

**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**  
**ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİSİ BİLİM DALI**

**TİP 1 DİYABETLİ ÇOCUKLARDA İDRAR KİM-1 ve NGAL**  
**DÜZEYLERİ BÖBREK HASARININ ERKEN BELİRTECİ**  
**OLARAK KULLANILABİLİR Mİ ?**

**YANDAL UZMANLIK TEZİ**  
**DR. SEYİT AHMET UÇAKTÜRK**

**SAMSUN-2011**



**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**  
**ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİSİ BİLİM DALI**

**TİP 1 DİYABETLİ ÇOCUKLARDA İDRAR KİM-1 ve NGAL**  
**DÜZEYLERİ BÖBREK HASARININ ERKEN BELİRTECİ**  
**OLARAK KULLANILABİLİR Mİ ?**

**YANDAL UZMANLIK TEZİ**  
**DR. SEYİT AHMET UÇAKTÜRK**

**TEZ DANIŞMANI**  
**DOÇ. DR. CENGİZ KARA**

**SAMSUN-2011**

## İÇİNDEKİLER

|                                                         | <u>Sayfa No</u> |
|---------------------------------------------------------|-----------------|
| İÇİNDEKİLER                                             | i               |
| KISALTMALAR                                             | iv              |
| TABLolar ve ŞEKİLLER                                    | vi              |
| ÖZET                                                    | ix              |
| SUMMARY                                                 | x               |
| GİRİŞ VE AMAÇ                                           | 1               |
| GENEL BİLGİLER                                          | 3               |
| 2.1. Diyabetik nefropati                                |                 |
| 2.1.1 Tanım ve Sıklık                                   | 3               |
| 2.1.2 Diyabetik nefropati gelişimi için risk faktörleri | 3               |
| 2.1.2.1 Genetik yatkınlık                               | 3               |
| 2.1.2.2 Diyabet süresi                                  | 4               |
| 2.1.2.3 Hiperglisemi                                    | 4               |
| 2.1.2.4 Hipertansiyon                                   | 4               |
| 2.1.2.5 Puberte                                         | 4               |
| 2.1.2.6 Hiperlipidemi                                   | 5               |
| 2.1.2.7 Diğer faktörler                                 | 5               |
| 2.1.3 Diyabetik nefropati patogenezi                    | 5               |
| 2.1.3.1 Hiperglisemi                                    | 5               |
| 2.1.3.1 .1 Poliöl yolu                                  | 5               |
| 2.1.3.1 .2 Artmış Glikasyon son ürünleri                | 7               |

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.3.3 Protein kinaz C aktivasyonu                             | 8  |
| 2.1.3.1.4. Heksozamin yolu                                      | 9  |
| 2.1.3.1.5. Ortak mekanizma                                      | 10 |
| 2.1.3.2. Glomerular hiperfiltrasyon                             | 11 |
| 2.1.4 Diyabetik nefropatide böbrekteki yapısal değişiklikler    | 12 |
| 2.1.5 T1DM'li hastalardaki böbrekteki fonksiyonel değişiklikler | 13 |
| 2.1.6 Diyabetik nefropatide tubullerdeki değişiklikler          | 14 |
| 2.1.6.1 Diyabetik nefropatinin başlangıcında tubuller           | 14 |
| 2.1.6.2. Diyabetik nefropatinin ilerleyen döneminde tubuller    | 15 |
| 2.1.7. Mikroalbuminürinin tespiti                               | 16 |
| 2.1.8. Diyabetik nefropati tedavisi                             | 17 |
| 2.2 Kidney Injury Molecule-1                                    | 17 |
| 2.3 Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin                  | 19 |
| 2.4 KIM-1, NGAL ve Diyabet                                      | 20 |
| 3. MATERYAL VE METOD                                            | 23 |
| 3.1. KIM-1 ölçümü                                               | 24 |
| 3.2. NGAL ölçümü                                                | 25 |
| 3.3 İstatistiksel değerlendirme                                 | 25 |
| 4.BULGULAR                                                      | 26 |
| 4.1.KIM-1 VE NGAL Sonuçları                                     | 27 |
| 4.2. Korelasyon Analizleri                                      | 30 |
| 4.3. ABPM sonuçlarının değerlendirilmesi                        | 31 |

|             |    |
|-------------|----|
| 5.TARTIŞMA  | 34 |
| 6.SONUÇ     | 39 |
| 7.KAYNAKLAR | 40 |

**KISALTMALAR:**

|       |                                               |
|-------|-----------------------------------------------|
| ABPM  | : Ambulatuvar kan basıncı ölçümü              |
| ACE   | :Angiotensin Dönüştürücü Enzim                |
| ADA   | : Amerika Diyabet Derneği                     |
| AGE   | : Artmış glikasyon son ürünleri               |
| ANG   | : Angiotensin                                 |
| AUC   | :Eğri altında kalan alan                      |
| DAG   | : Diaçilgliserol                              |
| DCCT  | : Diyabet kontrol ve komplikasyon çalışmaları |
| DM    | : Diyabetes Mellitus                          |
| DN    | : Diyabetik Nefropati                         |
| ECM   | : Ekstrasellüler matriks                      |
| FADH2 | : Flavın adenin dinükleotid hidrojen          |
| GADPH | : Gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz         |
| GBM   | : Glomeruler Bazal membran                    |
| GFH   | : Glomeruler Filtrasyon Hızı                  |
| HbA1c | : Hemoglobin A1c                              |
| IL-1  | : İnterlökin 1                                |
| IGF-1 | : İnsülin benzeri büyüme faktörü-1            |
| İAA   | : İdrar albumin atılımı                       |
| KIM-1 | : Kidney Injury Molecule -1                   |

