişir.

2.4.5.2.Tübüler Hasarlanma

Tübüler hücrelerin hasar görmesi sonucu rejenerasyon ve onarım ile hasar giderilmeye çalışılır. Akut olaydan sonra, tübüler hücrelerin bir kısmı nekroz veya apoptoz yoluyla ölürler. Kalan hücreler, sitoplazmik α -Smooth Muscle Actin (α SMA) ve stres liflerini üreterek, asellüler tübüllerin çoğalmasına, göç etmesine neden olarak tübüler bütünlüğü sağlamaya ve böbrek fonksiyonunu iyileştirmeye çalışırlar (13).

Tübüler hasarlanma, 2 kısımda incelenebilir; büyük tıkaçlarla oluşan luminal tıkanma ve filtre edilen makromoleküllerin tübüller üzerine etkisi.

1)Büyük tıkaçlarla oluşan luminal tıkanma, glomerülde yapışıklık sonucu tübülün tıkanması ve bunun sonucunda atübüler glomerül gelişmesidir.

2)Filtre edilen makromoleküllerin tübüller üzerine etkisi, proteinüri ve hematüri olarak ortaya çıkar. Glomerüler filtrasyon bariyerinde problem olması sonucu albüminüri ortaya çıkar. Proteinüri ilişkisini incelersek; glomerüle filtrata geçen albümin, proksimal tübülden geri emilip dolaşıma verilir ve küçük bir kısmı lizozomal olarak yıkılır. Normal miktardan fazla albüminin proksimal tübüle geçmesi toksik etki yapar. Toksik etkiye maruz kalan tübül epitel hücreleri aktifleşip sekresyon yaparlar; adezyon molekülleri, fibrozise destek veren TGF- β gibi büyüme faktörleri ve sitokin salgırlar. Bu maddeler inflamasyonu tetikler, hasarlanma ve interstisyel fibrozise sebep olur. Ayrıca artan TGF- β reseptörleri ile tübül epitel hücreleri, TGF- β 'nın hedef hücresi haline gelirler. İnflamasyona sebep olan mekanizmalardan bir diğeri de, proteine maruz kalan proksimal tübül hücrelerinde, NF- κ B bağımlı yolağın aktifleştirdiği kemokinlerdir. Kemokinler tübülün bazolateralinden sekrete edilir ve inflamasyonu tetikler. İnflamasyonda monositlerin böbrek hasarlanmasında önemli rolü vardır. Monositler özellikle diyabetiklerde MCP-1 ile aktifleşir, aktive makrofajlara dönüşür. Aktive makrofajlar, salgıladıkları reaktif oksijen radikalleri ve pro-inflamatuar sitokinlerle parankim hücrelerinde hasar, apoptoz ve nekroz oluşturlar (2).

Miyofibroblastlar, interstisyel fibrozun asıl elemanlarıdır ve α SMA yanı sıra, vimentin ve Fibroblast Specifik Protein 1 (FSP1) dahil olmak üzere diğeri fibroblastik

markerları da eksprese ederler. Myofibroblastlar; tübül epitel hücreleri, kemik iliği hücreleri, endotel hücreleri ve lokal intersitisyel fibroblastlardan türetilirler. İntersitisyel fibroblastlar büyüme faktörleri, TGF- β 1 gibi sitokinlerle uyarılır ve myofibroblast havuzunu oluşturur (13).

2.4.6.Klinik Bulgular

KBH komplikasyonlarından hipertansiyon hariç olmak üzere, evre 1 ve evre 2 KBH genellikle klinik bulgu vermez. GFH 60'ın altına ve özellikle 30ml/dak/1.73 m²'nin altına düştüğünde komplikasyonlar aşamalı olarak görülür (14). Bu bulgular Tablo 6'te kısaca özetlenmiştir (15).

Tablo 6.Kronik Böbrek Hastalığının Klinik Özellikleri (15)

SIVI-ELEKTROLİT BOZUKLUKLARI	Hipovolemi, hipervolemi, hipernatremi, hiponatremi, hipoglisemi, hiperpotasemi, hipopotasemi, hiperfosfatemi, metabolik asidoz, hipermagnezemi
SİNİR SİSTEMİ	Stupor, koma, konuşma bozuklukları, uyku bozuklukları, demans, konvülsiyon, polinöropati, baş ağrısı, sersemlik, irritabilite, kramp, konsantrasyon bozuklukları, yorgunluk, meningism, huzursuz bacak sendromu, tik, tremor, myoklonus, ter fonksiyonlarında bozulma, ruhsal bozukluklar
GASTROİNTESTİNAL SİSTEM	Hiçkırık, parotit, gastrit, iştahsızlık, stomatit, pankreatit, ülser, bulantı, kusma, gastrointestinal kanama, kronik hepatit, motilite bozuklukları, özafajit (kandida, herpes...), intestinal obstruksiyon, perforasyon, asit
HEMATOLOJİ-İMMÜNOLOJİ	Normokrom normositer anemi, eritrosit fragilitesinde artış, kanama, lenfopeni, infeksiyonlara yatkınlık, immün hastalıkların yatışması, kanser, mikrositer anemi (alüminyuma bağlı), aşıyla sağlanan immünitede azalma, tüberkülin gibi tanılal testlerde bozulma
KARDİOVASKÜLER SİSTEM	Perikardit, ödem, hipertansiyon, kardiyomyopati, hızlanmış ateroskleroz, aritmi, kapak hastalığı
PULMONER SİSTEM	Plevral sıvı, üremik akciğer, pulmoner ödem
CİLT	Kaşınıtı, gecikmiş yara iyileşmesi, solukluk, tırnak atrofisi, hiperpigmentasyon, üremik döküntü, ülserasyon, nekroz
METABOLİK-ENDOKRİN SİSTEM	Glukoz intoleransı, hiperlipidemi, hiperparatiroidi, büyüme geriliği, hipogonadizm, impotans, libido azalması, hiperürisemi, malnütrisyon, hiperprolaktinemi
KEMİK	Üremik kemik hastalığı, hiperparatiroidi, amiloidoz, D vitamini metabolizması bozuklukları, artrit
DİĞER	Susuzluk, kilo kaybı, hipotermi, üremik ağız kokusu, miyopati, yumuşak doku kalsifikasyonu, akkiz renal kistik hastalık, karpal tünel sendromu, noktüri

2.4.7.Tedavi

KBH hastalarının tedavi prensipleri içinde medikal yaklaşım olarak diyaliz tedavisinden önce diyet ve ilaç tedavileri önemli yer tutmaktadır. Asit baz bozuklukları, kalsiyum, fosfor ve elektrolit dengesizliklerinin kontrolü, hastaların sıvı dengesinin sağlanması için diüretik tedaviler ve anti-hipertansif tedaviler ihtiyaca göre hastalara uygulanmaktadır. Medikal tedavi ile kontrol altına alınmayan komplikasyonlar ortaya çıktığında RRT planlanır (16). RRT üç şekilde yapılabilmektedir; periton diyalizi, hemodiyaliz ve böbrek transplantasyonu. 2019 yılındaki Türkiye RRT tedavisi prevalansı tablo 7’te gösterilmiştir (12).

Tablo 7.2019 yılında Türkiye’deki RRT prevalansı (12)

	N	%
<i>Periton Diyaliz</i>	3.292	3.93
<i>Hemodiyaliz</i>	61.341	73.1
<i>Transplantasyon</i>	19.150	22.86
<i>Toplam</i>	83.783	100

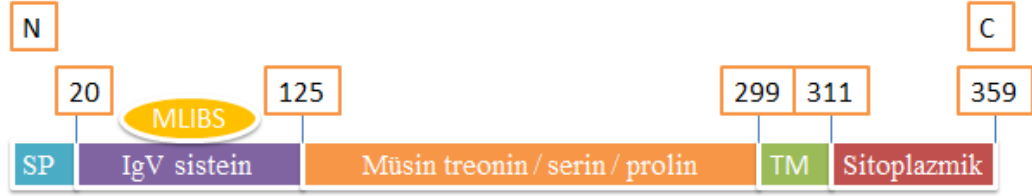
2.5.Böbrek Yetmezliği Tanısında Biyobelirteçler

2.5.1.Kidney İnjury Molekül-1(KIM-1)

2.5.1.1.KIM-1’in yapısı

İnsanda KIM-1 geni 5p33.3 kromozomunda bulunur ve 14 ekzon içerir. mRNA’nın uzunluğu 1095 bp’dir ve 39 kDa ağırlığında tip I membran glikoproteinini kodlamaktadır (17). IgV alanı, benzersiz bir metal iyonuna bağlı ligand bağlama alanına (MLIBS) sahiptir. MLIBS, apoptotik hücre zarının dış tabakasına maruz kalan fosfatidilserini tanıyabilir (18). Böylece, KIM-1 eksprese eden hücreler, hücre homeostazı ve bağışıklık yanıtı için önemli bir süreç olan apoptotik hücreleri içine alır ve ortadan kaldırır (19). Moleküler yapısı şekil 7’te gösterilmiştir.

Şekil 7.İnsan KIM-1 proteininin yapısı (20)



T / S / P: treonin / serin / prolin; TM:Transmembran

2.5.1.2.KIM-1 ve KBH arasındaki ilişki

KIM-1 kronik proksimal tübüler hasar için hassas bir biyobelirteçtir (21). İdrarda KIM-1 seviyesinin KBH insidansı ve prognozu ile yüksek düzeyde korelasyonu mevcuttur (22, 23). Aynı zamanda hipertansiyon ile ilişkili KBH için de KIM-1 etkili bir biyobelirteçtir (20). İleri evre KBH'da KIM-1, son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) ilerleme için bağımsız bir risk faktörüdür (3).

KIM-1 farklı hastalıklarda, çeşitli fizyolojik ve patolojik fonksiyonlara sahiptir. KBH'da KIM-1'in üç adet etki mekanizması mevcuttur; fibrozis, inflamasyon ve apoptozis (24). Hayvan deneylerinde tek taraflı üreteryal obstrüksiyonun, böbrek tübüllerinde sürekli KIM-1 ekspresyonunu ve MCP-1 salgılanmasını artırdığı gösterilmiştir. Sonucunda makrofaj kemotaksisini ve fibrozis oluşumunu arttığı gözlenmiştir (25). Kronik hipoksiye maruziyette, proksimal tübül epitel hücrelerinde KIM-1 ekspresyonu artmıştır. Bu durum mononükleer makrofajların aktivasyonunu tetikler ve böbrek tübülleri ile interstisyel alanda inflamasyon oluşur (26). Epitel hücreleri yüksek glikoza maruz kaldığında, KIM-1 ve LC3II (mikrotübülle ilişkili protein 1 hafif zincir 3 alfa, otofajinin bir belirteci) ekspresyonu artar. Glukoz yüksekliğinde otofaji ve apoptoz meydana gelir. KIM-1'in inhibisyonu, glukozla bağlı LC3II'ün, otofajinin ve apoptozun inhibisyonuna neden olur (27).

DN'nin erken evresinde, glomerüllerde özellikle kapsülün proliferasyona uğrayabilen paryetal epitelinde KIM-1 ekspresyonu önemli ölçüde yükselir. KIM-1

ekspresyonu hastalığın gelişimi ile birlikte artar ve podosit sayısının azalması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (28).

2.5.2.Matriks Metalloproteinaz (MMP)

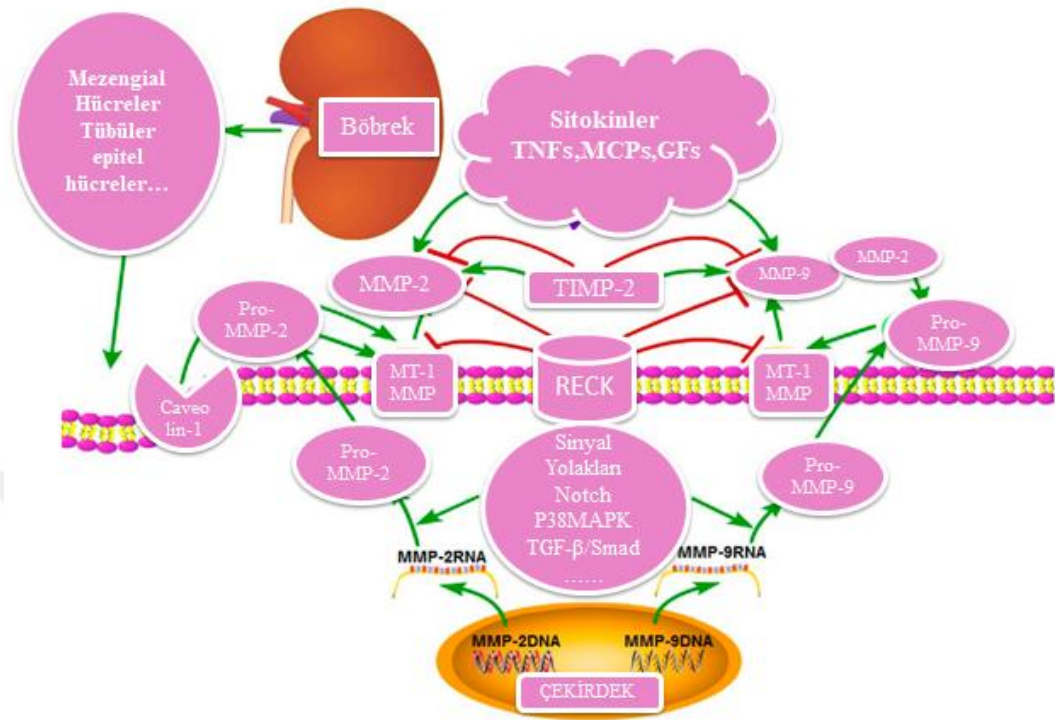
2.5.2.1.MMP yapısı

MMP'ler, çinkoya bağımlı endopeptidaz familyasına aittir. İnsanda 28 çeşit MMP keşfedilmiştir. Yapısal ve substrat spesifitesine göre MMP'ler, kolajenazlar, jelatinazlar, stromelisin, matrilisin, membran tipi ve diğer MMP'ler olarak ayrılabilir (29). Jelatinazlar esas olarak MMP-2 ve MMP-9'u içerir. Yapısı, peptit zincirlerine, sitoplazmaya ve endoplazmik retikuluma aracılık eden sinyal peptit bölgesini içerir (30). Propeptid bölgesi jelatinazları aktif olmayan bir biçimde tutar. Yapısında her birini bir menteşe gibi birbirine bağlayan katalitik bölge ve hemopeksin bölgesi (PEX) bulunur. PEX'in, MMP-2 ve 9'un substrat özgüllüğünün düzenlenmesinde ve lokalizasyonunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (31).

2.5.2.2.MMP aktivitesinin düzenlenmesi

Normal koşullar altında, renal mezangiyal hücreler, tübül epitel hücreleri gibi birçok yapı MMP-2 ve 9 üretebilir, ancak her zaman düşük bir seviyededir. Renal fibrozis sırasında, MMP-2 ve 9'un mRNA transkripsiyon seviyeleri, anormal aktivasyonu ve çoklu hücreler sinyal yollarının etkileşimleri nedeniyle hızlı bir şekilde hücre yüzeyine doğru upregüle edilir. Örneğin: böbrek fibrozisinin gelişimi için önemli olan TGF- β /Smad sinyal yolu aktive edildiğinde, MMP-2 ve 9 hücre yüzeyine upregüle edilir (32). P38MAPK ve Notch sinyal yolları da böbrek fibrozisi sürecinde çok önemlidir. Bazı çalışmalar, hücre içi sinyal yolları aktive olduklarında MMP-2 ve 9'un hücre yüzeyine upregüle edildiğini göstermektedir (Şekil 8) (33-35). Fibrozisin alevlenmesi ile renal tübül epitel hücrelerinde hipoksi görülür. Sonuç olarak hipoksi de MMP-2 ekspresyonuna ve hücre yüzeyine upregülasyonuna yol açabilir (36).

Şekil 8.MMP-2 ve 9 aktivitesinin ve ekspresyonunun düzenlenmesi (37)



MMP-2 ve 9'un aktivasyonunun ve ekspresyonunun düzenlenme mekanizmaları karmaşıktır. Notch, P38MAPK ve TGF- β /Smad gibi sinyal yolları, pro-MMP-2 ve pro-MMP-9 üretimini düzenlerler. TIMP-2 ve membran tipi 1 matris metalloproteinazın (MT1-MMP), pro-MMP-2 ve pro-MMP-9'un MMP-2 ve MMP-9'a aktivasyonunda önemli bir rol oynar. Ek olarak, MMP-2 pro-MMP-9'un MMP-9'a aktivasyonunu düzenler. Kazal motifli sistein ile indüklenen reversiyon(RECK), TIMP-2, endositoz ve sitokinler MMP-2 ve MMP-9'un aktivitesini düzenlemesinde önemli bir rol oynar.

2.5.2.3.MMP-2 ve MMP-9 ile KBH arasındaki ilişki

KBH'da MMP-2 ve MMP-9'un etkisi 4 başlık altında ele alınabilir.