|          |                                              |
|----------|----------------------------------------------|
| MMP-9    | :Nötrofillerdeki matriks metalloproteinaz-9  |
| MA       | : Mikroalbuminüri                            |
| MCP      | : Monosit kemotaktik faktör                  |
| Mes/Glom | : Mezengium glomerul oranı                   |
| NA       | : Normoalbuminüri                            |
| NAD      | : Nikotinamid adenin dinükleotit             |
| NADPH    | : Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat      |
| NF-Kb    | : Pleotropik transkripsiyon faktörü          |
| NGAL     | : Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin |
| NO       | : Nitrik oksit                               |
| NPD      | : Negatif prediktif değer                    |
| PDGF     | : Platelet kökenli büyüme faktörü            |
| PGE2     | : Prostaglandin E2                           |
| PKC      | : Protein kinaz C                            |
| PPD      | : Pozitif prediktif değer                    |
| RAS      | : Renin Angiotensin Sistemi                  |
| T1D      | :Tip 1 Diabetes Mellitus                     |
| TNF      | : Tümör Nekrozis Faktör                      |
| TGF      | : Transforming Growth Faktör                 |
| TBM      | : Tubuler Bazal Membran                      |
| UDP      | : Uridindifosfat                             |

## **ŞEKİLLER:**

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Aldoz redüktaz yolu                                          | 6  |
| Şekil 2: Glikasyon ürünlerinin oluşumu ve etkileri                    | 8  |
| Şekil 3: PKC aktivasyonuna bağlı oluşan ürünler ve etkileri           | 9  |
| Şekil 4. Heksozamin yolu                                              | 10 |
| Şekil 5: Hiperglisemiye bağlı ortak yol                               | 11 |
| Şekil 6. Kidney Injury Molecule-1'in yapısı                           | 22 |
| Şekli 7. Hasta ve kontrol grubunda yer alan olguların KIM-1 değerleri | 28 |
| Şekil 8. Hasta ve kontrol grubunda yer alan olguların NGAL değerleri  | 28 |
| Şekil 9. Tüm gruplarda KIM-1-NGAL korelasyonu                         | 29 |
| Şekil 10. Hasta grubunda KIM-1-NGAL korelasyonu                       | 29 |

## **TABLolar:**

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo I. Hasta ve kontrol grubundaki olguların demografik ve klinik özellikleri              | 26 |
| Tablo II. Hasta ve kontrol grubundaki olguların laboratuvar özelliklerinin karşılaştırılması | 27 |
| Tablo III. Hastaların grubundaki olguların laboratuvar özellikleri                           | 27 |
| Tablo IV. Hasta ve kontrol grubunda yer alan olguların KIM-1 ve NGAL sonuçları               | 28 |
| Tablo V. KİM-1 ve NGAL Korelasyonu                                                           | 29 |
| Tablo VI. KİM-1 ve NGAL Düzeyi klinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması        | 30 |
| Tablo VII. Hastaların ABPM verileri                                                          | 32 |

Tablo VIII. ABPM parametreleri ile KIM-1 ve NGAL arasındaki

ilişkinin değerlendirilmesi

33

Proje Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu tarafından incelendi ve onaylandı (Karar No:2009/9, Tarih:17.09.2009).

## **TİP 1 DİYABETLİ ÇOCUKLARDA İDRAR KİM-1 ve NGAL DÜZEYLERİ BÖBREK HASARININ ERKEN BELİRTECİ OLARAK KULLANILABİLİR Mİ?**

**GİRİŞ:** Diyabetik nefropati (DN), Tip 1 Diyabet (T1D)'nin en sık görülen komplikasyonlarından biri olup son dönem böbrek yetmezliğinin önemli bir nedenidir. Diyabetik hastalardaki albuminüri klasik olarak glomerül kaynaklıdır. Öte yandan tubulointerisiyel hasar da DN'nin başlangıcı ve ilerlemesinde önemli role sahiptir. KİM-1 (Kidney injury molecule-1) ve NGAL (Neutrophil gelatinase associated lipocalin) akut ve kronik böbrek hasarında kullanılan önemli tubul hasar belirteçleridir. Çalışmanın amacı çocukluk çağı T1D olgularında idrar KİM-1 ve NGAL düzeylerini değerlendirmek, bu belirteçlerin diğer klinik ve laboratuvar özellikler ile ilişkisini incelemek ve nefropatinin erken dönemde saptanması açısından yararlılığını araştırmaktır.

**YÖNTEM :** Çalışma grubu ortalama yaşı 13 (7, 1-17, 9) yıl , takip süresi  $6,8 \pm 2,2$  yıl ve HbA1c ortalaması % 8, 6, olan 60 (K/E: 28/32) T1DM'li hastadan oluşuyordu. Hastaların idrar albumin atılımları ( $10 \pm 7, 5$  mg/24 st) normal sınırlar içindeydi. Kontrol grubunda ise ortalama yaşı 13, 6 (6, 9-17, 9) yıl olan 60 (K/E: 32/28) sağlıklı çocuk yer alıyordu. Olguların sabah ikinci idrarında KİM-1 ve NGAL düzeyleri ölçülerek idrar kreatininine oranlandı. Hasta grubundaki olgulara Ambulatuvar kan basıncı monitorizasyonu (ABPM) uygulandı.

**BULGULAR:** Hasta grubundaki KİM-1 ve NGAL düzeyleri (KİM-1:  $0.50 \pm 0.34$ , NGAL:  $33 \pm 31$ ) kontrol grubundaki olgulara göre (KİM-1:  $0.26 \pm 0.25$ , NGAL  $12,4 \pm 13,3$ ) göre yüksek saptandı ( $p < 0,001$ ). KİM-1 ve NGAL arasında zayıf bir bağıntı olduğu görüldü ( $r: 0,289$ ,  $p: 0,02$ ). Korelasyon analizleri sonucunda; glisemik kontrol düzeyi (son HbA1c, son bir yıldaki HbA1c ortalaması, son iki yıldaki HbA1c ortalaması, diyabet süresi boyunca olan tüm HbA1c ortalamaları), hastalık süresi, lipid düzeyleri, serum kreatinin, GFH, idrar albumin atılım derecesi ile KİM-1 veya NGAL arasında bağıntı saptanmadı

Ambulatuvar kan basıncı parametreleri ile NGAL arasında ilişki bulunamazken KİM-1 ile 24 saatlik sistolik kan basıncı arasında bağıntı saptandı ( $r = 0,343$ ,  $p = 0,02$ ).

**SONUÇLAR:** Her iki tubul hasarı belirtecinin normoalbuminüri çocuk hasta grubunda sağlıklı kontrol grubu olgulara göre yüksek bulunması diyabetin erken döneminde tubulopatinin başladığına işaret edebilir. Ancak tubulopati ile diğer parametreler arasında bağıntı

kurulamaması, iki belirteç arasındaki bağıntının zayıf olması bu belirteçlerin klinikte kullanım açısından yararlılığını ve önemini sınırlar görünmektedir. Diyabetli hastalardaki olası akut hemodinamik ve glisemik değişiklikler ile KİM-1 ve NGAL düzeyleri arasındaki ilişkileri araştırarak ve bu olguların uzun dönem sonuçlarını değerlendirecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

## **CAN KIDNEY INJURY MOLECULE-1 AND NEUTROPHIL GELATINASE ASSOCIATED LIPOCALIN BE MARKERS FOR EARLY FINDINGS OF DIABETIC NEPHROPATHY?**

**Objective:** Diabetic nephropathy is the leading cause of end-stage renal disease in many countries and a main cause of diabetes-related morbidity and mortality. Pathological albuminuria and proteinuria constitute the consequence of diffuse glomerular damage in diabetic patients. However tubulointerstitial damage is also an important factor in the pathophysiology and progression of diabetic nephropathy. KIM-1 and NGAL have been shown to be promising markers of tubular damage in both acute and chronic kidney damage. We aimed at evaluating urinary levels of NGAL and KIM-1, the relationship between these markers and clinical and laboratory variables and clinical usefulness of NGAL and KIM-1 in normoalbuminuric children and adolescents with type 1 diabetes,

**Methods:** The study group consisted of 60 (F/M: 28/32) children and adolescents with Type 1 Diabetes (T1D) with a median age 13 (7, 1-17, 9) years and mean HbA1c %8, 6. The average period of treatment was  $6,8 \pm 2,2$  years. All patients presented with normal estimated glomerular filtration rate and normal urinary albumin excretion ( $10 \pm 7, 5$  mg/24 h). The control group consisted of 60 (M/F: 32/28; median age 13, 6 (6, 9-17, 9) years] healthy children. Urine- NGAL and KIM-1 were measured in second morning spot urine and adjusted for creatinine concentration to account for day-to-day variation in urine volume. Hypertension detected by ABPM in patient group

**Results:** Urine NGAL and KIM-1 levels were significantly elevated in diabetic group (KIM-1:  $0,50 \pm 0,34$ , NGAL  $33 \pm 31$ ) compared with non diabetic control subjects (KIM-1:  $0,26 \pm 0,25$ , NGAL  $12,4 \pm 13,3$ ) ( $p < 0,001$ ). No significant associations were observed between u-NGAL or KIM-1 and duration of diabetes, BMI-SDS, GFR, HbA1c, serum lipid levels, urine albumin rate. NGAL is correlated with KIM-1; however the correlation is weak ( $r = 0,289$ ). We were found to be correlated with 24 hr systolic BP ( $r = 0,343, p = 0,02$ ) and KIM-1 levels, NGAL levels were not found to be correlated with ABPM results.

**Conclusion:** High NGAL and KIM-1 levels may indicate early diabetic kidney injury but we did not find any relationship between these markers and diabetic indices. However KIM-1 and NGAL have shown weak correlation. Recently high glucose levels may have caused damage of

the tubules and release of KIM-1 and NGAL. For clinical usefulness of these markers long term studies are required.

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ:

Tip 1 Diyabet (T1D) batı toplumlarında çocukluk çağı diyabetlerinin % 90'ını oluşturmaktadır. Sıfır-Ondört yaşları arasında yıllık insidansı 0,1-57,6/100.000 olarak rapor edilmektedir (1).

Diyabette yaşam süresinin artması diyabete bağlı komplikasyonların daha sık görülmesine yol açmıştır. Günümüzde diyabet, gelişmiş toplumlarda edinsel körlüğün, diyaliz ve böbrek transplantasyonunun en sık nedenidir. Diyabetin en önemli uzun dönem komplikasyonları mikrovasküler (nefropati, retinopati, nöropati) ve makrovasküler hastalıklardır (2). Nefropati sonucu gelişen hipertansiyon ve böbrek yetmezliği, retinopatiye bağlı görme bozukluğu ve körlük, nöropatiye ikincil ağrı, parastezi ve otonomik disfonksiyon, makrovasküler bozukluğa bağlı kardiyak ve periferik vasküler hastalıklar diyabetin başlıca komplikasyonlarıdır (1,2). Büyüme gelişme geriliği, kısıtlı eklem hareketi diyabet sürecinde karşılaşılabilecek diğer sorunlardır (2).