- 1) MMP-2, 9 ve Tümör Nekroz Faktörleri (TNF) arasındaki etkileşimin KBH üzerine etkileri
- 2) MMP-2, 9 ve Monosit Kemotaktik Proteinlerin (MCP) arasındaki etkileşimin KBH üzerine etkileri
- 3) MMP-2, 9 ve Büyüme Faktörleri (GF) arasındaki etkileşimin KBH üzerine etkileri

4) MMP-2, 9 ve Oksidatif Stres (OS) arasındaki etkileşimin KBH üzerine etkileri

2.5.2.3.1.MMP-2, 9 ve Tümör Nekroz Faktörleri (TNF) arasındaki etkileşimin KBH üzerine etkileri

TNF- α ve TNF- β , KBH gelişiminde önemli bir rol oynar (38, 39). TNF- α 'nın, MMP-2 ve 9'un ekspresyonunu indüklediği, ayrıca pro-MMP-2'nin aktivasyonunu indüklediği ve böylece MMP-2'nin aktivitesini arttırdığı kanıtlanmıştır (40-42). Hem TNF- α hem de TNF- β pro-MMP-9'un aktivasyonuna sebep olur (43). Tüm bu çalışmalar TNF'lerin MMP'lerle etkileşime girdiğini, KBH'nin ilerlemesinde ve gelişmesinde önemli rol oynadığını göstermiştir (Şekil 9).

2.5.2.3.2.MMP-2, 9 ve Monosit Kemotaktik Proteinlerin (MCP) arasındaki etkileşimin KBH üzerine etkileri

MCP'ler ailesi kemokin CC alt familyasına aittir; beş alt tip içerir (MCP-1 ile MCP-5). MCP-1 ve MCP-3'ün renal interstisyel fibrozun patogeneğinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (44, 45). Yapılan çalışmalarda MCP-1'in MMP-9 ekspresyonunu stimüle ettiği ve MMP-2'nin aktivitesini artırdığını göstermiştir (46, 47). MMP-2'nin MCP-3'ün yapısının bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir. Yapısı bozulan MCP-3, inflamatuvar yanıtı ve mononükleer makrofajların infiltrasyonunu inhibe eden bir CC kemokin reseptör antagonisti haline dönüşür (48, 49). Vücutta MMP-2 eksikliği olduğunda metalloproteinaz/fosfolipaz A2 (SPLA2:Secretory Phospholipase A2) salgılanması artmaktadır. Bunun sonucunda SPLA2, inflamatuvar yanıtı arttıracaktır. SPLA2, böbrek hasarı ve KBH gelişiminde de önemli bir rol oynamaktadır (50, 51).

2.5.2.3.3.MMP-2, 9 ve Büyüme Faktörleri (GF) arasındaki etkileşimin KBH üzerine etkileri

GF'ler aşağıdakileri içeren geniş bir ailenin faktörüdür: Epidermal Büyüme Faktör (EGF), Fibroblast Büyüme Faktör (FGF), Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör (PDGF), TGF, Bağ Dokusu Büyüme Faktör (CTGF) vb.'dir. Her bir GF'lerin KBH'ye katkısı farklıdır (52, 53). Hepatosit Büyüme Faktör (HGF) gibi bazı GF'ler renal interstisyel fibrozis sürecini inhibe edebilir (54). Etki mekanizmasının MMP-2 ve 9'un artan ekspresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (55). MMP-9, TGF- β ekspresyonunu artırır ve renal interstisyel fibroz oluşumunu destekler (56). MMP-2 ise FGF üzerinden fibroz gelişimini destekler (57).

Bazı GF'ler fibrozisin ilerlemesine sebep olurken, bazıları da gelişimini engeller. MMP-2 ve 9'un böbrek fibrozisi sürecindeki rolü aslında GF'lerine benzerdir. MMP-2'nin KBH'nin erken evresinde aktivitesi artar ve glomerüler bazal membranda tip IV kollajeni bozabilir. Glomerüler filtrasyon membranını hasarlar. TGF- β 'nin hücre yüzeyine upregülasyonu, böbrek tübül epitelinin dönüşümüne sebep olur. Bunların hepsi fibrozis gelişimini desteklemektedir (58). İleri aşamada, MMP-2'nin yetersiz aktivitesi nedeniyle matris birikimi artmaktadır (37) (Şekil 9).

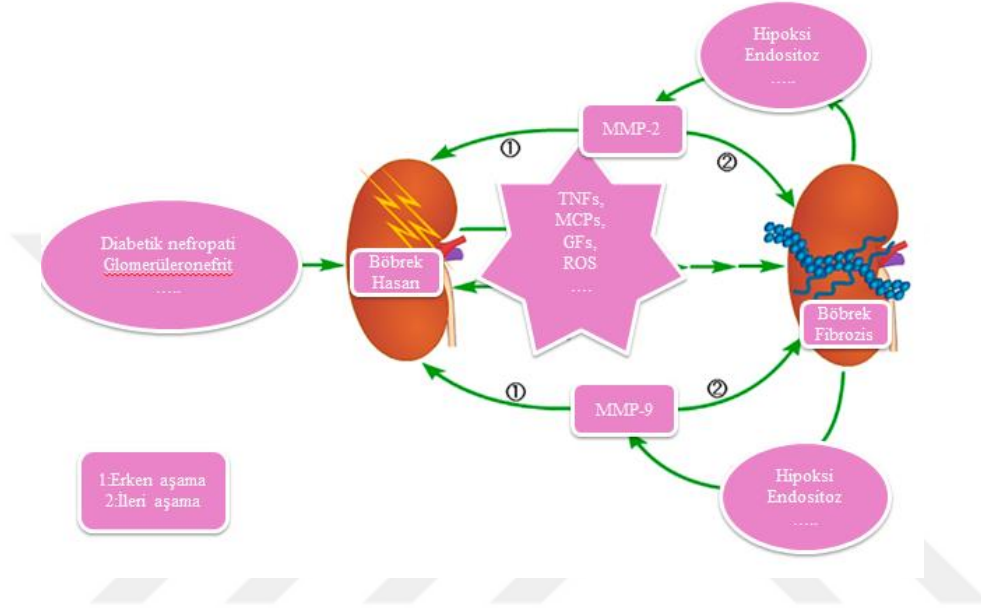
MMP-2 aktivitesinin ileri aşamadaki yetersizliğinin nedeni hala belirsizdir. Çalışmalarda böbrekte interstisyel fibrozisdeki MMP-9 aktivitesinin değişikliğinin MMP-2'ninkine benzer olduğu ve bunun nedenlerinin net olmadığı bulunmuştur; endositozun önemli bir rol oynayıp oynamadığı henüz aydınlatılamamıştır (59) (Şekil 9).

2.5.2.3.4.MMP-2, 9 ve Oksidatif Stres (OS) arasındaki etkileşimin KBH üzerine etkileri

KBH patogeneğinde OS'nin rolü önemlidir. OS çoğunlukla nötrofillerle ilişkilidir. KBH'nin progresyonu böbrek dokusunun dejenerasyonu ve nekrozu ile ilişkilidir. Nekrotik kalıntıları fagositize eden nötrofiller birikir. Nötrofiller tarafından fagositoz işlemi sırasında oksijen tüketimi artar. Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) ve Nikotinamid Adenin Dinükleotid (NADH)

oksidazın katalitik reaksiyonu altında oksijen moleküllerinin bir kısmı ekstra elektronu kabul edebilir. OS'yi indükleyen serbest oksijen radikallerine dönüşebilirler (60). Bu durum KBH'daki inflamatuvar hasarı daha da kötüleştirir (37).

Şekil 9.MMP-2 ve 9 Böbrek Fibrozis Etki Mekanizması (37)



KBH'nın erken evrelerinde, böbrek hasarlandığında, hasarlı hücreler çeşitli pro-inflamatuvar ve pro-fibrotik sitokinler salgılar ve renal fibrozis oluşumuna sebep olur. Bu arada MMP-2 ve 9'un aktivitesi artar ve GBM hasar görür. Böylelikle renal tübül epiteli hücrelerinin fenotipik dönüşümünü indükler ve hücre dışı matriks birikiminin şiddetlenmesine neden olur. KBH'nın ileri evrelerinde MMP-2 ve 9'un aktivitesi azalır ve hücre dışı matriksin rejenerasyonu bozulur. KBH'nın ileri evrelerinde MMP-2'nin aktivitesinin azalmasının nedeni hipoksinin neden olduğu endositozun artması ile ilgilidir. Ancak MMP-9'un KBH'daki aktivitesinin azalmasının nedeni ile ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

OS aktivitesi KBH'nın evrelerine göre farklılık gösterirken MMP-2 ve 9'u da aktive edebilir (61-64). KBH'nın progresyonu ile renal interstisyel fibrozisi daha da şiddetlenir. Bunun sonucunda oksijen difüzyonu daha da engellenir ve ciddi hipoksi görülür. Hipoksi OS'i daha da şiddetlendirir, böylece fibrozisin daha da alevlenmesine yol açan bir kısır döngü oluşturur (37) (Şekil 9).

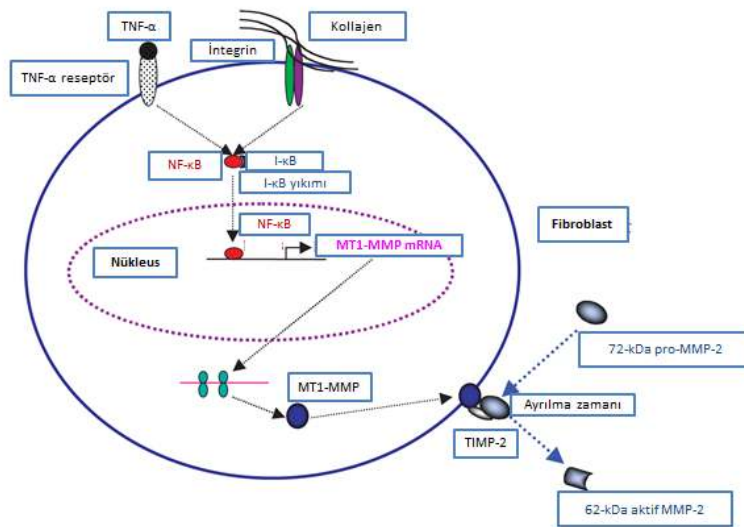
2.5.3. Metaloproteinazların Doku İnhibitörleri (TIMP)

2.5.3.1. TIMP Yapısı ve KBH ilişkisi

Dört TIMP ailesi üyesi vardır; TIMP-1, -2, -3 ve TIMP-4 (65). N ve C terminal alanlarının her biri, üç disülfür döngüsü oluşturan 6 korunmuş sistein alanı içerir. N-terminal bölgesi MMP'lerin katalitik alanına bağlanır ve MMP aktivitesini inhibe ederken, C-terminal bölgesi pro-enzim inhibitör kompleksini stabilize etmek için MMP-2 ve MMP-9 C-terminal hemopeksin proformları ile etkileşime girer. TIMP-2, pro-MMP-2'nin aktivasyonunu kolaylaştırmak için hücre yüzeyi üzerinde hem MT1-MMP hem de pro-MMP-2 ile spesifik olarak etkileşime giren tek TIMP üyesidir (66, 67) (Şekil 10).

TIMP-2, hem MMP inhibitörü hem de aktivatörü olarak işlev görmesi bakımından benzersizdir. TIMP'ler, aynı etkinliğe sahip olmayan tüm aktif MMP'leri inhibe edebilir. TIMP-1 tercihen MMP-7, MMP-9, MMP-1 ve MMP-3'ü inhibe ederken, TIMP-2 ayrıca MMP-2'nin daha etkili bir inhibitörüdür (68).

Şekil 10. İnsan dermal fibroblastlarında TNF- α 'nın mekanizması ve kollajen aracılı pro-MMP-9 aktivasyonu(40)



İnsan dermal fibroblastlarında TNF- α ve kollajen aracılı pro-MMP-9 aktivasyonunun mekanizması. Çalışmalara dayanarak, TNF- α 'nın rolünü ve pro-MMP-2 aktivasyonu için mekanizmalar incelenmektedir. TNF- α ve tip 1 kollajenin reseptörlerine bağlanması, NF- κ B'nin hücresel inhibitörü olan I κ B'nin parçalanmasını indükleyerek NF- κ B sinyal yolunu aktive eder. NF- κ B daha sonra sitozolden çekirdeğe yer değiştirir. MT1-MMP geninin promotöründeki NF-prom β 'nin NF- κ B'ye yanıt veren cis elementine bağlanması, MT1-MMP transkripsiyonunu tetikler. Yüksek MT1-MMP mRNA seviyeleri, MT1-MMP proteinini oluşturur. Bu protein daha sonra plazma zarına geçer ve TIMP-2 ile fonksiyonel bir kompleks oluşturur. Aksine MMP-2 gen transkripsiyonu, fibroblastlarda yapısal olarak aktiftir ve pro-MMP-2, hücre dışı ortamda birikir. Hücresel membran üzerindeki artan MT1-MMP proteinini, 72 kDa pro-MMP-2'nin N-terminal pro alanına bölünmesine sebep olarak 62 kDa aktif MMP-2 formunun miktarını artırır.

2.5.4.Nefrin

2.5.4.1.Nefrinin yapısı ve KBH ilişkisi

Nefrin, immünoglobulin benzeri ailenin üyesi olan bir transmembran proteindir (Şekil 6). Hücre dışı alanı 8 adet IgG benzeri alandan ve tek bir fibronektin tip 3 alanından oluşur. İlk önce nefrinin sadece böbrekte eksprese edildiğine inanılıyordu, ancak son çalışmalar pankreatik β hücrelerinde glikoz ile uyarılan insülin salınımı ve hücrenin apoptozu engelleyen sinyallerinin rol oynadığı gösterildi (69-71). Böbrekte nefrin ekspresyonu podositlere özgüdür ve yarık diyaframda bulunur (72).

Nefrin, podositte spesifik olarak eksprese edildiği saptanan ilk transmembran globulindir (73). Podosit hasarının erken bir işareti olarak görülür (74). Patolojik koşullarda nefrin ile podositin göreceli olarak downregüle olurlar. Modifiye edilen podositin ve nefrinin mRNA'larının ekspresyon seviyeleri de glomerüler hastalığın biyobelirteci olabilir (75, 76).

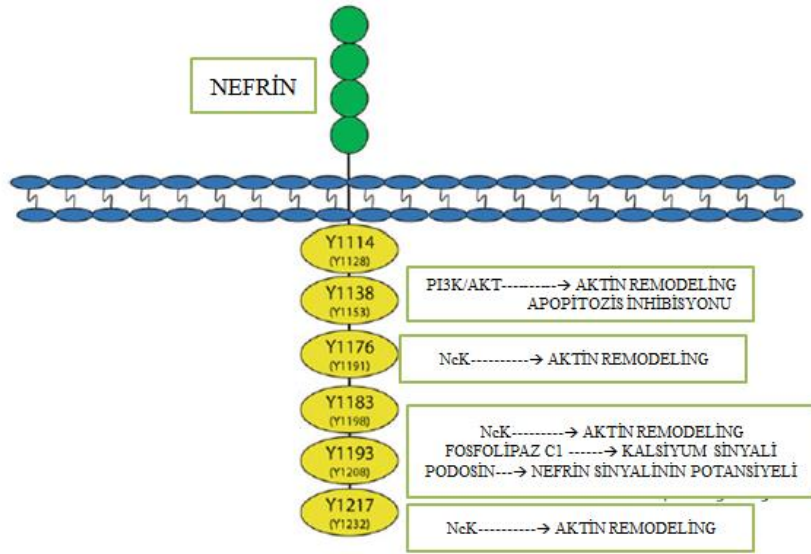
Çok sayıda çalışma bize gösterdi ki, bu tirozin kalıntılarının fosforilasyonu, podositlerdeki çeşitli hücre içi yolların düzenlenmesinde etkilidir. Bu yollar aktin hücre iskeletinin remodelingi, PI3 kinaz/Akt yolunun aktivasyonu, kalsiyum sinyali ve nefrin endositozudur (77-80) (Şekil 11).

2.5.4.2.Aktin Remodeling

Bazı çalışmalar da nefrin tirozin kalıntılarının (Y1176, Y1193 ve Y1208) fosforilasyonunun tetiklenmesinin NCK1 (Tirozin Kinase Adaptör Protein 1'in Katalitik Olmayan Bölgesi) ve NCK2 (Tirozin Kinase Adaptör Protein 2'in Katalitik Olmayan Bölgesi) ile etkileşimini arttırdığı ve aktin kuyruklarının oluşumuyla sonuçlandığını bildirilmiş (81, 82).

Tirosin 1176, 1193 ve 1217'de mutasyona uğramış nefrin eksprese eden farelerde, pedisellerde defekt, dilate kılcal damarlar ve kalınlaşmış bazal membranla birlikte ilerleyici proteinüri gösterildi (83).

Şekil 11.Nefrin sitoplazmik kompartmanındaki tirozin kalıntıları (72)



Çok sayıda çalışmada, bu tirozin kalıntılarının fosforilasyonunun, podositlerdeki çeşitli hücre içi yolların düzenlenmesinde kritik olduğu keşfedildi. Bu yollar arasında aktin hücre iskeletinin remodellingi, PI3 kinaz/Akt yolağının aktivasyonu, kalsiyum sinyali ve nefrin endositozu bulunur.