T1D'li hastalarda mortalite ve morbidite uzun dönemde gelişen mikro ve makro vasküler komplikasyonlarla ilişkilidir (3). Diyabete bağlı vasküler komplikasyonlar çocuklukta nadir görülür fakat erken yapısal ve fonksiyonel değişiklikler diyabet tanısını takip eden birkaç yılda başlamaktadır (1).

Diyabetik nefropati (DN) T1D'in en sık görülen ve genç yetişkinler arasında mortalite ve morbiditenin ana nedeni olan mikrovasküler komplikasyondur (3,4). Endüstrileşmiş bölgelerdeki KBY'nin en sık sebebi DN olup ABD'de yeni ortaya çıkan KBY olgularının %45'ini oluşturmaktadır (5) .

Mikroalbuminüri(MA) DN riskini gösteren ana belirteçtir. Persistan MA diyabet başlangıcından 7-10 yıl sonra ortaya çıkabilir, oysa böbrekteki yapısal değişiklikler diyabet başlangıcından 1,5-2 yıl sonra tespit edilebilir. MA böbrek hasarını tespit etmede tek başına yeterli değildir. Kalıcı mikroalbuminüri gelişmesi durumunda aşikar proteinüri ve son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme riski % 400-500 kat artar. Normoalbuminürik hastalarda da GFH azalması ve hipertansiyon görülebilir (6). Mikroalbuminürisi olan diyabetik hastaların histolojik olarak ancak %29'unun DN'nin tipik glomerüler bulgularını gösterdiği, % 42' sinin hafif glomerüler bulgulara rağmen ağır tubulointertisiyel lezyonlara sahip olduğu gösterilmiştir (7). Öte yandan normoalbuminürik diyabetik hastalarda sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında proksimal tubul bazal membran kalınlaşması tespit edilmiştir (8).

Tek başına MA taramasıyla son dönem böbrek yetmezliğine gidişte hastaların % 24' ünün gözden kaçabileceği gösterilmiştir (9). Bu nedenle erken dönemde böbrek hasarını saptayabilecek duyarlı parametrelere ihtiyaç vardır.

İdrardaki albumin atılımı özellikle glomerül fonksiyon bozukluğuna ikincildir. DN'deki tubul hasarı ise sadece glomerül hasarına ikincil olmayıp diyabetin erken döneminde de ortaya çıkabilir (10). Diyabetik çocuklarda MA'nin henüz ortaya çıkmadığı erken dönemde tubuler proteinüri varlığı gösterilmiştir (11). T1D'li hastalarda MA olmadan öncede tubulointertisiyel hasar belirteci olan liver-type fatty acid-binding proteinin ( LFABP) idrarda atılımı yüksek bulunmuştur (12).

Kindey Injury Molecule-1(KIM-1) ve Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) akut ve kronik durumlarda tubul hasar belirteci olarak kullanılmıştır. Farelerle yapılan çalışmada, deneysel diyabette KIM-1 birinci ayda 20 kat kadar yükselmiştir (13). KIM-1 ve NGAL MA'sı olmayan yetişkin T1D ve T2D hastalarında da sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmuştur (14-17).

Çalışmamızda idrar albumin atılımı normal olan çocukluk çağı T1D olgularında idrarda KIM-1 ve NGAL düzeylerini ölçerek, bu belirteçlerin diğer klinik ve laboratuvar bulgular ile ilişkisinin incelenmesi ve nefropatinin erken dönemde saptanması açısından yararlılığının değerlendirilmesi planlandı.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. DİYABETİK NEFROPATİ:**

#### **2.1.1 Tanım ve Sıklık**

Başka bir renal hastalık olmaksızın idrar albumin atılımının artışı DN olarak tanımlanır (18). Mikroalbuminüri DN riskini gösteren ana belirteçtir (6).

Diyabetli hastalarda albumin atılımının artması ile birlikte retinopati, nöropati gibi diğer vasküler komplikasyonların görülme sıklığı da artmaktadır. Hastalık süresi 5 yıl ve üzerinde olan T1D'lilerde proliferatif retinopati; normoalbuminürik (NA) hastalarda %12, MA'lılarda %28, makroalbuminüriklerde % 58 oranında tespit edilmiştir. Vibrasyon duyusu kaybı ise aynı hasta grubunda sırasıyla % 21, % 31 ve % 50 oranında görülmüştür. Mikroalbuminüri aynı zamanda kardiyovasküler hastalıklar içinde önemli bir risk göstergesidir (19, 20).

Diyabeti çocuklukta başlayan hastalarda DN görülme sıklığı yetişkinlere göre daha fazladır. Hastalığı çocukluk çağında başlayanlarda MA görülme sıklığı 10 yılda yaklaşık % 26 iken, 20 yılda bu oran %51'e yükselmektedir (21). Diyabeti yetişkin dönemde ortaya çıkanlarda ise MA 10 yılın sonunda yaklaşık %20 oranında görülür ( 22 ). Proteinüri görülme oranları her iki durumda benzer (%14) olsa da hastalığı çocuklukta başlayanlarda daha erken yaşta ortaya çıkar ( 21).

Nefropati hastalık başlangıcından ortalama 5-15 yıl sonra ortaya çıkar ve sonraki dönemde ilerleme gösterir (22). Hastalığın başlangıcından 20-25 yıl sonra proteinüri geliştirmeyen hastalarda ise aşikar böbrek hastalığı geliştirme riski yaklaşık yılda %1 dir (23). Proteinüri gelişmesi açısından iki yoğun dönem söz konusudur; birincisi hastalığın 16. yılının sonu ikincisi ise 32. yılın sonudur. Sıklık kademeli olarak diyabetin 10. yılından itibaren artar 35. yıldan sonar ise azalır (24). Son dönem böbrek yetmezliği sıklığı ise hastalığın 20. yılında % 4-17 iken 30. yılında yaklaşık %16' dır (25,26).

#### **2.1.2 . Diyabetik nefropati gelişimi için risk faktörleri:**

**2.1.2.1 Genetik yatkınlık:** Nefropati gelişimi için genetik faktörler önemlidir. Hastaların hepsinde böbrekte yapısal değişiklikler bulunmasına karşın sadece bir kısmı DN geliştirirler (27,28). Kardeş veya aile bireyinde DN olması durumunda risk artar (29,30). Anne ve babada

proteinüri yoksa çocukların proteinüri geliştirme riski %14, ebeveynlerin birinde varsa risk % 23, her ikisinde de varsa oran %46'dır (29). Diyabetli kardeşlerde DN şiddeti ve glomerüler lezyonların yapısı da benzerdir (30). Aşık proteinüri riskinin diyabetin 30. yılına kadar artmasını takiben bu dönemden sonra plato çizmesi de DN'ye sadece bir grup hastanın duyarlı olduğunun göstergesidir (24).

**2.1.2.2 Diyabet süresi:** DN gelişiminde diyabet süresi çok önemli bir faktördür. Diyabet başlangıcından 7-10 yıl kadar sonra kalıcı mikroalbuminüri ortaya çıkabilir (32,33). Mikroalbuminüri hastaların çok az bir kısmında diyabet süresi 5 yılın altındadır (22).

**2.1.2.3 Hiperglisemi:** Hiperglisemi düzeyi mikroalbuminürinin başlamasını etkileyen en önemli faktördür. HbA1c değeri % 8-10 arasında olanlarda, % 6-8 olanlara göre MA gelişme riski 20 kat fazladır. MA gelişme riski 10 yıllık sürede HbA1c seviyesi < % 8,5 ise % 12, % 8,5-9,6 ise % 46, % 9,6-10,7 arasında ise % 42, > %10,7 ise % 50'dir (24).

Ortalama diyabet tanı yaşları  $6,5 \pm 3,5$  yıl ve hastalık süreleri  $12 \pm 3,5$  yıl olan hastalarda MA HbA1c düzeyi < % 9 olan hastalarda % 9,7, HbA1c > 9 olanlarda % 43,7 oranında saptanmıştır (34).

HbA1c'nin % 7'nin altında olması DN'nin yapısal ve fonksiyonel değişikliklerinin azalması ile ilişkilidir (35,36). Sıkı glisemik kontrol DCCT çalışmalarında MA ve hipertansiyon riskini 7-8 yılda % 40 azaltmıştır (37). Yoğun diyabet tedavisinin adolesanlarda (HbA1c'nin % 9,8 den % 8,1'e gerilemesi ile) MA sıklığını % 54 azalttığı tespit edilmiştir (1).

**2.1.2.4 Hipertansiyon:** Hipertansiyon DN gelişiminde önemli bir faktördür. T1D'li hastalarda hipertansiyon görülme sıklığı 10 yılda % 5, 20 yılda % 33, 40 yılda % 70 oranında artar (38). Yüksek ambulator kan basıncı değerleri albumin atılımının artması ve glomerüler lezyonların kötüleşmesi ile ilişkilidir (6). Normoalbumürik adolesanlarda nokturnal ambulator kan basıncı değişiklikleri ve dipper olmaması MA gelişeceğinin göstergesi olabilir (39). Hipertansiyon ve albumin atılımının artışı arasında bir ilişki vardır. Mikroalbuminürinin başlamasıyla veya sonraki birkaç yıl zarfında kan basıncı tipik olarak normal sınırlar içinde yükselir ve böbrek hasarının ilerlemesiyle birlikte hipertansiyon gelişir (22).

**2.1.2.5 Puberte:** Bazı çalışmalar MA'nın diyabet süresi uzun olsa bile puberteden önce nadir ortaya çıktığını göstermiştir. Pubertede MA gelişimini hızlandıran faktörler tam olarak anlaşılamamıştır; adolesanların tedavi uyumsuzluğu, kan basıncı artışı, büyüme hormonu ve insülin benzeri büyüme faktörlerinin artışı, seks hormonları ve insülin direncine bağlı hiperkolesterolemi, adipozite ve androjen yüksekliği muhtemel sebeplerdir. Hayat boyu DN

riski erkeklerde daha fazla olsa da puberte de benzer HbA1c düzeyine sahip kızlarda erkeklere göre DN gelişme riski 2 kat adaha yüksektir (40).

**2.1.2.6 Hiperlipidemi:** Hiperlipidemi diyabet hastalarında sık görülen bir komplikasyondur. Deneysel çalışmalar kolesterol yüksekliğinin DN gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. DCCT çalışmalarında total kolesterol, LDL ve TG yüksekliği MA gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (40).

**2.1.2.7 Diğer faktörler:** Mikroalbuminüri olan hastalardaki glomerüler lezyonlar aşikar proteinüri olan ve GFH'si azalmış hastalar kadar ilerlemiş olabilir. NA'lı hastalarda normal sınırlar içinde bile olsa albümin atılımının artması; glomerüler değişikliklerin kötüleşmesi, artmış MA ve proteinüri riski ile ilişkilidir. Bu nedenle albümin atılımındaki küçük artışlar dahi göz ardı edilmemelidir (6). Retinopati varlığı ve şiddeti , sigara içimi sedanter yaşam DN için diğer risk faktörleridir (1).