2.5.4.3.Kalsiyum Sinyali

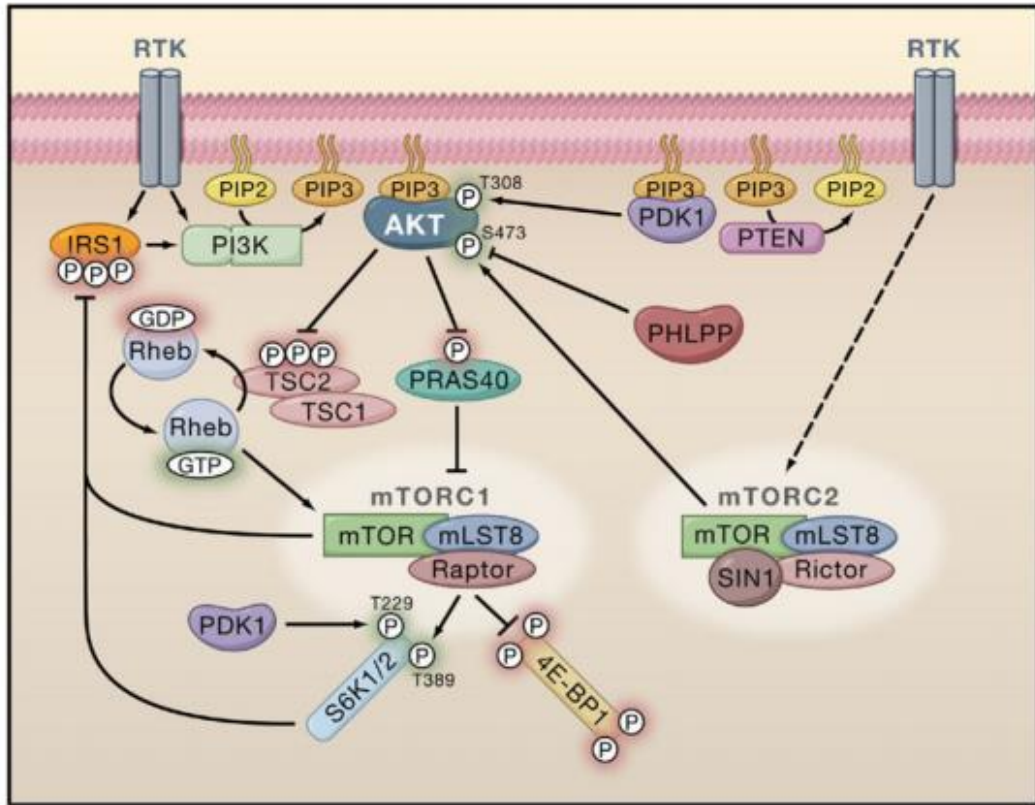
Bir çalışma nefrin tirozin 1193'ün fosforilasyonunun fosfolipaz C- γ 1 ile etkileşimini arttırdığını ve kalsiyum mobilizasyonunu tetiklediğini gösterdi (84).

2.5.4.4.PI3K / Akt Yolu

AKT protein ailesi (Akt1, Akt2 ve Akt3), hücrenin çoğalması, hayatta kalması, yer değiştirmesi ve aktin remodelingi dahil olmak üzere birden fazla hücresel yola dahil olan serin/treonin kinazlardır. Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K), p110 ve p85 adı verilen düzenleyici alt birimden oluşur. Akt aktivasyonu, PDGF reseptörü ve insülin reseptörü (IR) gibi aktif tirozin kinaz reseptörleri ile başlayan karmaşık bir sinyal kaskadıyla yapılır. Aktivasyon üzerine tirozin kinaz reseptörü, doğrudan etkileşim yoluyla veya insülin reseptörü substrat-1 (IRS-1) gibi bir iskelet proteini ile PI3K'yı aktive eder. Aktive PI3K, fosfatidilinositol-4,5-bifosfatı (PIP2) fosforile eder, fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat (PIP3) oluşturur. Daha sonra Akt, hem PIP3

hem de PDK1 tarafından stimüle edilerek membrana taşınır (Şekil 12) (85). Podositlerde, Akt1 değil Akt2, çeşitli böbrek hastalıklarında podositin hayatta kalması ve fonksiyonu için önemli bir yere sahiptir (86). Nefrin tarafından PI3K/Akt yollarının düzenlenmesi ve aktivasyonu, podosit fonksiyonunda yer alan iki protein olan CD2AP ve podosin ile nefrin etkileşimi ile ilişkilendirilmiştir (87). Podositlerde nefrinin aşırı ekspresyonu, fosforile tirozin kalıntısının nefrinle artan etkileşimi ve bununla ilişkili Akt fosforilasyonunu arttırmıştır (88).

Şekil 12.Büyüme Faktörlerine Göre Akt'nin Hücre Yüzeyine Doğru Aktivasyonu(85)



Akt aktivasyonu, PDGF reseptörü ve insülin reseptörü (IR) gibi aktif tirozin kinaz reseptörleri ile başlayan karmaşık bir sinyal kaskadıyla yapılır. Aktivasyon üzerine tirozin kinaz reseptörü (RTK), doğrudan etkileşim yoluyla veya insülin reseptörü substrat-1 (IRS-1) gibi bir iskelet proteinini ile PI3K'yı aktive eder. Aktive PI3K, fosfatidilinositol-4,5-bifosfatı (PIP2) fosforile eder, fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfat (PIP3) oluşturur. Daha sonra Akt, hem PIP3 hem de PDK1 tarafından stimüle edilerek membrana taşınır

2.5.4.5.Nefrin Fosforilasyon

Nefrin fosforilasyonun glomerülün olgunlaşmasında rol oynayabileceği ve farelerde glomerül gelişiminde nefrin fosforilasyonunu büyük ölçüde indüklediği immünofloresan deneylerde gösterilmiştir (82). Olgun glomerülde nefrin fosforilasyonunun temel rolü, aktin regülasyonu ile ilgilidir. Nefrin tirozin kalıntılarının bulunmadığı farelerde proteinüri ve glomerüler anormalliklerin varlığı vurgulanmıştır. Ancak, kalsiyum sinyali veya PI3K aktivasyonu gibi diğer hücreyel yollarda yer alan nefrin tirozin kalıntılarının, olgun glomerülde böbrek fonksiyonunun korunmasında rol oynayabileceğine dair bir kanıt yoktur (72).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Çalışma Grubu

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 2019/286 karar numaralı izni alınarak ve Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün desteği ile gerçekleştirilmiştir. Helsinki Deklerasyonu prensiplerine uygun olarak yürütülen bu prospektif çalışmada, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nefroloji ve İç Hastalıkları servis ve polikliniklerine Ocak 2020 - Haziran 2020 tarihleri arasında başvuran, kronik böbrek yetmezliği tanısı ile takipli veya yeni KBH tanısı almış hastaları ve sağlıklı gönüllüler değerlendirilmiştir. Dışlama kriterleri gebelik durumu, malignite, 18 yaşından küçük olma olarak belirlenmiş ve bu hastalar çalışmaya alınmamıştır. Hastalar araştırmaya katılmaya gönüllü olanlardan seçilip, yazılı bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Çalışma için uygun olan 132 kronik böbrek yetmezliği hastasının ve çoğunluğu rutin muayane için başvurmuş, incelemelerde herhangi bir patoloji saptanmamış 38 sağlıklı kişinin onamları alındıktan sonra çalışmaya dahil edilmişlerdir. Hastaların yaş, cinsiyet, ek hastalıkları, kullandıkları ilaçlar gibi bilgileri sorgulanmış ve rutin alınan tetkikler sırasında kan ve idrar örnekleri toplanmıştır.

3.2.Klinik Değerlendirme ve Örnek Toplanması

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubundaki kişilerde yaşı, cinsiyeti, bilinen hastalıkları, kronik böbrek yetmezliğinin etyolojisi, eGFH, KBH'nın evresi, spot idrar protein/kreatin düzeyi, parathormon, albümin, CRP, kalsiyum, fosfor, kalsiyum-fosfor çarpımı, nötrofil/lenfosit, hemoglobulin, ortalama trombosit hacmi(MPV), ACEI/ARB (Anjiotensin Converting Enzim İnhibitörü/Anjiotensin Reseptör Blokörü) kullanması, beta blokör kullanması, kalsiyum kanal blokörü kullanması, plazma KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 düzeyleri ve idrarnefrin düzeylerideğerlendirildi. Hemogram ve biyokimyasal parametreler için yazılı ya da elektronik kayıtlara geçen hastaların rutin poliklinik kontrollerindeki sonuçlarından yararlanıldı. Hasta ve kontrol grubundan venöz kan poliklinik

başvurularında 8 saatlik açlığı takiben alınan örnekten, idrar ise spot olarak çalışılan tam idrar tetkiki için verilen orta akım idrarından ayrılmıştır. Hastalardan çalışma için ekstra kan ve idrar alınmamıştır. Alınan venöz kan örneklerinden 4000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen serum 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine koyularak -80°C'de saklanmıştır. İdrar örnekleri ise 10 ml tüplerine koyularak -80°C'de saklanmıştır. Bu saklanmış örneklerden, hasta ve kontrol grubunun toplanması bittikten sonra KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 ve nefrin ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent assay) yöntemi ile üretici firmanın kataloğunda belirttiği şekilde çalışıldı (SunRed® ELISA kitleri sırasıyla DZE201121100, DZE201120905, DZE201120937 DZE201121237, DZE201121219, DZE201126708)

3.3.Örneklem genişliği

%5 önemlilik düzeyinde %80 güç ve 0,30'luk bir etki büyüklüğü ile klinik ve istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı elde etmek için çalışma protokolüne uygun en az 161 bireyin çalışmaya rasgele alınmasına karar verildi. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmaya toplam 170 birey (hasta: 132 sağlam: 38) alındı.

3.4.İstatistik Analiz

Çalışmadaki verilerin türüne ve uygulanan analize göre uygun tanımlayıcı istatistikleri hesaplandı. Sürekli nicel değişkenlerin normallik varsayımı Lilliefors düzeltmeli Kolmogorov Smirnov testi ve Shapiro Wilk testleriyle; grup varyansların homojenliği ise Levene testi ile kontrol edildi. Yaş ve cinsiyet açısından gruplar arası karşılaştırmalarda sırasıyla Kruskal-Wallis (post hoc: Dunn testi) ve Pearson Ki-Kare (post hoc: Bonferroni testi) testleri kullanıldı. Belirlenen kovaryat etkisini de dikkate alarak biyomarker ve biyokimya test sonuçları açısından grup karşılaştırmalarında Kovaryans analizi ve Genelleştirilmiş Doğrusal Modelleme (gamma, linear log-link, post hoc Fisher LSD test) yaklaşımı kullanıldı. Kovaryat etkisini de dikkate alarak nicel değişkenler arasındaki ilişkiler parametrik olmayan kısmi korelasyon analiziyle incelendi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson Ki-Kare ve Fisher-Freeman-Halton (post hoc: Bonferroni testi) testleriyle bulundu. İstatistiksel değerlendirmeler için SPSS 22 programı ve özel makrolar kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4.BULGULAR

Cinsiyet açısından gruplar homojendi ($p>0,05$) ancak yaş dağılımı gruplar arasında farklılık gösteriyordu ($p<0,05$).). Kontrol grubundaki bireylerin median yaş değeri, evre 1 dışındaki tüm KBH evrelerinden anlamlı düzeyde düşüktü (her biri için $p<0,001$). Ayrıca evre 1'deki bireylerin median yaşı evre 3a, 3b, 4 deki bireylerin median yaş değerlerinden anlamlı düzeyde daha düşüktür (sırasıyla $p=0,001$ $p=0,001$ $p=0,007$). DM varlığı açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark yoktu ($p>0,05$) ancak HT ve koroner arter hastalığı (KAH) varlığı açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı (her biri için $p<0,05$). Evre 3a, 3b ve 4 KBH gruplarında HT olan bireylerin oranı, Evre 1 KBH grubunda olan bireylerin oranlarından anlamlı düzeyde daha yüksekti (her biri için $p<0,05$).). Evre 2, 3a ve 4 KBH gruplarında KAH olan bireylerin oranı, Evre 1 KBH grubunda olan bireylerin oranlarından anlamlı düzeyde daha yüksekti (her biri için $p<0,05$) (Tablo 8).

Tablo 8.Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri

	Kontrol	Evre 1	Evre 2	Evre 3a	Evre 3b	Evre 4	Evre 5	P
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Kadın	30 (78,9)	11 (47,8)	10 (45,5)	11 (47,8)	11 (55,0)	11 (47,8)	9 (42,9)	0,056
Erkek	8 (21,1)	12 (52,2)	12 (54,5)	12 (52,2)	9 (45,0)	12 (52,2)	12 (57,1)	
Yaş# (min-max)	22 (19-51)	48 (22-61)	58 (27-74)	69 (42-86)	69 (37-85)	66 (22-81)	65 (21-81)	<0,001
DM var	-	4 (17,4)	6 (27,3)	10 (43,5)	8 (40,0)	8 (34,8)	6 (28,6)	0,457*
DM yok	-	19 (82,6)	16 (72,7)	13 (56,5)	12 (60)	15 (65,2)	15 (71,4)	
HT var	-	8 (34,8)	15 (68,2)	23 (100)	20 (100)	21 (91,3)	15 (71,4)	<0,001*
HT yok	-	15 (65,2)	7 (31,8)	0 (0)	0 (0)	2 (8,7)	6 (28,6)	
KAH var	-	1 (4,3)	10 (45,5)	10 (43,5)	8 (40)	11 (47,8)	8 (38,1)	0,024*
KAH yok	-	22 (95,7)	12 (54,5)	13 (56,5)	12 (60)	12 (52,2)	13 (61,9)	

#Ortanca *Pearson Ki-kare testi, # Fisher-Freeman-Halton testi, DM:Diyabetes Mellitus,

HT:Hipertansiyon, KAH:Koroner Arter Hastalığı

Yaşa göre düzeltilmiş parathormon, albümin, MPV, nötrofil/lenfosit oranı, hemoglobin ortalama değerleri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde bir fark yoktu (her biri için $p>0,05$, Tablo 9).

Yaşa göre düzeltilmiş sistolik kan basıncı ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,05$). Evre 3b ve 5 KBH gruplarında ölçülen sistolik kan basıncının ortalama değerleri, kontrol grubunda ölçülen değerinden anlamlı derecede daha yüksekti (sırasıyla $p=0,021$ ve $p=0,041$). Evre 3b ve 5 KBH gruplarında ölçülen sistolik kan basıncının ortalama değerleri, evre 1 KBH grubunda ölçülen değerinden anlamlı derecede daha yüksekti (sırasıyla $p=0,021$ ve $p=0,041$) (sırasıyla $p=0,021$ ve $p=0,034$). Evre 3a, 3b, 4 ve 5 KBH gruplarında ölçülen sistolik kan basıncının ortalama değerleri, evre 2 KBH grubunda ölçülen değerinden anlamlı derecede daha yüksekti (sırasıyla $p=0,034$, $p=0,006$, $p=0,035$, $p=0,007$, Tablo 9).

Yaşa göre düzeltilmiş diyastolik kan basıncının ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,05$). Evre 2, 3a, 3b, 4 ve 5 KBH gruplarında ölçülen diyastolik kan basıncının ortalama değerleri, kontrol grubundaki ölçülen değerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,031$ $p=0,001$ $p=0,002$ $p=0,007$ $p=0,003$). Evre 3a, 3b ve 5 KBH gruplarında ölçülen diyastolik kan basıncının ortalama değerleri, evre 1 KBH grubundaki ölçülen değerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,008$ $p=0,026$ $p=0,045$). Evre 3a KBH grubunda ölçülen diyastolik kan basıncının ortalama değeri, evre 2 KBH grubundaki ölçülen değerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,038$) (Tablo 9).

Yaşa göre düzeltilmiş spot idrar protein/kreatin ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardır ($p<0,001$). Evre 4 ve 5 KBH gruplarında ölçülen spot idrar protein/kreatin ortalama değerleri, kontrol grubunda ölçülen değerinden anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,008$ $p=0,002$). Evre 4 ve 5 KBH gruplarında ölçülen spot idrar protein/kreatin ortalama değerleri, evre 1 KBH grubunda ölçülen değerinden anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,028$ $p=0,007$). Evre 4 ve 5 KBH gruplarında ölçülen spot idrar protein/kreatin ortalama değerleri, evre 2 KBH grubunda ölçülen değerinden anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,011$ $p=0,003$) (Tablo 9).

Yaşa göre düzeltilmiş C reaktif protein (CRP) ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,05$). Evre 4 ve 5 KBH gruplarındaki ölçülen CRP değerleri, evre 1 KBH grubunda ölçülen değerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,035$ $p=0,016$) (Tablo 9).

Yaşıa göre düzeltilmiş kalsiyum ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,001$). Evre 3b KBH grubunda ölçülen kalsiyum ortalama değeri, kontrol grubunda, evre 1, 2, 3a, 4 ve 5 KBH gruplarında ölçülen değerlerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti (her biri için $p<0,001$) (Tablo 9).