### **2.1.3 Diyabetik nefropati patogenezi:**

Diyabetik nefropatinin multifaktöriyel bir durum olduğu ve genetik olarak düzenlenerek çeşitli yolların etkileşimi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Genetik zeminde ortaya çıkan ve kesişen bu mekanizmaların çoğu hiperglisemi ilişkilidir. Hiperglisemi sonucu artan yollar ekstrasellüler matriksin birikimine ve DN'ye neden olur (40).

#### **2.1.3.1 Hiperglisemi:**

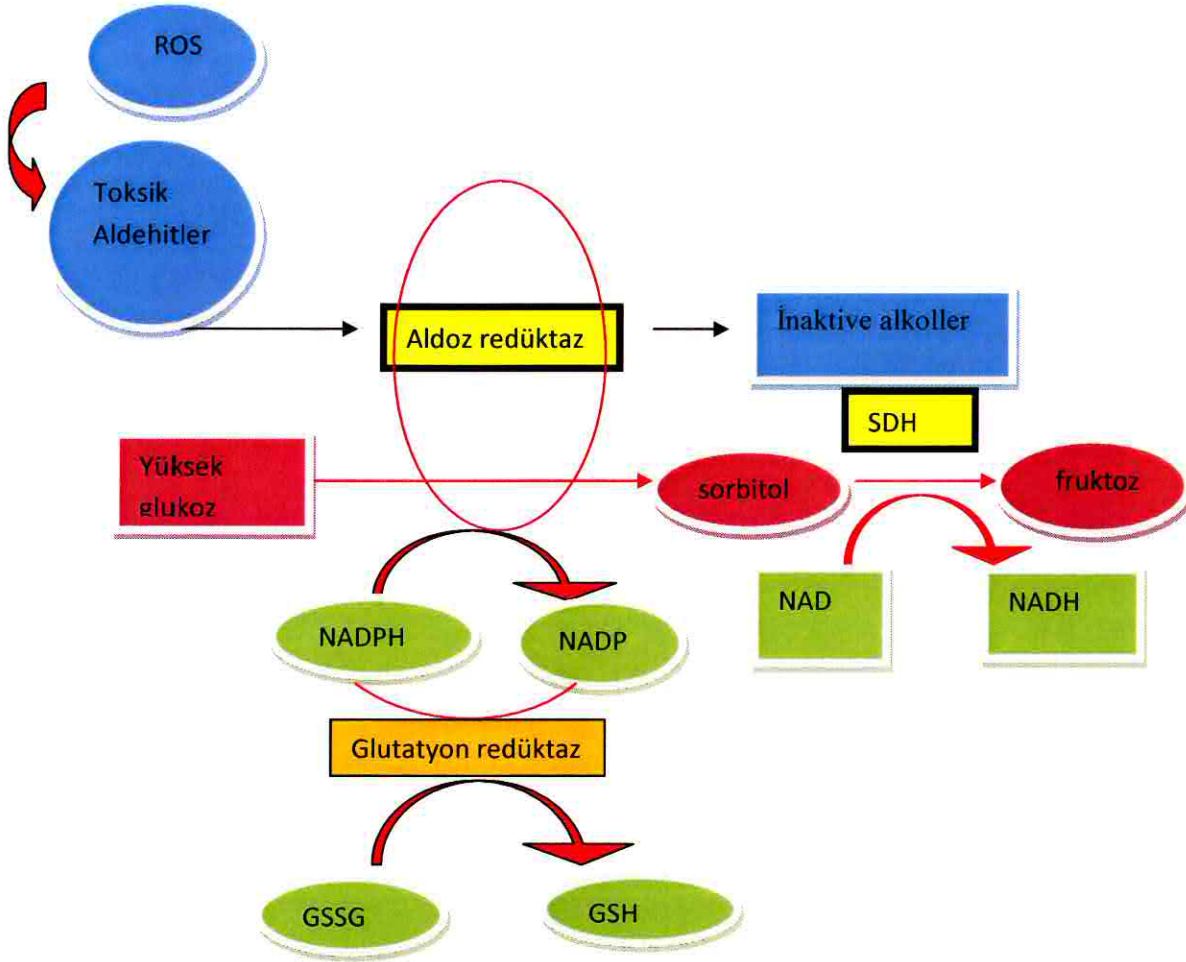
Hiperglisemiye bağlı hasar mekanizmaları için başlıca 4 hipotez vardır (41,42);

- 1- Poliol yolunun artışı
- 2- Glikasyon son ürünlerinin (AGE) artışı
- 3- Protein kinaz-C (PKC) izoformlarının aktivasyonu
- 4- Heksozamin yolunun artışı

##### **2.1.3.1 .1 Poliol yolu:**

Aldoz redüktaz poliol yolunun ilk enzimidir. Normalde hücre içindeki toksik aldehytleri inaktif alkollere dönüştürür. Sağlıklı insanlardaki normal serum glukoz değerlerinde aldoz redüktazın glikoz duyarlılığı düşüktür. Hiperglisemi durumlarında ise artan hücre içi glikozu

(kofaktör olarak NADPH kullanarak) polialkol olan sorbitole dönüştürür. Sorbitol ise kofaktörü NAD olan sorbitol dehidrogenaz enzimi yoluyla fruktoza okside olur (şekil 1).



**Şekil 1.** Aldoz redüktaz yolu (ROS: Reaktif oksijen ürünleri, SDH: sorbitol dehidrogenaz, NAD: Nikotinamid dinükleotid, GSH: Redükte glutatyon, GSSG: okside glutatyon)

Sorbitol osmotik hasarının yanısıra  $\text{NAD}^+$  ile okside olurken sitozolik  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  oranını arttırarak Gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz aktivitesinin azalmasına ve trioz fosfatın artmasına neden olur. Trioz fosfat AGE öncülü olan metilglioksalı arttırır, ayrıca diaçilgliserol artışı yoluyla PKC'yi aktive eder. Ayrıca glukozun sorbitole dönüşümü NADPH'ın tüketilmesine neden olur. NADPH redükte glutatyonun yenilenmesi için gereklidir. Poliol yoluyla redükte glutatyonun azalması hücre için önemli bir oksidatif stres kaynağıdır (41,42).