Yaşıa göre düzeltilmiş fosfor ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,001$). Evre 4 KBH grubunda ölçülen fosfor ortalama değeri, kontrol grubunda, evre 2 ve 3b KBH gruplarında ölçülen değerlerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,032$ $p=0,001$ $p=0,047$). Evre 5 KBH grubunda ölçülen fosfor ortalama değeri, kontrol grubunda, evre 1, 2, 3a, 3b KBH gruplarında ölçülen değerlerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti (her biri için $p<0,001$) (Tablo 9).

Yaşıa göre düzeltilmiş kalsiyum-fosfor çarpımı ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,05$). Evre 4 KBH grubundaki ölçülen kalsiyum-fosfor çarpımı ortalama değeri, evre 2 KBH grubunda ölçülen değerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti($p<0,001$). Evre 5 KBH grubunda ölçülen kalsiyum-fosfor çarpımı ortalama değeri, kontrol grubunda, evre 1, 2, 3a ve 3b KBH gruplarında ölçülen değerlerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,015$ $p=0,010$ $p<0,001$ $p=0,033$ $p=0,012$) (Tablo 9).

Tablo 9.Kontrol Grubu ve KBH Evreleri'nin Kan Basıncı Ölçümleri ve Laboratuvar Değerlerinin Karşılaştırması

	Kontrol		Evre 1		Evre 2		Evre 3a		Evre 3b		Evre 4		Evre 5		P
	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	118,6 ±11,8	97,5-144,2	127,3 ±6,1	116,0-139,7	123,7 ±5,1	114,1-134,1	145,5 ±8,9	129,0-164,2	154,1 ±9,9	135,9-174,8	141,6 ±6,8	128,9-155,6	146,3 ±6,6	134,0-159,8	0,014
Diastolik Kan Basıncı (mmHg)	65,6 ±4,9	56,6-76,1	74,5 ±2,7	69,4-79,9	77,5 ±2,5	72,9-82,5	87,5 ±4,1	79,8-96,3	85,4 ±4,1	77,7-94,0	81,4 ±3,1	75,5-87,8	82,3 ±2,8	76,9-88,0	0,004
eGFH (ml/dk/1.73m)	110,8 ±14,5	85,8-143,2	98,5 ±6,1	87,3-111,2	71,5 ±3,9	64,2-79,5	53,1 ±4,3	45,3-62,1	35,7 ±3,0	30,3-42,1	21,9 ±1,4	19,4-24,8	8,9 ±0,5	7,9-10,0	<0,001
Spot idrar protein/kreatin (mg/gün)	117,7 ±82,2	30,0-462,5	453,8 ±218,0	177-1163,6	226,4 ±66,4	127,4-402,4	1509,2 ±656,6	643,4-3540,5	1452,7 ±745,1	531,6-3970,0	2363,5 ±842,8	1175,0-4754,2	3489,1 ±1105,5	1875,0-6492,6	<0,001
PTH* (pg/mL)	-	-	38,4 ±18,4	15,0-98,4	59,0 ±11,3	40,6-85,8	63,2 ±11,2	44,7-89,3	197,9 ±38,1	135,7-288,7	122,4 ±20,1	88,8-168,8	204,3 ±34,8	146,4-285,2	0,800
Albümin (g/dL)	4,3±0,3	3,7-5,0	4,3±0,2	4,0-4,7	4,2±0,1	4,0-4,4	4,2±0,1	4,0-4,4	4,1±0,1	3,9-4,3	3,8±0,1	3,7-4,0	3,9±0,1	3,8-4,1	0,437
CRP (mg/dL)	0,5±0,3	0,2-1,4	0,4±0,1	0,2-0,7	0,8±0,2	0,5-1,3	0,8±0,3	0,4-1,7	0,7±0,3	0,3-1,5	1,2±0,4	0,6±2,1	1,2±0,3	0,7-2,0	0,028
Hemoglobin (g/dL)	13,3 ±0,9	11,7-15,1	13,9 ±0,4	13,1-14,7	13,5 ±0,4	12,9-14,3	13,2 ±0,5	12,2-14,3	12,2 ±0,5	11,3-13,2	11,8 ±0,4	11,1-12,6	10,7 ±0,3	10,1-11,3	0,210
Nötrofil/Lenfosit Oranı	1,8±0,3	1,4-2,4	2,0±0,3	1,5-2,6	2,0±0,3	1,5-2,6	2,3±0,3	1,7-3,0	2,6±0,4	1,9-3,5	2,9±0,4	2,2-3,8	2,6±0,3	2,0-3,3	0,296
MPV(fL)	8,7±2,5	5,0-15,1	10±1,3	7,7-13,0	8,4±0,9	6,7-10,5	9,0±1,5	6,5-12,5	8,6±1,5	6,1-12,2	8,8±1,1	6,9-11,3	7,8±1,0	6,2-10,0	0,170
Kalsiyum(mg/dL)	9,5±1,2	7,4-12,2	9,6±0,6	8,5-10,8	9,8±0,5	8,8-10,8	9,9±0,8	8,5-11,6	18,3 ±1,6	15,4-21,8	9,7±0,6	8,6-11	9,1±0,5	8,1-10,2	<0,001
Fosfor (mg/dL)	3,3±0,3	2,7-4,0	3,6±0,2	3,2-4,0	3,3±0,1	3,0-3,6	3,5±0,2	3,1-4,0	3,5±0,2	3,0-4,0	4,1±0,2	3,7-4,5	4,6±0,2	4,2-5,1	<0,001
Kalsiyum-Fosfor Çarpımı	31,6 ±3,8	25,0-40,0	34,4 ±2,1	30,6-38,8	31,9 ±1,6	29,0-35,2	35,0 ±2,6	30,3-40,5	33,6 ±2,6	28,8-39,2	40,0 ±2,3	35,7-44,9	42,4 ±2,3	38,1-47,1	0,003

Ort.: Ortalama, SH: Standart Hata, AS: %95 Wald Güven Aralığı Alt Sınır Değeri, US: %95 Wald Güven Aralığı Üst Sınır Değeri, * Kişi sayısı az olduğu için kontrol grubu analize dahil edilmemiştir.

Yaş açısından gruplar homojen olmadığı için yaşa göre düzeltilmiş biyomarker ve biyokimya parametre değerleri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde bir fark olup olmadığı araştırıldı. Her bir grupta yaşa göre düzeltilmiş biyomarker sonuçlarının tanımlayıcı değerleri ve karşılaştırma sonuçları Tablo 10'da ayrıntılı olarak verildi. Yaş göre düzeltilmiş TIMP-1, MMP-9 ortalama değerleri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde bir fark yoktu (her biri için p>0,05)

ancak KIM-1, TIMP-2, MMP-2 ve nefrin açısından gruplar arasında anlamlı farklılık vardı (KIM-1, TIMP-2, MMP-2 için $p<0,001$ ve nefrin için $p<0,05$, Tablo 10).

Yaşa göre düzeltilmiş KIM-1 ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,001$). Evre 1, 2, 4 ve 5 KBH gruplarında KIM-1 ortalama değerleri, kontrol grubunda ölçülen değerinden anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,014$ $p=0,002$ $p=0,008$ $p<0,001$). Evre 3 KBH grubunda kontrol grubuna göre KIM-1 ortalama değeri yüksek saptanmasına rağmen istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Evre 2 KBH grubunda ölçülen KIM-1 ortalama değeri, evre 3b KBH grubunda ölçülen değerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,034$). Evre 5 KBH grubunda ölçülen KIM-1 ortalama değeri, evre 3b KBH grubunda ölçülen değere göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0,002$) (Tablo 10).

Yaşa göre düzeltilmiş TIMP-2 ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,001$). Evre 1, 2, 3a, 3b, 4 ve 5 KBH gruplarında ölçülen TIMP-2 ortalama değerleri, kontrol grubunda ölçülen değerden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,005$ $p<0,001$ $p=0,006$ $p=0,049$ $p<0,001$ $p<0,001$). Evre 2 ve 5 KBH gruplarında ölçülen TIMP-2 ortalama değerleri, evre 3b KBH grubunda ölçülen değerden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,030$ $p=0,031$) (Tablo 10).

Yaşa göre düzeltilmiş MMP-2 ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,001$). MMP-2 sayısal olarak tüm evrelerde kontrol grubundan yüksekti ancak evre 3 ve 4'de bu yükseklik istatistiksel anlamlılığa ulaşamazken, evre 1, 2 ve 5'de istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,010$ $p=0,026$ $p=0,006$). Evre 1 ve 5 KBH gruplarında ölçülen MMP-2 ortalama değerleri, evre 3b KBH grubunda ölçülen değerden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,029$ $p=0,017$) (Tablo 10).

Yaşa göre düzeltilmiş nefrin ortalama değeri açısından gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,05$). Evre 3b ve 4 KBH gruplarında nefrin ortalama değerleri, kontrol grubunda ölçülen değerinden anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,010$ $p=0,026$ $p=0,006$). Evre 1 ve 2 KBH gruplarında kontrol grubuna göre nefrin ortalama değeri yüksek saptanmasına rağmen istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Ayrıca evre 3b ve 4 KBH gruplarında ortalama nefrin değeri istatistiksel anlamlılığa ulaşmasada evre 2 KBH'dan daha yüksek saptandı. Evre 2, 3a, 3b ve 4 KBH gruplarında ölçülen nefrin ortalama değerleri, evre 1 KBH grubunda ölçülen değerden anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p=0,002$ $p=0,009$ $p<0,001$ $p<0,001$). Evre 2, 3b ve 4 KBH gruplarında nefrin ortalama değerleri, evre 5

KBH grubunda ölçülen değerinden anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0,028$ $p=0,005$ $p=0,002$) (Tablo 10).

Tablo 10.Kontrol Grubu ve KBH Evrelerinde Biyomarkerlar Arasındaki İlişki

	Kontrol		Evre 1		Evre 2		Evre 3a		Evre 3b		Evre 4		Evre 5		P
	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	
KIM-1 (ng/ml)	0,8±0,2	0,5-1,2	1,4±0,2	1,1-1,7	1,5±0,2	1,3-1,9	1,2±0,2	0,9-1,7	1,1±0,2	0,8-1,4	1,5±0,2	1,1-1,9	1,9±0,2	1,5-2,3	<0,001
TIMP-1 (ng/ml)	95,8 ±11,7	75,4- 121,7	100,3 ±5,5	90,0- 111,8	104,4 ±5,2	94,7- 115,1	100,3 ±7,5	86,6- 116,2	101,4 ±7,9	87,1- 118,0	109,3 ±6,4	97,5- 122,5	112,3 ±6,1	101,1- 124,9	0,538
TIMP-2 (ng/ml)	18,6 ±3,4	12,9- 26,7	31,6 ±3,0	26,1- 38,1	36,8 ±2,8	31,7- 42,8	32,0 ±3,5	25,9- 39,6	27,7 ±3,1	22,2- 34,6	36,2 ±3,2	30,4- 43,2	37,2 ±3,1	31,6- 43,7	<0,001
MMP-2 (ng/ml)	1,98 ±0,40	1,34- 2,93	3,29 ±0,32	2,72- 3,98	3,04 ±0,27	2,56- 3,61	2,73 ±0,35	2,13- 3,50	2,32 ±0,31	1,79- 3,01	2,81 ±0,29	2,30- 3,44	3,39 ±0,32	2,81- 4,08	<0,001
MMP-9 (ng/ml)	9,1 ±1,5	6,6- 12,5	10,3 ±0,8	8,8- 12,0	10,5 ±0,7	9,2- 12,0	10,2 ±1,0	8,4- 12,4	9,7 ±1,0	7,9- 11,9	11,9 ±1,0	10,1- 14,0	10,2 ±0,8	8,8- 11,8	0,768
NEFRİN (ng/L)	45,9 ±19,5	7,8- 84,0	47,0 ±9,2	29,0- 64,1	85,8 ±8,1	70,0- 101,7	86,3 ±11,9	63,0- 109,6	102,2 ±12,5	77,6- 126,8	98,8 ±9,4	80,3- 117,3	59,6 ±8,8	42,4- 76,9	0,005

Ort.: Ortalama, SH: Standart Hata, AS: %95 Wald Güven Aralığı Alt Sınır Değeri, US: %95 Wald Güven Aralığı Üst Sınır Değeri

Hasta grubunda yaş değişkeni kontrol altındayken KIM-1 ile CRP ($r=-0,182$ $p=0,049$) ölçümleri arasında negatif yönde anlamlı düzeyde birer ilişki vardı (Tablo 11).

Hasta grubunda yaş değişkeni kontrol altındayken TIMP-1 ile kreatin ($r=0,221$ $p=0,012$), spot idrar protein/kreatin ($r=0,206$ $p=0,020$) ölçümleri arasında pozitif yönde anlamlı düzeyde birer ilişki varken albümin ($r=-0,210$ $p=0,021$) ölçümleri arasında negatif yönde anlamlı düzeyde bir ilişki vardı (Tablo 11).

Hasta grubunda yaş değişkeni kontrol altındayken TIMP-2 ile spot idrar protein/kreatin ($r=0,178$ $p=0,045$) ölçümleri arasında pozitif yönde anlamlı düzeyde bir ilişki vardı (Tablo 11).

Hasta grubunda yaş değişkeni kontrol altındayken nefrin ile diyastolik kan basıncı ($r=0,183$ $p=0,039$) spot idrar protein/kreatin ($r=0,216$ $p=0,015$) ölçümleri

Tablo 11. Biomarkerlar ile Kan Basıncıları ve Laboratuvar Değerleri Arasındaki İlişki

		Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	Diyastol Kan Basıncı (mmHg)	Kreatin (mg/dL)	eGFH (ml/dk/1.73 m ²)	Spot İdrar Protein/Kreatin (mg/gün)	PTH* (pg/mL)	Albümin (g/dL)	CRP (mg/dL)
KIM-1 (ng/ml)	r	-,006	,008	,030	-,005	,072	,023	,012	-,182
	p	,944	,927	,731	,957	,422	,812	,897	,049
	n	126	126	128	128	125	112	120	115
TIMP-1 (ng/ml)	r	,032	,046	,221	-,171	,206	-,015	-,210	,055
	p	,717	,606	,012	,052	,020	,878	,021	,558
	n	126	126	128	128	125	112	120	115
TIMP-2 (ng/ml)	r	,090	,131	,154	-,099	,178	,114	,011	-,144
	p	,312	,139	,080	,264	,045	,227	,906	,121
	n	126	126	128	128	125	112	120	115
MMP-2 (ng/ml)	r	-,033	,016	-,093	,069	-,003	-,005	,084	-,150
	p	,711	,859	,293	,437	,974	,957	,358	,105
	n	126	126	128	128	125	112	120	115
MMP-9 (ng/ml)	r	,055	,096	,078	-,047	,107	,030	,007	-,037
	p	,540	,281	,377	,597	,230	,749	,940	,695
	n	126	126	128	128	125	112	120	115
NEFRİN (ng/L)	r	,164	,183	,163	-,096	,216	,009	-,128	,029
	p	,065	,039	,063	,275	,015	,924	,161	,755
	n	126	126	128	128	125	112	120	115

arasında pozitif yönde anlamlı düzeyde birer ilişki vardı (Tablo 11).

Yaşa göre düzeltilmiş KIM-1, TIMP-1, MMP-9, MMP-2 ve nefrin ortalama değerleri açısından etiyolojik gruplar arasında arasında anlamlı düzeyde bir fark yoktu (her biri için $p>0,05$) (Tablo 12).

Yaşa göre düzeltilmiş TIMP-2 ortalama değeri açısından etiyolojik gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardı ($p<0,05$). Diğer grubunda ölçülen TIMP-2 ortalama değeri, diyabetik nefropati ($p=0,014$) ve primeri bilinmeyen ($p=0,034$) gruplarda ölçülen değerlerinden anlamlı düzeyde daha yüksekti.

Tablo 12.Kronik Böbrek Hastalığı Etiyolojisine göre Biyomarkerlar ile İlişkisi

	Hipertansif Nefropati (n=54)		Diyabetik Nefropati (n=21)		Primeri Bilinmeyen (n=18)		Diğer (n=39)		P
	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	
KIM-1(ng/ml)	1,4±0,1	1,2-1,6	1,2±0,1	1,0-1,5	1,4±0,2	1,0-1,7	1,3±0,1	1,1-1,5	0,051
TIMP-1(ng/ml)	105,1±2,9	99,7-110,9	102,5±4,7	93,7-112,2	92,8±5,2	83,1-103,6	102,3±3,1	96,4-108,6	0,887
TIMP-2(ng/ml)	32,5±1,5	29,6-35,7	28,1±2,2	24,1-32,8	28,2±2,8	23,3-34,2	35,3±1,9	31,8-39,3	0,040
MMP-2(ng/ml)	2,9±0,1	2,6-3,2	2,9±0,2	2,5-3,4	3,2±0,3	2,6-3,9	2,7±0,2	2,4-3,0	0,151
MMP-9(ng/ml)	10,5±0,5	9,7-11,5	8,9±0,6	7,8-10,3	8,7±0,8	7,3-10,4	11,2±0,5	10,2-12,3	0,334
NEFRİN(ng/L)	77,6±8,8	62,2-96,9	76,9±15,1	52,3-113,0	34,3±7,5	22,3-52,5	99,9±12,7	77,9-128,1	0,390

Ort.: Ortalama, SH: Standart Hata, A: %95 Wald Güven Aralığı Alt Sınır Değeri, Ü: %95 Wald Güven Aralığı Üst Sınır Değeri

Yaşa göre düzeltilmiş KIM-1, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, MMP-9, nefrin, MMP-9/TIMP-1, MMP-2/TIMP-2 ortalama değerleri açısından DM olan ve DM olmayan bireyler arasında anlamlı düzeyde bir fark yoktu (her biri için p>0,05 Tablo 13).