T1D’li hastalarda aldoz redüktaz inhibitörü tolrestat’ın 6 ayın sonunda GFH’yi düşürdüğü albumin atılımını azalttığı gösterilmiştir (43).

### 2.1.3.1 .2 Artmış glikasyon son ürünleri:

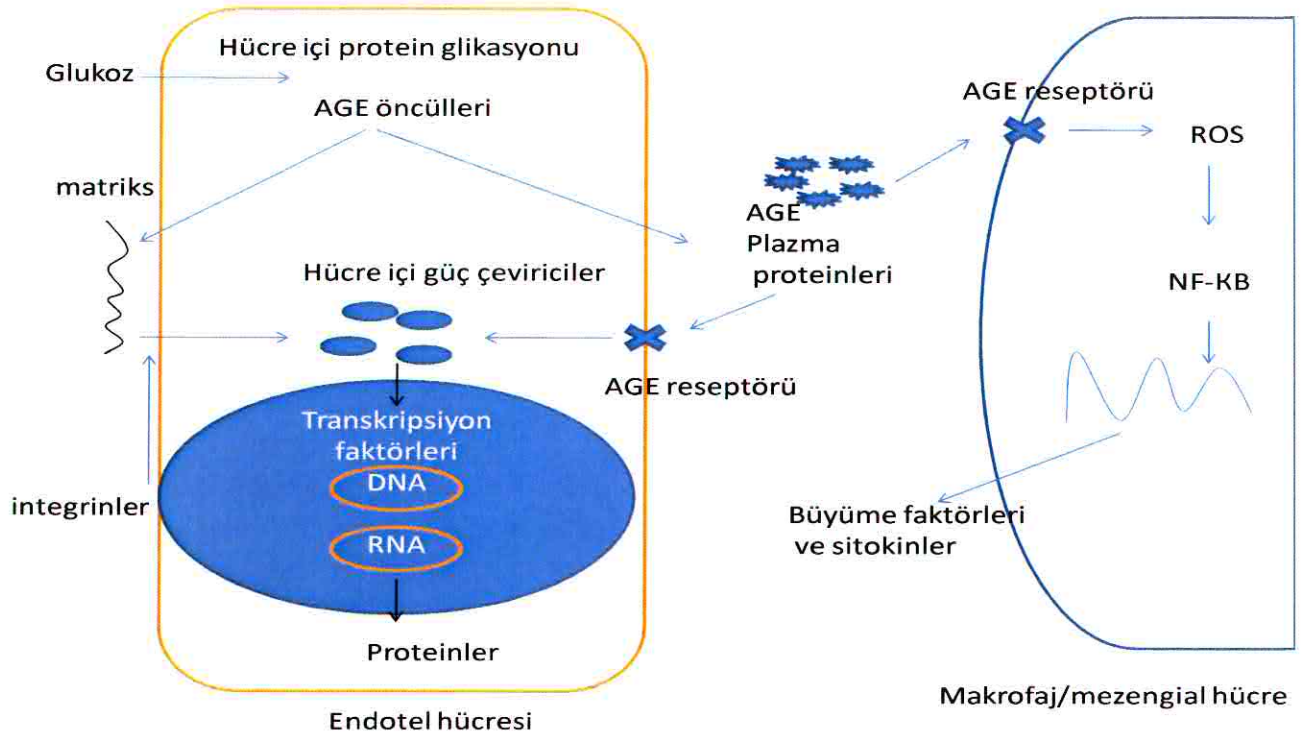
Hücre içi hiperglisemi hem hücre içinde ve hem de dışında AGE üretimi için tetiği çeken ana faktördür. Glikasyon son ürünleri hücre içi glukozun glioksala otooksidasyonu, Amadori ürünlerinin (glukozdan üretilmiş lizin eklentili 1 amino 1 deoksifruktoz) deoksiglukozla ayrışmasından veya gliseraldehit-3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfatın metilglioksala parçalanmasıyla ortaya çıkabilir. Bu hücre içi dikarbonlar (glioksal, metilglioksal ve 3-deoksiglukoz) hücre içi ve dışı amino grupları ile enzimatik olmayan reaksiyona girerek AGE leri oluştururlar (Şekil 2). Hücre içi yüksek glukoz varlığında AGE’ler bir hafta içinde oluşur (41,42).

AGE ürünleri 3 mekanizma ile hedef hücreye zarar verirler (41,42):

- 1- Gen transkripsiyonunu düzenleyen hücre içi proteinlerle etkileşerek bu proteinlerin fonksiyonlarını değiştirirler
- 2- Hücre dışına çıkan AGE öncülleri sinyalizasyonu sağlayan hücre dışı matriks molekülleriyle (integrinler) etkileşerek hücreye zarar verir.
- 3- AGE öncülleri hücre dışında albumin gibi dolaşımdaki proteinlerle etkileşirler. Bu proteinler endotel hücreleri, mezengial hücreler ve makrofajlar üzerindeki reseptörlerine bağlanarak inflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörlerinin (IL-1, IGF-1, TNF- $\alpha$ , TGF-  $\beta$ , Makrofaj koloni stimüle edici faktör, platelet kökenli büyüme faktörü) salınımı yoluyla damar zedelenmesine neden olurlar. AGE reseptörüne bağlanma pleotropik transkripsiyon faktör NF-kB’yi (nükleer faktör-kB) aktive ederek gen ekspresyonunda patolojik değişikliklere neden olur.