Tablo 13.Diabetes Mellitus İle Biyomarkerlar Arasındaki İlişki

	DM Yok (n=90)		DM Var (n=42)		P
	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	
KIM-1(ng/ml)	1,43±0,07	1,30-1,57	1,33±0,10	1,15-1,54	0,798
TIMP-1(ng/ml)	103,5±2,1	99,5-107,6	103,1±3,2	97,0-109,6	0,258
TIMP-2(ng/ml)	33,7±1,2	31,4-36,3	32,4±1,8	29,0-36,1	0,512
MMP-2(ng/ml)	3,0±0,1	2,7-3,2	2,9±0,2	2,6-3,3	0,658
MMP-9(ng/ml)	10,7±0,3	10,1-11,5	9,5±0,5	8,6-10,5	0,851
NEFRİN(ng/L)	77,7±6,8	65,5-92,2	83,1±11,3	63,6-108,6	0,458

Ort.: Ortalama, SH: Standart Hata, AS: %95 Wald Güven Aralığı Alt Sınır Değeri, US: %95 Wald Güven Aralığı Üst Sınır Değeri

Yaşa göre düzeltilmiş KIM-1, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, MMP-9 ve nefrin, ortalama değerleri açısından HT grupları arasında anlamlı düzeyde bir fark yoktu (her biri için $p>0,05$) (Tablo 14)

Tablo 14.Hipertansiyon İle Biyomarkerlar Arasındaki İlişki

	HT Yok (n=30)		HT Var (n=102)		P
	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	
KIM-1(ng/ml)	1,3±0,1	1,1-1,6	1,4±0,1	1,2-1,5	0,060
TIMP-1 (ng/ml)	92,7±4,0	85,2-100,9	104,9±2,0	101,0-108,9	0,833
TIMP-2(ng/ml)	28,4±2,2	24,4-33,1	33,3±1,2	31,1-35,6	0,079
MMP-2(ng/ml)	3,1±0,3	2,6-3,6	2,8±0,1	2,6-3,0	0,097
MMP-9(ng/ml)	8,9±0,6	7,7-10,2	10,8±0,3	10,2-11,5	0,289
NEFRİN(ng/L)	47,4±8,4	33,5-67,2	86,7±7,2	73,7-102,0	0,671

Ort.: Ortalama, SH: Standart Hata, AS: %95 Wald Güven Aralığı Alt Sınır Değeri, US: %95 Wald Güven Aralığı Üst Sınır Değeri

Yaşa göre düzeltilmiş KIM-1, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2, MMP-9 ve nefrin ortalama değerleri açısından ACEI/ARB kullanan ve kullanmayan bireyler arasında anlamlı düzeyde bir fark yoktu (her biri için $p>0,05$) (Tablo 15).

Tablo 15.ACEI/ARB Kullananımı ile Biyomarkerlar Arasındaki İlişki

	ACE Yok (n=72)		ACE Var (n=60)		P
	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	
KIM-1(ng/ml)	1,4±0,1	1,2-1,5	1,4±0,1	1,3-1,6	0,367
TIMP-1(ng/ml)	102,0±2,3	97,6-106,5	103,7±2,5	98,8-108,7	0,211
TIMP-2(ng/ml)	32,5±1,3	30,0-35,2	33,6±1,5	30,8-36,7	0,145
MMP-2(ng/ml)	3,1±0,1	2,8-3,3	2,8±0,1	2,6-3,1	0,411
MMP-9(ng/ml)	10,5±0,4	9,8-11,3	10,1±0,4	9,4-11,0	0,928
NEFRİN(ng/L)	76,5±7,4	63,3-92,6	80,9±8,6	65,7-99,7	0,992

Ort.: Ortalama, SH: Standart Hata, AS: %95 Wald Güven Aralığı Alt Sınır Değeri, US: %95 Wald Güven Aralığı Üst Sınır Değeri

Yaşa göre düzeltilmiş KIM-1, TIMP-1, TIMP-2, MMP-9 ve nefrin ortalama değerleri açısından kalsiyum kanal blokörü kullanan ve kullanmayan bireyler arasında anlamlı düzeyde bir fark yoktu (her biri için $p>0,05$). Bu gruplar arasında yalnız yaşıya göre düzeltilmiş MMP-2 ortalama değeri açısından fark vardı ve ilacı kullanmayanlarda anlamlı düzeyde daha yüksekti ($p<0,05$, Tablo 16).

Tablo 16.Kalsiyum Kanal Blokörü Kullanımı ile Biyomarkerlar Arasındaki İlişki

	Kalsiyum Kanal Blokör Yok (n=77)		Kalsiyum Kanal Blokör Var (n=55)		P
	Ort.±SH	AS-ÜS	Ort.±SH	AS-ÜS	
KIM-1 (ng/ml)	1,4±0,1	1,3-1,5	1,4±0,1	1,2-1,6	0,381
TIMP-1 (ng/ml)	102,6±2,2	98,3-107,1	103,1±2,7	98,0-108,5	0,936
TIMP-2 (ng/ml)	32,6±1,3	30,2-35,3	33,8±1,6	30,8-37,1	0,929
MMP-2 (ng/ml)	3,0±0,1	2,8-3,2	2,7±0,1	2,5-3,0	0,001
MMP-9 (ng/ml)	10,1±0,4	9,4-10,8	10,6±0,4	9,8-11,5	0,904
NEFRİN (ng/L)	73,0±6,8	60,7-87,6	88,3±9,9	70,9-109,8	0,125

Ort.: Ortalama, SH: Standart Hata, AS: %95 Wald Güven Aralığı Alt Sınır Değeri, ÜS: %95 Wald Güven Aralığı Üst Sınır Değeri

5. TARTIŞMA

KBH dünyada ve ülkemizde önemli bir halk sağlığı sorunudur (89). CREDIT çalışmasına göre Türkiye'deki erişkin popülasyonunun %15.7'sinin KBH olduğu gösterilmiştir. Hastaların evrelere göre dağılımına bakıldığında, %5.43'ü evre 1, %5.15'i evre 2, %4.67'si evre 3, %0.27'si evre 4, %0.15'i evre 5 olarak tespit edilmiştir (90). KBH'nın prevalansının kararlı bir artış trendi içinde olduğu görülmektedir. Son yıllardaki veriler, artış hızının azalmış olmasına rağmen devam ettiğini göstermektedir (12). Dünyanın çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalar, hastalığın farkındalığının yüzde 10'un altında olduğunu göstermiştir (91). Ülkemizde KBH'nın etyolojisine bakıldığında en sık sebep DM olup, bunu HT izlemektedir (12). Çalışmamızda da en sık görülen etyolojik faktörler HT ve DM olmakla birlikte HT daha sık saptanmıştır. Bunun sebebi etyolojik nedenler odaklanarak tasarlanmadığından, çalışmanın bunun için uygun genişlikte bir örneklem grubu oluşturamaması olabilir. Bizim çalışmamızda bunun için örneklem genişliği oluşturma da KBH grubunun kontrol grubuna göre belirgin şekilde ileri yaşta olduğu saptandı. İleri yaş ve komorbid hastalığa sahip olmak KBH açısından önemli risk faktörleridir (13). KBH erken saptandığında progresyonu yavaşlatılabilen bir hastalıktır (91). Bu nedenle erken tanı ve yeni tedavi olanakları konusunda güncel araştırmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Bizde araştırmamızda KBH'nın eGFH düzeylerinin dışında biyobelirteçler aracılığıyla erken tespitinin ve renal fonksiyon kaybının derecesini belirlenmesini amaçladık. Bu amaçla daha önce yapılmış çalışmalarda böbrek hasar belirteçleri olarak kullanılan KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 ve nefrin düzeylerinin hastalığın evresi ve etyolojisiyle ilişkisini araştırdık.

KIM-1, renal tübüler hasarın spesifik bir belirteçidir, biyopsi çalışmalarında inflamasyon ve fibrozisin derecesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. KIM-1'in, böbrek hasarında ideal bir biyobelirteç olmasının nedenleri; normal sağlıklı böbrekte KIM-1 ekspresyonunun olmaması, renal hasarlanma sonucunda proksimal tübülün apikal membranına belirgin upregülasyonun olması, hücre tamamen iyileşene kadar da epitel hücresinde kalmasıdır (92).

Helen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada plazma KIM-1 seviyelerini evre 5 KBH hastalarında daha yüksek saptamışlar ve ileri evre KBH'da KIM-1'in, SDBY'ye ilerlemesi için bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir (3). Fareler üzerinde yapılan çalışmada KIM-1 proteininin sadece tübüllerde görüldüğü ve podositlerde görülmediği tespit edilmiştir. Ayrıca renal epitel hücrelerinde kronik KIM-1 ekspresyonunun doğrudan interstisyel inflamasyona ve ardından da progresif fibrotik hasarlanmaya neden olduğu gösterilmiştir. Hayvan deneylerinde tek taraflı üreteryal obstrüksiyon geliştirildiğinde, böbrek tübüllerinde sürekli KIM-1 ekspresyonunun, MCP-1 salgılanmasını artırdığı ve bununla fibrozis gelişimine neden olduğu saptanmıştır (25). Mirjan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada KIM-1'in KBH ve renal fibrozis gelişiminde rol oynadığını tespit etmişlerdir (93). Yapılan çok sayıda çalışmada idrarda KIM-1 düzeyi ölçülmüştür. Birçok çalışmada idrarda KIM-1 seviyesinin yüksek saptanmasının, KBH prognozu ile yüksek düzeyde korelasyonu olduğu gösterilmiştir (22, 23). Sushrut ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Chronic Renal Insufficiency (CRIC) grubunda düşük eGFH ile idrarda yüksek KIM-1 seviyeleri arasında ilişki saptanmıştır. Bunun sebebi olarak CRIC çalışmasında evre 3, evre 4 ve evre 5 KBH hastalarının daha fazla olmasına bağlı olabileceğini ifade etmişlerdir (22). Lesley ve arkadaşları KIM-1'in KBH'nın idrar biyomarkeri olarak kullanılabileceğini ve KBH'nın noninvaziv yöntemle erken teşhis edilmesine olanak sağladığını göstermişlerdir (21). Çalışmamızda tüm KBH evrelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KIM-1 düzeyi anlamlı derecede yüksek saptandı. KIM-1 ile CRP arasında negatif yönde çok zayıf ama istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir korelasyon vardı ($r=-0,182$ $p=0,049$, Tablo 11) ancak kan basınçları, kreatinin, eGFR ya da proteinüri düzeyleri ile bir korelasyonu yoktu. Bu bulgular normal kreatinin ve eGFH olan evre 1 KBH'sı olan hastalarda bile plazma KIM-1'in renal hasarın erken göstergesi olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada idrarda bakılan KIM-1 düzeyinin hipertansiyona bağlı böbrek hasarını gösteren bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (20). Ancak bizim çalışmaya alınan hastaları HT nefropatiye bağlı KBH ve diğer olarak gruplandırarak yaptığımız analizde, plazma KIM-1 seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptamadık ($p>0.05$). Bu da bize KIM-1'in tüm etyolojik nedenlere bağlı KBH hastalarında benzer şekillerde artış

gösterdiğini düşündürmüştür. Çalışma sonuçlarımız plazma KIM-1 seviyesinin HT'a bağlı nefropatide idrar KIM-1 düzeyi gibi ayırt edici bir biyobelirteç olmadığını düşündürmektedir.

Gou ve arkadaşları yaptıkları çalışmada epitel hücrelerinde yüksek glikoza maruz kalındığında apoptotik hücre sayısının önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir. Bunun sonucunda yüksek glikozun hem otofajik hem de pro-apoptotik etkilere sahip olduğunu tespit etmişlerdir (27). Xueying ve arkadaşları yaptığı çalışmada KIM-1'in diyabetik böbrek hastalığında glomerüler epitel hücrelerinde eksprese edildiğini ortaya koymuşlardır. Glomerüler KIM-1 pozitif hücrelerin diyabetin erken aşamalarında Bowman kapsülünün hiperplastik paryetal epitelinde lokalize olduğunu, hastalığın ilerlemesi ve masif proteinüri ile glomerüler alanda KIM-1 pozitif hücrelerin sayısında önemli bir artış olduğunu görmüşlerdir. Hasarlı glomerüllerde glomerüler KIM-1 indüksiyonu ve podosit kaybı arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir (28). Bizim çalışmamızda da KBH olan hastalarda plazma KIM-1 düzeyi yüksek bulunmuştur ancak çalışma grubundaki KBH hastalarımızı DN'ye bağlı KBH ve diğerleri olarak gruplara ayrılarak yapılan alt grup analizinde plazma KIM-1 düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığını saptadık ($p>0.05$). Bu da bize plazma KIM-1 düzeyinin etyolojik nedenlerden bağımsız olarak renal hasarlanma gelişen tüm hastalarda yükseklebileceğini düşündürmüştür.

İki bağımsız laboratuvar tarafından yapılan çalışmada, sadece IgA nefropatisi olan hastalarda KIM-1'in, proteinüri ve tübülointerstisyel hasarlanmada daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. KIM-1'in KBH'nın güçlü bir göstergesi olduğunu göstermişlerdir (94, 95). Yapılan başka bir çalışmada, IgA nefropatisinin progresyonunda, dokuda daha yüksek KIM-1 seviyesinin hastalığın daha ciddi ve hızlı progrese olması ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (96). Anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar (ANCA) ile ilişkili glomerülonefrit ile yapılan bir çalışmada ise idrardaki hem KIM-1 hem de MCP-1 seviyelerinin inflamasyonu yansıtabileceğini belirtmişlerdir (97). Hastalarımızın çoğunun DM ve HT tanıları olup, glomerülonefrit hastalığı olan beş hastamız vardı. Çalışmamızdaki glomerülonefritli hasta sayımızın az olmasından dolayı bu hasta grubu istatistiksel olarak değerlendirmeye katılmamıştır.

MMP'lerin böbrek hastalığındaki rolü yoğun olarak çalışılmıştır. Jeffrey ve arkadaşları MMP'lerin renal fibrozisin başlamasında ve progresyonunda rol oynadığını göstermişlerdir (5). Bazı çalışmalarda MMP'lerin akut böbrek hasarında ve glomerülonefritlerde fibrozis üzerindeki etkisine dikkat çekilmiştir (98-100).

Krystyna ve arkadaşları yaptıkları çalışmada KBH hastaları ve sağlıklı kontrol grubunun plazma MMP-2 seviyeleri arasında anlamlı farklılık saptamamışlar (101) ancak birçok farklı çalışmada KBH hastalarında plazma MMP-2 seviyelerini sağlıklı kontrol grubundakilere göre yüksek olarak tespit etmişlerdir (102-104). Bizim çalışmamızda da çoğu literatürle uyumlu şekilde MMP-2 sayısal olarak tüm evrelerde kontrol grubundan yüksekti ancak evre 3 ve 4'de bu yükseklik istatistiksel anlamlılığa ulaşamazken, evre 1, 2 ve 5'de istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,010$ $p=0,026$ $p=0,006$). Fareler üzerine yapılan çalışmada MMP-2'ye özgü inhibisyonun renal fibrozisin tedavisi için bir seçenek olabileceği savunulmaktadır (105). Bu nedenle plazma MMP-2'nin KBH etyolojisinden bağımsız olarak renal hasarın göstergesi olabileceğini düşünmekteyiz.

Fareler üzerine yapılan çalışmada MMP-2'ye özgü inhibisyonun renal fibrozisin tedavisi için bir seçenek olabileceği savunulmaktadır (105). Bu nedenle plazma MMP-2'nin KBH etyolojisinden bağımsız olarak renal hasarın göstergesi olabileceğini düşünmekteyiz.

Yasmin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hipertansif hasta grubunda kontrol grubuna göre plazma MMP-2 seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu göstermişlerdir (106). Ryan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada normotansif ve hipertansif hastalar arasında plazma MMP-2 seviyelerinde anlamlı düzeyde farklılık olmadığını göstermişlerdir. Ancak plazma MMP-2 seviyelerini, hipertansif SDBY'i olan hastalarda, hem esansiyel hipertansif hem de kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulmuşlardır (107). Çalışmamıza alınan hastalar, HT nefropatiye bağlı KBH ve diğer olarak gruplandırarak yaptığımız istatistiksel analizde plazma MMP-2 seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptamadık ($p>0.05$). Bu veriler ışığında plazma MMP-2 düzeylerinin KBH olan hastalarda hipertansiyon varlığından bağımsız olarak renal fibrozisin bir göstergesi olabileceğini düşündürmesinin yanında, hipertansif nefropati hastalarımız dışındaki gruplardaki

hastaların birçoğunda da ek olarak HT olması, plazma MMP-2 düzeylerinde belirgin bir farklılığın ortaya çıkmasını engellediğini düşünmekteyiz. Ancak bunu desteklemek için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan birçok çalışmada ise DM'li hastalarda kontrol grubuna göre plazma MMP-2 seviyeleri yüksek saptanmış (108-110). Benzer sonuçlar, tip 1 DM'li çocuk ve ergenlerde Derosa ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Mikroanjiyopatik komplikasyonları olan hastalarda MMP-2 düzeylerinin, kontrol grubundaki ve komplikasyonsuz hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (111). Bizim çalışmamızda da KBH olan hastalarda plazma MMP-2 düzeyi kontrol grubunda yüksek bulunmuştur ancak çalışma grubundaki KBH hastalarımızı DN'ye bağlı KBH ve diğerleri olarak gruplara ayrılarak yapılan alt grup analizinde plazma MMP-2 düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığını saptadık ($p>0.05$). Bu da bize plazma MMP-2 düzeyinin etyolojik nedenlerden bağımsız olarak renal hasarlanma gelişen tüm hastalarda yükselebileceğini düşündürmüştür.

Alexandra ve arkadaşları çalışmalarında iki farklı kalsiyum kanal blokörü kullanan hastalarda plazma MMP-2 seviyelerini incelemişlerdir. Plazma MMP-2 seviyelerinin felodipin ile yükseldiğini, diltiazem ile yükselmediğini tespit etmişlerdir (112). Kalp fibroblastları üzerinde yapılan çalışmada nifedipinin MMP-2 aktivitesini artırdığını, amlodipinin doza bağımlı şekilde MMP-2 aktivitesini azalttığını, diltiazem ve verapamilin MMP-2 aktivitesini değiştirmede gösterilmiştir (113). Bir başka çalışmada ise verapamilin MMP-2 aktivitesinde, hipertansiyona bağlı gelişen oksidatif stres ve matür TGF- β seviyelerindeki artışları azalttığını saptamışlardır (114). Çalışmamızda hastalarımızı kalsiyum kanal blokörü kullanan ve kullanmayan olarak gruplandırarak yaptığımız istatistiksel analizde kalsiyum kanal blokörü kullanan grupta plazma MMP-2 değerlerini anlamlı düzeyde düşük bulduk ($p<0.05$, Tablo 16). Literatürdeki çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar elde edilmesi, çalışmalarda incelenen kalsiyum kanal blokörlerinin farklı grup ve farklı vasküler selektivitelere sahip olmalarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bizim çalışma grubumuzdaki hastaların çoğu vasküler selektivitesi yüksek üçüncü ve dördüncü nesil kalsiyum kanal blokörü kullandığı için, MMP-2 seviyelerinin düşük saptandığını düşünüyoruz.

Yapılan birçok farklı çalışmada KBH alt grupları ve kontrol grupları arasında plazma MMP-9 seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (101, 103). Ancak KBH'lı çocuklar üzerinde yapılan çalışmada plazma MMP-9 seviyesini kontrol grubuna göre daha yüksek saptamışlardır (104). Çalışmamızda KBH hastalarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık sağlanamasa da plazma MMP-9 değerlerini yüksek saptadık ($p>0.05$).

Hipertansif hastalar üzerinde yapılmış birçok çalışmada hipertansif hasta grubunda plazma MMP-9 seviyelerinin yüksek olduğu saptanmıştır (106, 107, 115). SDBY hastalarında kontrol grubuna ve hipertansif grubuna (diyabet veya aşırı proteinüri olmadan erken evre böbrek hastalığı ile birlikte şiddetli hipertansiyonu olan hastalar) göre plazma MMP-9 seviyelerininin yüksek olduğu gösterilmiştir (107). Yüksek normal kan basıncına sahip hastaların, normal kan basıncına sahip hastalara göre plazma MMP-9 seviyeleri önemli ölçüde yüksek saptanmıştır (116). Çalışmamızda hastalarımızı HT hastalığı olan ve olmayan, HT nefropatiye bağlı KBH ve diğer etyolojik nedenlere bağlı KBH alt gruplarına ayırarak yaptığımız istatistiksel analizlerde plazma MMP-9 seviyelerinin gruplar arasında anlamlı bir farklılığa ulaşmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Çalışma grubumuzdaki hastaları kan basıncı kontrol değerlerine göre incelenemediğinden plazma MMP-9 seviyesindeki değişikliğin net olarak aydınlatılması için daha ileri randomize çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Szu-Yuan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada diyabetik hastalarda mikroalbüminüri başlangıcından önce idrar MMP-9'un yükseldiğini göstermişlerdir (117). Bir başka çalışmada da mikroalbüminürisi olan DM hastalarında plazma MMP-9 seviyesinin sağlıklı kontrol grubuna göre yükseldiği gösterilmiştir (118). Çalışmamızda DN'ye bağlı KBH ve diğer olarak gruplandırarak yaptığımız istatistiksel analizde plazma MMP-9 seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptamadık ($p>0.05$). Bu nedenle KBH hastalarında plazma MMP-9'un DN'yi diğer etyolojilerden ayırt etmede bir biyobelirteç olarak kullanılamayacağını düşünmekteyiz.

TIMP'ler de pro-MMP'lerin aktivasyonunda önemli bir role sahiptir. TIMP'lerin MMP'ler üzerinde iki yönlü etkisi olduğu düşünülmektedir; hem

MMP'lerin aktivasyonunu inhibe edebilirler hem de MMP'lerin aktivasyonunu arttırabilirler. Yapılan bir çalışmada TIMP-2'nin MMP-2 aktivitesini inhibe etmenin yanında düşük konsantrasyonda MMP-2 aktivasyonu için gerekli olduğu gösterilmiştir (119).

Kinga ve Danuta yaptıkları çalışmada plazma TIMP-1 seviyelerini KBH grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek saptamışlardır (104). HD hastaları üzerinde yapılan çalışmada ise plazma TIMP-1 düzeyinde, HD öncesi ve sonrası değerleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (120). Farklı bir çalışmada plazma TIMP-1 değerleri HD öncesinde artmış olarak tespit edilmiştir (121). Li-Che ve arkadaşları ise üremik hastalarda plazmadaki TIMP-1 seviyelerini HD sonrasında artmış olarak saptamışlardır (122). Çalışmamızda KBH ve kontrol grubu arasında plazma TIMP-1 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptamadık ($p>0.05$). Literatürdeki saptanmış olan TIMP-1 seviyeleri ve KBH evreleri arasındaki farklı sonuçlar, bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Kinga ve Danuta yaptığı çalışmada KBH'lı çocuklarda kontrol grubuna göre artmış plazma TIMP-2 seviyeleri tespit etmiş ve böbrek yetmezliğinin ilerlemesiyle TIMP-2 seviyelerinin yükseldiğini göstermişlerdir (104). Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak KBH tanılı hastalarda kontrol grubuna kıyasla plazma TIMP-2 düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptadık ($p<0.001$). Bu sonuçlarla plazma TIMP-2 düzeyinin renal hasarın bir göstergesi olabileceği ve erken dönemlerde de bir belirteç olarak kullanılabileceği kanısını oluşturmaktadır. Ancak kreatinin, eGFH ya da evre ile TIMP-2 arasında bir korelasyon saptanmamıştır. Yalnızca spot idrar protein/kreatin düzeyi ile TIMP-2 arasında pozitif yönde çok zayıf ama istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptandı.

Derosa ve arkadaşları yaptıkları çalışmada DM (kreatini yüksek hastalar dışlanmış) olan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre plazma TIMP-2 seviyelerini yüksek saptamışlardır (109). Tip 1 DM çocuklar üzerinde yapılmış çalışmada ise DM grubunda kontrol grubuna göre plazma TIMP-2 seviyelerini yüksek saptamışlar (123). Hastalarımızı DN'ye bağlı KBH ve diğer olarak gruplandırarak yaptığımız analizlerde plazma TIMP-2 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptadık ($p<0.05$). DN grubunda HT nefropatiye bağlı KBH'a göre plazma TIMP-2

değerlerini daha düşük saptadık. Plazma TIMP-2 düzeyinin DN'deki önemini aydınlatmak yeterli veri olmadığından ve TIMP-2'nin fibrozis sürecinde değişken rol oynamasından dolayı ileri çalışmalara gerek olduğu düşünülmektedir.

Nefrin, podositte spesifik olarak eksprese edildiği saptanan ilk transmembran globülüdür ve septumun morfolojisinin korunmasında önemli bir rol oynar (73). Böbrekte nefrin ekspresyonu podositlere özgüdür ve yarık diyaframda bulunur (124, 125). İdrarda nefrin düzeyinin yüksekliği podosit hasarının erken bir işareti olarak kabul edilebilir (74).

Literatür incelendiğinde, insanlarda üriner nefrin ölçümlerinin üç klinik durumda bakıldığı görüldü: diyabetik nefropati, glomerülonefrit ve preeklamsi (126). Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada DN ve kontrol grubunda mRNA ekspresyonu ile ölçülen üriner nefrin seviyelerinin proteinüri ile ilişkili olduğunu, ancak eGFH ile ilişkili olmadığını bulmuşlardır (127). Jonathan ve arkadaşları DM ve kontrol grubu arasında yaptıkları çalışmada idrar nefrinini ölçmek için mRNA RT-PCR kullanmışlardır. İdrar nefrininin diyabetiklerde diyabetik olmayanlara göre daha yüksek olduğunu ve artan albüminüri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (128). Başka bir çalışmada nefropatisi olan veya olmayan tip 1 diyabetiklerin idrarında immünohistokimya ve western blot teknikleri kullanılarak nefrin fragmanlarının varlığı gösterilmiştir (74). Belinda ve arkadaşları diyabetik nefropati için böbrek biyopsilerinde podosit ve nefrinin istatistiksel olarak anlamlı derecede downregülasyonunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, idrardaki albümin miktarına dayanan çalışma grubunun analizinde, mikro ve makroalbüminüri diyabetik hastaların %100'ünde ve normoalbüminüri hastaların %54'ünde nefrinüri olduğu gösterilmiştir (129). Proletov ve arkadaşları ise biyopsi ile kanıtlanmış primer glomerülonefriti olan hastalarda ELISA yöntemi kullanarak idrar nefrin atılımının günlük proteinüri seviyesi ile pozitif yönde korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır. Podosit hasarının derecesi ne kadar şiddetli olursa proteinüri seviyesinin o kadar ağır olduğunu göstermişlerdir (130). Benzer başka bir çalışmada, kronik glomerülonefritli hastalarda idrar nefrin seviyeleri ölçülmüş, idrar nefrin seviyesinin hastalığın ciddiyeti ve proteinüri ile pozitif bir korelasyon gösterdiği saptanmıştır (131). Birçok farklı preeklamsi hasta üzerinde yapılan çalışmada ise preeklamsi hastalarında üriner nefrin konsantrasyonlarının önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (132, 133).

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak KBH hastalarında idrarda nefrin düzeyini istatistiksel olarak yüksek saptadık ($p=0.005$). Ancak hastalarımızı DN ve diğer etyolojik nedenlere bağlı KBH olarak gruplandırdığımızda idrar nefrin düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptamadık ($p>0.05$).

Sushrut ve arkadaşları yaptıkları çalışmada idrarda KIM-1 düzeyinin, eGFH'si düşük olanlarda yüksek, ACEI/ARB kullananlarda düşük olduğunu görmüşlerdir. Ancak ACE/ARB kullananlardaki idrar KIM-1 düzeyinin düşük saptanmasının ACE/ARB kullanımından kaynaklanıp kaynaklanmadığını aydınlatmakta bu çalışmanın yeterli olmadığını belirtmektedirler (22). Nadège ve arkadaşları yaptıkları çalışmada fosinopril kullanan hastalarda plazma MMP-2 ve MMP-9 aktivitesinin inhibe olduğunu, irbesartan kullananlarda ise inhibe olmadığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada fosinopril ve irbesartan kullanan hastalarda TIMP-1 ve TIMP-2 seviyelerinin değişmediği gösterilmiştir (134). Başka bir çalışmada ise kaptoprilin MMP-2'nin aktivasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (135). Enapril'in hipertansif hastalarda kan basıncını düşürdüğü ancak plazma MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 aktivitesini değiştirmedeği görülmüştür (136). Çalışmamızdaki KBH hastalarının 60'ı ACEI/ARB kullanmaktaydı. Hastaları ACEI/ARB kullanımına göre gruplara ayırdık ve bu ilaçların kullanımının plazma KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 seviyeleri ve idrarda nefrin ile ilişkisini araştırdık. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık ($p>0.05$). ACEI/ARB grubu ilaçlar çok geniş bir yelpazeye sahip olup, her etken için ayrı ayrı çalışmalar yapılmasının daha doğru sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz.

Helen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada plazma KIM-1 seviyeleri ile idrar protein atılımı arasında pozitif korelasyon saptamışlardır (3). Sang ve arkadaşları streptozosin ile indükleyerek DM geliştirdikleri sıçanlarda yaptıkları çalışmada idrar protein atılımı ile glomerüler ve tübüler TIMP-2 protein ekspresyonları ile anlamlı bir pozitif korelasyon, MMP-2 ekspresyonu ile negatif korelasyon saptamışlardır (137). Peiskerová ve arkadaşları yaptıkları çalışmada KBH'lı hastalarda plazma MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinin proteinüri ile ilişkisi olmadığını göstermişlerdir (103). Yapılan bir başka çalışmada ise DN hastalarda, tek değişkenli analizler sonucunda, plazma MMP-2 ve proteinürinin bağımsız korelasyonları olduğunu ortaya koyulmuştur (138). Gang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada DN ve kontrol

grubunda mRNA ekspresyonu ile ölçülen üriner nefrin seviyelerinin proteinüri ile ilişkili olduğunu, ancak eGFH ile ilişkili olmadığını bulmuşlardır (127). Çalışmamızda ise plazma TIMP-1 ($r=0,206$ $p=0,020$), TIMP-2 ($r=0,178$ $p=0,045$) ve idrarda nefrin ($r=0,216$ $p=0,015$) ile proteinüri arasından pozitif yönde korelasyon saptadık($p<0.05$). Literatürle farklı bilgiler olmasına rağmen MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinde de pozitif korelasyon saptanmamıştır ($p>0.05$).



6. SONUÇ

Çalışmamızda çeşitli etyolojik nedenlere bağlı kronik böbrek yetmezliği gelişmiş hastalarda, kronik böbrek yetmezliği evrelerine göre endotel disfonksiyon belirteçleri ile tübüler ve glomerüler hasar ve bunların biyokimyasal belirteçleri arasındaki ilişkiyi değerlendirdik. Etiyolojik neden ve hastalığın evresi ile endotel hasarlanmasının böbrek fonksiyonları üzerine etkisini araştırdık. Bu amaçla daha önce yapılmış çalışmalarda böbrek hasar belirteçleri olarak kullanılan KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 ve nefrin düzeylerinin hastalığın evresi ve etyolojisiyle ilişkisini değerlendirdik. Sonuçta plazma KIM-1, MMP-2, MMP-9 TIMP-1, TIMP-2 ve idrarda nefrinin KBH etyolojisinden bağımsız olarak renal hasarın göstergesi olarak kullanılabileceğini gördük. DM ve HT'ye bağlı KBH'da plazma KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 seviyeleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Plazma TIMP-2'nin ise DN'de hipertansif nefropatiye göre daha düşük olduğunu gördük.

Çalışmamız çeşitli biyobelirteçlerin KBH ve KBH evreleri ile ilişkisini araştırmakta olup, bu konuda geniş kapsamlı in vitro ve in vivo daha fazla prospektif çalışmaya ihtiyacın olduğunu ortaya koymaktadır. Bulduğumuz sonuçlar aşağıda ayrıntılı olarak maddeler halinde belirtilmiştir.

1. Gruplar cinsiyet açısından homojendi ($p>0.05$). Kontrol grubunun yaş ortalaması 22 yıl, evre 1 KBH'nın yaş ortalaması 48 yıl, evre 2 KBH'nın yaş ortalaması 58 yıl, evre 3a KBH'nın yaş ortalaması 69 yıl, evre 3b KBH'nın yaş ortalaması 69 yıl, evre 4 KBH'nın yaş ortalaması 66 yıl, evre 5 KBH'nın yaş ortalaması 65 yıldır ($p<0.001$).
2. KBH grubunda kontrol grubuna göre sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı, spot idrar protein/kreatin, CRP, kalsiyum, fosfor değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldi (her biri için $p<0.05$).

3. KBH grubunda kontrol grubuna kıyasla plazma KIM-1, MMP-2, TIMP-2 ve idrarda nefrin seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti (**her biri için $p<0.05$**).
4. KBH grubunda kontrol grubuna kıyasla plazma MMP-9, TIMP-1 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık sağlamasada, KBH grubunda daha yüksek saptandı (**her biri için $p>0.05$**).
5. Hastaların DM ve/veya HT hastalığına sahip olmaları plazma KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 ve idrarda nefrin düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı (**her biri için $p>0.05$**).
6. DN sahip hastaların plazma TIMP-2 değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde HT nefropatiye göre düşük saptandı (**$p<0.05$**).
7. KIM-1 ile CRP ($r=-0,182$ $p=0,049$) ölçümleri arasında negatif yönde, TIMP-1 ile kreatin ($r=0,221$ $p=0,012$), spot idrar protein/kreatin ($r=0,206$ $p=0,020$) ölçümleri arasında pozitif yönde, TIMP-1 ile albümin ($r=-0,210$ $p=0,021$) ölçümleri arasında negatif yönde, TIMP-2 ile spot idrar protein/kreatin ($r=0,178$ $p=0,045$) ölçümleri arasında pozitif yönde, nefrin ile diyastolik kan basıncı ($r=0,183$ $p=0,039$) spot idrar protein/kreatin ($r=0,216$ $p=0,015$) ölçümleri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptandı (**her biri için $p<0.05$**).
8. ACEI/ARB kullanımı plazma KIM-1, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 ve idrarda nefrin düzeyleri arasında anlamlı farklılık yaratmazken (**her biri için $p>0.05$**), kalsiyum kanal blokörü kullanmayan grupta plazma MMP-2 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti (**$p<0.05$**).

7. KAYNAKLAR

1. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Kidney International Supplements 2013;3(1):5-14.
2. Sarioğlu S ÜM, Çamsarı T, Ersan S. Nefropatolojiye giriş. In: S S, editor. Nefropatoloji: Böbrek Hastalıkları ve Böbrek Transplantasyon Patolojisi İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2011. p. 2-35.
3. Alderson HV, Ritchie JP, Pagano S, Middleton RJ, Pruijm M, Vuilleumier N, et al. The Associations of Blood Kidney Injury Molecule-1 and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin with Progression from CKD to ESRD. Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN. 2016;11(12):2141-9.
4. Srisawat N, Kellum JA. The Role of Biomarkers in Acute Kidney Injury. Critical care clinics. 2020;36(1):125-40.
5. Catania JM, Chen G, Parrish AR. Role of matrix metalloproteinases in renal pathophysiologies. American journal of physiology Renal physiology. 2007;292(3):F905-11.
6. Minakawa A, Fukuda A, Kikuchi M, Sato Y, Sato Y, Kitamura K, et al. Urinary podocyte mRNA is a potent biomarker of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis. Clinical and experimental nephrology. 2020;24(3):242-52.
7. Gray's anatomy. 4 ed. Standring S, editor: churchill livingstone elsevier; 2008. 1225-42 p.
8. Elger KWaM. Renal Anatomy. In: Richarda J. Johnson JF, Jürgen Floege, editor. Comprehensive Clinical Nephrology. 1. Philadelphia: Elsevier; 2014. p. 2-13.
9. Mundel P, Shankland SJ. Podocyte biology and response to injury. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 2002;13(12):3005-15.
10. Lesley A. Inker LF, and Andrew S. Levey Assessment of Renal Function. In: Richarda J. Johnson JF, Jürgen Floege, editor. Comprehensive Clinical Nephrology. 1. Philadelphia: Elsevier; 2014. p. 30-8.
11. 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):1-266.
12. Süleymanlar G, Ateş K, Seyahi N. Türkiye'de nefroloji, diyaliz ve transplantasyon-registry 2019. http://www.nefroloji.org.tr/folders/file/registry_2019.pdf.
13. Khwaja MENaA. Epidemiology, Natural History, and Pathophysiology of Chronic Kidney Disease. In: Richarda J. Johnson JF, Jürgen Floege, editor. Comprehensive Clinical Nephrology. 1. Philadelphia: Elsevier; 2014. p. 916-30.
14. Wheeler. LATaDC. Clinical Evaluation and Management of Chronic Kidney In: Disease Richarda J. Johnson JF, Jürgen Floege, editor. Comprehensive Clinical Nephrology. 1. Philadelphia: Elsevier; 2014. p. 942-9.
15. Becker, G.J. and K.F. Fairley, Urinalysis, in Textbook of Nephrology, S.G. Massr and R.J. Glassock, Editors. 2001;1765-1783. .
16. Böbrek Fizyolojisi <https://www.nefroloji.org.tr/folders/file/bobrek-fizyopatolojisi-kitabi.pdf2017>.

17. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *The Journal of biological chemistry*. 1998;273(7):4135-42.
18. Santiago C, Ballesteros A, Tami C, Martínez-Muñoz L, Kaplan GG, Casasnovas JM. Structures of T Cell immunoglobulin mucin receptors 1 and 2 reveal mechanisms for regulation of immune responses by the TIM receptor family. *Immunity*. 2007;26(3):299-310.
19. Wong K, Valdez PA, Tan C, Yeh S, Hongo JA, Ouyang W. Phosphatidylserine receptor Tim-4 is essential for the maintenance of the homeostatic state of resident peritoneal macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(19):8712-7.
20. Hosohata K. Biomarkers for chronic kidney disease associated with high salt intake. *Int J Mol Sci* 2017 Oct; 18(10): 2080. 2017.
21. Gardiner L, Akintola A, Chen G, Catania JM, Vaidya V, Burghardt RC, et al. Structural equation modeling highlights the potential of Kim-1 as a biomarker for chronic kidney disease. *American journal of nephrology*. 2012;35(2):152-63.
22. Waikar SS, Sabbiseti V, Ärnlöv J, Carlsson AC, Coresh J, Feldman HI, et al. Relationship of proximal tubular injury to chronic kidney disease as assessed by urinary kidney injury molecule-1 in five cohort studies. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2016;31(9):1460-70.
23. Carter JL, Parker CT, Stevens PE, Eaglestone G, Knight S, Farmer CK, et al. Biological Variation of Plasma and Urinary Markers of Acute Kidney Injury in Patients with Chronic Kidney Disease. *Clinical chemistry*. 2016;62(6):876-83.
24. Song J, Yu J, Prayogo GW, Cao W, Wu Y, Jia Z, et al. Understanding kidney injury molecule 1: a novel immune factor in kidney pathophysiology. *American journal of translational research*. 2019;11(3):1219-29.
25. Humphreys BD, Xu F, Sabbiseti V, Grgic I, Movahedi Naini S, Wang N, et al. Chronic epithelial kidney injury molecule-1 expression causes murine kidney fibrosis. *The Journal of clinical investigation*. 2013;123(9):4023-35.
26. Lin Q, Chen Y, Lv J, Zhang H, Tang J, Gunaratnam L, et al. Kidney injury molecule-1 expression in IgA nephropathy and its correlation with hypoxia and tubulointerstitial inflammation. *American journal of physiology Renal physiology*. 2014;306(8):F885-95.
27. Gou R, Chen J, Sheng S, Wang R, Fang Y, Yang Z, et al. KIM-1 Mediates High Glucose-Induced Autophagy and Apoptosis in Renal Tubular Epithelial Cells. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2016;38(6):2479-88.
28. Zhao X, Zhang Y, Li L, Mann D, Imig JD, Emmett N, et al. Glomerular expression of kidney injury molecule-1 and podocytopenia in diabetic glomerulopathy. *American journal of nephrology*. 2011;34(3):268-80.
29. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation research*. 2003;92(8):827-39.
30. García-Pardo AvO, G. . Nonproteolytic functions of matrix metalloproteinases in pathology and insights for the development of novel therapeutic inhibitors. *Metalloproteinases In Medicine*. 2015;2:19-28.

31. Piccard H, Van den Steen PE, Opdenakker G. Hemopexin domains as multifunctional liganding modules in matrix metalloproteinases and other proteins. *Journal of leukocyte biology*. 2007;81(4):870-92.
32. Wiercinska E, Naber HP, Pardali E, van der Pluijm G, van Dam H, ten Dijke P. The TGF- β /Smad pathway induces breast cancer cell invasion through the up-regulation of matrix metalloproteinase 2 and 9 in a spheroid invasion model system. *Breast cancer research and treatment*. 2011;128(3):657-66.
33. Li L, Tan J, Zhang Y, Han N, Di X, Xiao T, et al. DLK1 promotes lung cancer cell invasion through upregulation of MMP9 expression depending on Notch signaling. *PloS one*. 2014;9(3):e91509.
34. Tang X, Zhang J, Cai DH, Zeng L. [Effect of high glucose exposure on connective tissue growth factor expression in cultured human renal tubular epithelial cells and the role of p38MAPK pathway]. *Nan fang yi ke da xue xue bao = Journal of Southern Medical University*. 2009;29(1):50-3.
35. Yong HY, Kim IY, Kim JS, Moon A. ErbB2-enhanced invasiveness of H-Ras MCF10A breast cells requires MMP-13 and uPA upregulation via p38 MAPK signaling. *International journal of oncology*. 2010;36(2):501-7.
36. Jing SW, Wang YD, Kuroda M, Su JW, Sun GG, Liu Q, et al. HIF-1 α contributes to hypoxia-induced invasion and metastasis of esophageal carcinoma via inhibiting E-cadherin and promoting MMP-2 expression. *Acta medica Okayama*. 2012;66(5):399-407.
37. Cheng Z, Limbu MH, Wang Z, Liu J, Liu L, Zhang X, et al. MMP-2 and 9 in Chronic Kidney Disease. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(4).
38. Vielhauer V, Mayadas TN. Functions of TNF and its receptors in renal disease: distinct roles in inflammatory tissue injury and immune regulation. *Seminars in nephrology*. 2007;27(3):286-308.
39. Yeo ES, Hwang JY, Park JE, Choi YJ, Huh KB, Kim WY. Tumor necrosis factor (TNF- α) and C-reactive protein (CRP) are positively associated with the risk of chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes. *Yonsei medical journal*. 2010;51(4):519-25.
40. Han YP, Tuan TL, Wu H, Hughes M, Garner WL. TNF- α stimulates activation of pro-MMP2 in human skin through NF-(kappa)B mediated induction of MT1-MMP. *Journal of cell science*. 2001;114(Pt 1):131-9.
41. Fu C, Xie J, Chen R, Wang C, Xu C, Chen C, et al. [Effect of titanium particles and TNF- α on the gene expression and activity of MMP-1, 2, 3 in human knee joint synovial cells]. *Sheng wu yi xue gong cheng xue za zhi = Journal of biomedical engineering = Shengwu yixue gongchengxue zazhi*. 2013;30(5):1022-6.
42. Wang Y, Tang Z, Xue R, Singh GK, Shi K, Lv Y, et al. Combined effects of TNF- α , IL-1 β , and HIF-1 α on MMP-2 production in ACL fibroblasts under mechanical stretch: an in vitro study. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2011;29(7):1008-14.
43. Roy S, Samanta K, Chakraborti T, Chowdhury A, Chakraborti S. Role of TGF- β 1 and TNF- α in IL-1 β mediated activation of proMMP-9 in pulmonary artery smooth muscle cells: involvement of an aprotinin sensitive protease. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2011;513(1):61-9.
44. Gonzalez J, Mouttalib S, Delage C, Calise D, Maoret JJ, Pradère JP, et al. Dual effect of chemokine CCL7/MCP-3 in the development of renal tubulointerstitial

- fibrosis. *Biochemical and biophysical research communications*. 2013;438(2):257-63.
45. Murea M, Register TC, Divers J, Bowden DW, Carr JJ, Hightower CR, et al. Relationships between serum MCP-1 and subclinical kidney disease: African American-Diabetes Heart Study. *BMC nephrology*. 2012;13:148.
 46. Ito Y, Ishiguro H, Kobayashi N, Hasumi H, Watanabe M, Yao M, et al. Adipocyte-derived monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) promotes prostate cancer progression through the induction of MMP-2 activity. *The Prostate*. 2015;75(10):1009-19.
 47. Yang CQ, Li W, Li SQ, Li J, Li YW, Kong SX, et al. MCP-1 stimulates MMP-9 expression via ERK 1/2 and p38 MAPK signaling pathways in human aortic smooth muscle cells. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2014;34(2):266-76.
 48. Westermann D, Savvatis K, Lindner D, Zietsch C, Becher PM, Hammer E, et al. Reduced degradation of the chemokine MCP-3 by matrix metalloproteinase-2 exacerbates myocardial inflammation in experimental viral cardiomyopathy. *Circulation*. 2011;124(19):2082-93.
 49. McQuibban GA, Gong JH, Tam EM, McCulloch CA, Clark-Lewis I, Overall CM. Inflammation dampened by gelatinase A cleavage of monocyte chemoattractant protein-3. *Science (New York, NY)*. 2000;289(5482):1202-6.
 50. Peralta CA, Katz R, Shlipak M, Dubin R, DeBoer I, Jenny N, et al. Kidney function decline in the elderly: impact of lipoprotein-associated phospholipase A(2). *American journal of nephrology*. 2011;34(6):512-8.
 51. Wang Y, Li SS, Na SP, Yu CY, Ji Y, Zhao SL, et al. Characterization of Lipoprotein-associated Phospholipase A2 in Serum in Patients With Stage 3-5 Chronic Kidney Disease. *The American journal of the medical sciences*. 2016;352(4):348-53.
 52. Lu W, Liu S, Zhao Z, Liu Y, Li T. The effect of connective tissue growth factor on renal fibrosis and podocyte injury in hypertensive rats. *Renal failure*. 2014;36(9):1420-7.
 53. Qian Y, Peng K, Qiu C, Skibba M, Huang Y, Xu Z, et al. Novel Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor Attenuates Angiotensin II-Induced Kidney Fibrosis. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2016;356(1):32-42.
 54. Kellenberger T, Marcussen N, Nyengaard JR, Wogensen L, Jespersen B. Expression of hypoxia-inducible factor-1 α and hepatocyte growth factor in development of fibrosis in the transplanted kidney. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2015;28(2):180-90.
 55. Lekushi K. TY, Azuma J., Sanada F., Dosaka N., Okayama K. . Hepatocyte growth factor attenuates renal fibrosis through myofibroblasts anoikis induced by FAK/MMP activation. *Circulation*. 2009;120:1054-5.
 56. Zhao H, Dong Y, Tian X, Tan TK, Liu Z, Zhao Y, et al. Matrix metalloproteinases contribute to kidney fibrosis in chronic kidney diseases. *World journal of nephrology*. 2013;2(3):84-9.
 57. Levi E, Fridman R, Miao HQ, Ma YS, Yayon A, Vlodavsky I. Matrix metalloproteinase 2 releases active soluble ectodomain of fibroblast growth factor

- receptor 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996;93(14):7069-74.
58. Ronco P, Lelongt B, Piedagnel R, Chatziantoniou C. Matrix metalloproteinases in kidney disease progression and repair: a case of flipping the coin. *Seminars in nephrology*. 2007;27(3):352-62.
 59. Xue H, Chen L, Fan JM, Li Z. [Role of MMP-9 and TIMP-1 in renal tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation]. *Sichuan da xue xue bao Yi xue ban = Journal of Sichuan University Medical science edition*. 2008;39(1):34-8.
 60. Curello S, Ceconi C, de Giuli F, Panzali AF, Milanesi B, Calarco M, et al. Oxidative stress during reperfusion of human hearts: potential sources of oxygen free radicals. *Cardiovascular research*. 1995;29(1):118-25.
 61. Tobar N, Villar V, Santibanez JF. ROS-NFkappaB mediates TGF-beta1-induced expression of urokinase-type plasminogen activator, matrix metalloproteinase-9 and cell invasion. *Molecular and cellular biochemistry*. 2010;340(1-2):195-202.
 62. Valentin F, Bueb JL, Kieffer P, Tschirhart E, Atkinson J. Oxidative stress activates MMP-2 in cultured human coronary smooth muscle cells. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2005;19(6):661-7.
 63. Zhong Y, Zhang X, Cai X, Wang K, Chen Y, Deng Y. Puerarin attenuated early diabetic kidney injury through down-regulation of matrix metalloproteinase 9 in streptozotocin-induced diabetic rats. *PloS one*. 2014;9(1):e85690.
 64. Pulido-Olmo H, García-Prieto CF, Álvarez-Llamas G, Barderas MG, Vivanco F, Arangué I, et al. Role of matrix metalloproteinase-9 in chronic kidney disease: a new biomarker of resistant albuminuria. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2016;130(7):525-38.
 65. Stetler-Stevenson WG. The tumor microenvironment: regulation by MMP-independent effects of tissue inhibitor of metalloproteinases-2. *Cancer metastasis reviews*. 2008;27(1):57-66.
 66. Hernandez-Barrantes S, Toth M, Bernardo MM, Yurkova M, Gervasi DC, Raz Y, et al. Binding of active (57 kDa) membrane type 1-matrix metalloproteinase (MT1-MMP) to tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2 regulates MT1-MMP processing and pro-MMP-2 activation. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(16):12080-9.
 67. Strongin AY, Collier I, Bannikov G, Marmer BL, Grant GA, Goldberg GI. Mechanism of cell surface activation of 72-kDa type IV collagenase. Isolation of the activated form of the membrane metalloprotease. *The Journal of biological chemistry*. 1995;270(10):5331-8.
 68. Bourboulia D, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion. *Seminars in cancer biology*. 2010;20(3):161-8.
 69. Fornoni A, Jeon J, Varona Santos J, Cobianchi L, Jauregui A, Inverardi L, et al. Nephrin is expressed on the surface of insulin vesicles and facilitates glucose-stimulated insulin release. *Diabetes*. 2010;59(1):190-9.
 70. Kapodistria K, Tsilibary EP, Politis P, Moustardas P, Charonis A, Kitsiou P. Nephrin, a transmembrane protein, is involved in pancreatic beta-cell survival signaling. *Molecular and cellular endocrinology*. 2015;400:112-28.

71. Jeon J, Leibiger I, Moede T, Walter B, Faul C, Maiguel D, et al. Dynamin-mediated Nephrin phosphorylation regulates glucose-stimulated insulin release in pancreatic beta cells. *The Journal of biological chemistry*. 2012;287(34):28932-42.
72. Denhez B, Geraldes P. Regulation of Nephrin Phosphorylation in Diabetes and Chronic Kidney Injury. *Advances in experimental medicine and biology*. 2017;966:149-61.
73. Kestilä M, Lenkkeri U, Männikkö M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein--nephrin--is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Molecular cell*. 1998;1(4):575-82.
74. Pätäri A, Forsblom C, Havana M, Taipale H, Groop PH, Holthöfer H. Nephrinuria in diabetic nephropathy of type 1 diabetes. *Diabetes*. 2003;52(12):2969-74.
75. Sato Y, Wharram BL, Lee SK, Wickman L, Goyal M, Venkatareddy M, et al. Urine podocyte mRNAs mark progression of renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2009;20(5):1041-52.
76. Fukuda A, Wickman LT, Venkatareddy MP, Wang SQ, Chowdhury MA, Wiggins JE, et al. Urine podocin:nephrin mRNA ratio (PNR) as a podocyte stress biomarker. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2012;27(11):4079-87.
77. Patrakka J, Tryggvason K. Nephrin--a unique structural and signaling protein of the kidney filter. *Trends in molecular medicine*. 2007;13(9):396-403.
78. Jones N, New LA, Fortino MA, Eremina V, Ruston J, Blasutig IM, et al. Nck proteins maintain the adult glomerular filtration barrier. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2009;20(7):1533-43.
79. Li X, Chuang PY, D'Agati VD, Dai Y, Yacoub R, Fu J, et al. Nephrin Preserves Podocyte Viability and Glomerular Structure and Function in Adult Kidneys. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2015;26(10):2361-77.
80. Quack I, Woznowski M, Potthoff SA, Palmer R, Königshausen E, Sivritas S, et al. PKC alpha mediates beta-arrestin2-dependent nephrin endocytosis in hyperglycemia. *The Journal of biological chemistry*. 2011;286(15):12959-70.
81. Jones N, Blasutig IM, Eremina V, Ruston JM, Bladt F, Li H, et al. Nck adaptor proteins link nephrin to the actin cytoskeleton of kidney podocytes. *Nature*. 2006;440(7085):818-23.
82. Verma R, Kovari I, Soofi A, Nihalani D, Patrie K, Holzman LB. Nephrin ectodomain engagement results in Src kinase activation, nephrin phosphorylation, Nck recruitment, and actin polymerization. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(5):1346-59.
83. New LA, Martin CE, Scott RP, Platt MJ, Keyvani Chahi A, Stringer CD, et al. Nephrin Tyrosine Phosphorylation Is Required to Stabilize and Restore Podocyte Foot Process Architecture. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2016;27(8):2422-35.
84. Harita Y, Kurihara H, Kosako H, Tezuka T, Sekine T, Igarashi T, et al. Phosphorylation of Nephrin Triggers Ca²⁺ Signaling by Recruitment and Activation of Phospholipase C- γ 1. *The Journal of biological chemistry*. 2009;284(13):8951-62.

85. Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*. 2007;129(7):1261-74.
86. Canaud G, Bienaimé F, Viau A, Treins C, Baron W, Nguyen C, et al. AKT2 is essential to maintain podocyte viability and function during chronic kidney disease. *Nature medicine*. 2013;19(10):1288-96.
87. Huber TB, Hartleben B, Kim J, Schmidts M, Schermer B, Keil A, et al. Nephrin and CD2AP associate with phosphoinositide 3-OH kinase and stimulate AKT-dependent signaling. *Molecular and cellular biology*. 2003;23(14):4917-28.
88. Zhu J, Sun N, Aoudjit L, Li H, Kawachi H, Lemay S, et al. Nephrin mediates actin reorganization via phosphoinositide 3-kinase in podocytes. *Kidney international*. 2008;73(5):556-66.
89. SÜLEYMANLAR G. Kronik Böbrek Hastalığı ve Yetmezliği: Tanımı, Evreleri ve Epidemiyolojisi. *Türkiye Klin J Int Med Sci*. 2007;3:38.
90. Süleymanlar G, Utaş C, Arinsoy T, Ateş K, Altun B, Altıparmak MR, et al. A population-based survey of Chronic REnal Disease In Turkey--the CREDIT study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2011;26(6):1862-71.
91. Plantinga LC, Boulware LE, Coresh J, Stevens LA, Miller ER, 3rd, Saran R, et al. Patient awareness of chronic kidney disease: trends and predictors. *Archives of internal medicine*. 2008;168(20):2268-75.
92. Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2009;24(11):3265-8.
93. van Timmeren MM, van den Heuvel MC, Bailly V, Bakker SJ, van Goor H, Stegeman CA. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *The Journal of pathology*. 2007;212(2):209-17.
94. Peters HP, Waanders F, Meijer E, van den Brand J, Steenbergen EJ, van Goor H, et al. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of end-stage renal disease in patients with IgA nephropathy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2011;26(11):3581-8.
95. Xu PC, Zhang JJ, Chen M, Lv JC, Liu G, Zou WZ, et al. Urinary kidney injury molecule-1 in patients with IgA nephropathy is closely associated with disease severity. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2011;26(10):3229-36.
96. Kwon SH, Park MY, Jeon JS, Noh H, Choi SJ, Kim JK, et al. KIM-1 expression predicts renal outcomes in IgA nephropathy. *Clinical and experimental nephrology*. 2013;17(3):359-64.
97. Bulanov NM, Serova AG, Kuznetsova EI, Bulanova ML, Novikov PI, Kozlovskaya LV, et al. [Kidney injury molecules (KIM-1, MCP-1) and type IV collagen in the assessment of activity of antineutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis]. *Terapevticheskii arkhiv*. 2017;89(6):48-55.
98. Caron A, Desrosiers RR, Béliveau R. Ischemia injury alters endothelial cell properties of kidney cortex: stimulation of MMP-9. *Experimental cell research*. 2005;310(1):105-16.

99. Cheng S, Pollock AS, Mahimkar R, Olson JL, Lovett DH. Matrix metalloproteinase 2 and basement membrane integrity: a unifying mechanism for progressive renal injury. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2006;20(11):1898-900.
100. Johnson TS, Haylor JL, Thomas GL, Fisher M, El Nahas AM. Matrix metalloproteinases and their inhibitions in experimental renal scarring. *Experimental nephrology*. 2002;10(3):182-95.
101. Pawlak K, Mysliwiec M, Pawlak D. Peripheral blood level alterations of MMP-2 and MMP-9 in patients with chronic kidney disease on conservative treatment and on hemodialysis. *Clinical biochemistry*. 2011;44(10-11):838-43.
102. Chang HR, Yang SF, Li ML, Lin CC, Hsieh YS, Lian JD. Relationships between circulating matrix metalloproteinase-2 and -9 and renal function in patients with chronic kidney disease. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2006;366(1-2):243-8.
103. Peiskerová M, Kalousová M, Kratochvílová M, Dusilová-Sulková S, Uhrová J, Bandúr S, et al. Fibroblast growth factor 23 and matrix-metalloproteinases in patients with chronic kidney disease: are they associated with cardiovascular disease? *Kidney & blood pressure research*. 2009;32(4):276-83.
104. Musiał K, Zwolińska D. Matrix metalloproteinases (MMP-2,9) and their tissue inhibitors (TIMP-1,2) as novel markers of stress response and atherogenesis in children with chronic kidney disease (CKD) on conservative treatment. *Cell stress & chaperones*. 2011;16(1):97-103.
105. Cheng S, Lovett DH. Gelatinase A (MMP-2) is necessary and sufficient for renal tubular cell epithelial-mesenchymal transformation. *The American journal of pathology*. 2003;162(6):1937-49.
106. Yasmin, McEniery CM, Wallace S, Dakham Z, Pulsalkar P, Maki-Petaja K, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005;25(2):372.
107. Friese RS, Rao F, Khandrika S, Thomas B, Ziegler MG, Schmid-Schönbein GW, et al. Matrix metalloproteinases: discrete elevations in essential hypertension and hypertensive end-stage renal disease. *Clinical and experimental hypertension (New York, NY : 1993)*. 2009;31(7):521-33.
108. Kostov K, Blazhev A. Use of Glycated Hemoglobin (A1c) as a Biomarker for Vascular Risk in Type 2 Diabetes: Its Relationship with Matrix Metalloproteinases-2, -9 and the Metabolism of Collagen IV and Elastin. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. 2020;56(5).
109. Derosa G, D'Angelo A, Tinelli C, Devangelio E, Consoli A, Miccoli R, et al. Evaluation of metalloproteinase 2 and 9 levels and their inhibitors in diabetic and healthy subjects. *Diabetes & metabolism*. 2007;33(2):129-34.
110. Signorelli SS, Malaponte G, Libra M, Di Pino L, Celotta G, Bevelacqua V, et al. Plasma levels and zymographic activities of matrix metalloproteinases 2 and 9 in type II diabetics with peripheral arterial disease. *Vascular medicine (London, England)*. 2005;10(1):1-6.
111. Derosa G, Avanzini MA, Geroldi D, Fogari R, Lorini R, De Silvestri A, et al. Matrix metalloproteinase 2 may be a marker of microangiopathy in children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes care*. 2004;27(1):273-4.

112. Zervoudaki A, Economou E, Pitsavos C, Vasiliadou K, Aggeli C, Tsioufis K, et al. The effect of Ca²⁺ channel antagonists on plasma concentrations of matrix metalloproteinase-2 and -9 in essential hypertension. *American journal of hypertension*. 2004;17(3):273-6.
113. Yue H, Uzui H, Shimizu H, Nakano A, Mitsuke Y, Ueda T, et al. Different effects of calcium channel blockers on matrix metalloproteinase-2 expression in cultured rat cardiac fibroblasts. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2004;44(2):223-30.
114. Mendes AS, Blascke de Mello MM, Parente JM, Omoto ACM, Neto-Neves EM, Fazan R, Jr., et al. Verapamil decreases calpain-1 and matrix metalloproteinase-2 activities and improves hypertension-induced hypertrophic cardiac remodeling in rats. *Life sciences*. 2020;244:117153.
115. Tayebjee MH, Nadar SK, MacFadyen RJ, Lip GY. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9 levels in patients with hypertension Relationship to tissue Doppler indices of diastolic relaxation. *American journal of hypertension*. 2004;17(9):770-4.
116. Papadopoulos DP, Makris TK, Krespi PG, Poulakou M, Papazachou OG, Hatzizacharias AN, et al. Changes in metalloproteinases in healthy normotensive patients with high-normal blood pressure. *European cytokine network*. 2005;16(3):211-4.
117. Li SY, Huang PH, Yang AH, Tarng DC, Yang WC, Lin CC, et al. Matrix metalloproteinase-9 deficiency attenuates diabetic nephropathy by modulation of podocyte functions and dedifferentiation. *Kidney international*. 2014;86(2):358-69.
118. Cakirca G, Turgut FH. Serum Matrix Metalloproteinase-9, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 and Matrix Metalloproteinase-9/ Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin Complex Levels in Patients With Early-stage Diabetic Nephropathy. *Iranian journal of kidney diseases*. 2018;12(5):299-304.
119. Bernardo MM, Fridman R. TIMP-2 (tissue inhibitor of metalloproteinase-2) regulates MMP-2 (matrix metalloproteinase-2) activity in the extracellular environment after pro-MMP-2 activation by MT1 (membrane type 1)-MMP. *The Biochemical journal*. 2003;374(Pt 3):739-45.
120. Chou FP, Chu SC, Cheng MC, Yang SF, Cheung WN, Chiou HL, et al. Effect of hemodialysis on the plasma level of type IV collagenases and their inhibitors. *Clinical biochemistry*. 2002;35(5):383-8.
121. Pawlak K, Pawlak D, Mysliwiec M. Serum matrix metalloproteinase-2 and increased oxidative stress are associated with carotid atherosclerosis in hemodialyzed patients. *Atherosclerosis*. 2007;190(1):199-204.
122. Lu LC, Yang CW, Hsieh WY, Chuang WH, Lin YC, Lin CS. Decreases in plasma MMP-2/TIMP-2 and MMP-9/TIMP-1 ratios in uremic patients during hemodialysis. *Clinical and experimental nephrology*. 2016;20(6):934-42.
123. Florys B, Głowińska B, Urban M, Peczyńska J. [Metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 levels in children and adolescents with type 1 diabetes]. *Endokrynologia, diabetologia i choroby przemiany materii wieku rozwojowego : organ Polskiego Towarzystwa Endokrynologów Dzieci*. 2006;12(3):184-9.
124. Wartiovaara J, Ofverstedt LG, Khoshnoodi J, Zhang J, Mäkelä E, Sandin S, et al. Nephrin strands contribute to a porous slit diaphragm scaffold as revealed by electron tomography. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(10):1475-83.

125. Khoshnoodi J, Sigmundsson K, Ofverstedt LG, Skoglund U, Obrink B, Wartiovaara J, et al. Nephrin promotes cell-cell adhesion through homophilic interactions. *The American journal of pathology*. 2003;163(6):2337-46.
126. Kandasamy Y, Smith R, Lumbers ER, Rudd D. Nephrin - a biomarker of early glomerular injury. *Biomarker research*. 2014;2:21.
127. Wang G, Lai FM, Lai KB, Chow KM, Li KT, Szeto CC. Messenger RNA expression of podocyte-associated molecules in the urinary sediment of patients with diabetic nephropathy. *Nephron Clinical practice*. 2007;106(4):c169-79.
128. do Nascimento JF, Canani LH, Gerchman F, Rodrigues PG, Joelsons G, dos Santos M, et al. Messenger RNA levels of podocyte-associated proteins in subjects with different degrees of glucose tolerance with or without nephropathy. *BMC nephrology*. 2013;14:214.
129. Jim B, Ghanta M, Qipo A, Fan Y, Chuang PY, Cohen HW, et al. Dysregulated nephrin in diabetic nephropathy of type 2 diabetes: a cross sectional study. *PloS one*. 2012;7(5):e36041.
130. Proletov I, Galkina O, Bogdanova E, Zubina I, Sipovskii V, Smirnov A: Clinical significance of podocyte injury markers evaluation in patients with primary glomerulopathies. *Nephrol Dial Transplant* 2014, 29:iii193.
131. Tchegotareva N BI, Kozlovskaya L, Li O, Eskova O, Shvetsov M, Golytsina E, Varshavskiy V, Popova O. Assessment of podocyte dysfunction and urinary podocyte loss in chronic glomerulonephritis (CGN): Significance for estimation of clomerular damage and glomerulosclerosis risk. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2012;27: ii195.
132. Wang Y, Zhao S, Loyd S, Groome LJ. Increased urinary excretion of nephrin, podocalyxin, and β ig-h3 in women with preeclampsia. *American journal of physiology Renal physiology*. 2012;302(9):F1084-9.
133. Son GH, Kwon JY, Lee S, Park J, Kim YJ, Yun B, et al. Comparison of serum and urinary nephrin levels between normal pregnancies and severe preeclampsia. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2013;166(2):139-44.
134. Lods N FP, Frey FJ et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition but not angiotensin II receptor blockade regulates matrix metalloproteinase activity in patients with glomerulonephritis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2003;14:2861-72.
135. Kuntze LB, Antonio RC, Izidoro-Toledo TC, Meschiari CA, Tanus-Santos JE, Gerlach RF. Captopril and lisinopril only inhibit matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity at millimolar concentrations. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2014;114(3):233-9.
136. Fontana V, Silva PS, Izidoro-Toledo TC, Biagi C, Oliveira EB, Gerlach RF, et al. Comprehensive evaluation of the effects of enalapril on matrix metalloproteinases levels in hypertension. *Cardiovascular drugs and therapy*. 2012;26(6):511-9.
137. Han SY, Jee YH, Han KH, Kang YS, Kim HK, Han JY, et al. An imbalance between matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 contributes to the development of early diabetic nephropathy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2006;21(9):2406-16.

138. Soliman AR, Sadek KM, Thabet KK, Ahmed DH, Mohamed OM. The role of matrix metalloproteinases 2 in atherosclerosis of patients with chronic kidney disease in type 2 diabetes. Saudi journal of kidney diseases and transplantation : an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia. 2019;30(2):387-93.