Endotel hücrelerindeki önemli AGE modifiye proteinlerden biri de fibroblast growth faktördür (41,42).

Glikasyon son ürünlerinin inhibitörü Aminoguanidin’in aşıkâr nefropatisi olan T1D’li hastalarda idrar protein atılımını azalttığı ve nefropatinin ilerleyişini yavaşlattığı gösterilmiştir (41).



**Şekil 2:** Glikasyon ürünlerinin oluşumu ve etkileri (NF-κB: nükleer faktör-κB, ROS:Reaktif oksijen radikalleri, AGE:Artmış glikasyon son ürünleri)

### 2.1.3.3 Protein kinaz C aktivasyonu:

PKC ailesi en az onbir izoformdan oluşur. Bunlardan dokuzu lipid ikincil mesajcı olan diaçilgliserol (DAG) tarafından aktive edilir. Hücre içi hiperglisemi DAG miktarını artırır. Glikolitik ara ürün dihidroksiaseton fosfattan de novo olarak gliserol-3-fosfat ve sonrasında alkilasyonla DAG sentezlenir. Sentezi artan DAG diyabetik vasküler hücreler, glomerüller ve retinada PKC'yi (özellikle  $\beta$  ve  $\delta$  izoformlarını) aktive eder. PKC aktivasyonu nitrik oksit sentetaz, endotelin-1, vasküler endoteliyal büyüme faktörü, transforming growth faktör  $\beta$ , plazminojen aktivatör inhibitör-1 ekspresyonunu etkileyerek ve NF-κB ve NAD(P) oksidazı aktive ederek etki gösterir (41,42).

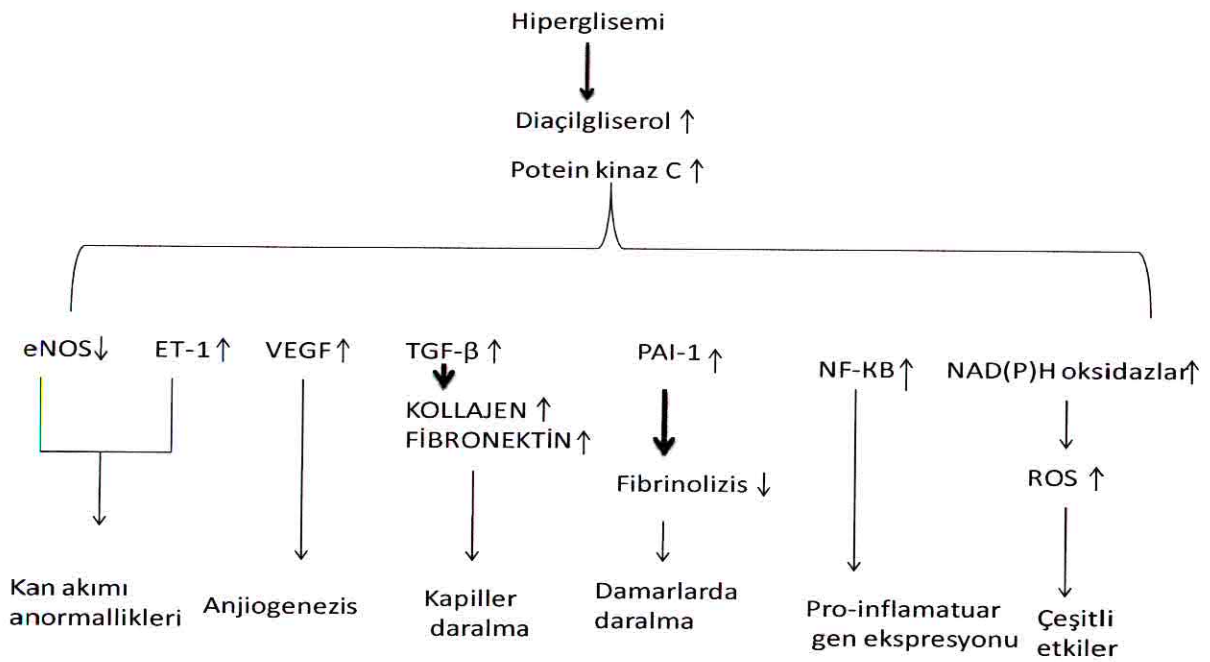
Hiperglisemi poliol yolu aktivasyonu ve AGE reseptörlerine bağlanarak da (muhtemelen oksijen radikallerini artırarak) PKC izoformlarını aktive edebilir(41,42).

PKC- $\beta$  izoformunun aktivasyonunu muhtemelen NO sentezini azaltarak ve/veya endotelin-1 aktivitesini artırarak böbrek kan akımında anormalliklere neden olduğu gösterilmiştir.

PKC'nin anormal aktivasyonu glomerüllerde NO üretimini azaltır, MAP (Mitojen aktive protein) - kinazı aktive ederek endotelin -1'i artırır.

PKC aktivasyonu endotel hücrelerinin geçirgenliğini artırır, benzer etkiyi düz kas hücrelerinde vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF) aracılığıyla yapar. Fibronektin TGF- $\beta$ 1, ve Tip 4 kollojeni arttırarak glomerüllerde mikrovasküler matriks proteinlerinin artışına neden olur (Şekil 3).

Spesifik PKC- $\beta$  inhibitörleri ile diyabetik hayvanlarda glomerüllerde PKC aktivitesinin azaldığı, artmış glomerüler filtrasyon hızının normale döndüğü, yüksek idrar albumin atılımının düzeldiği gösterilmiştir (41,42).

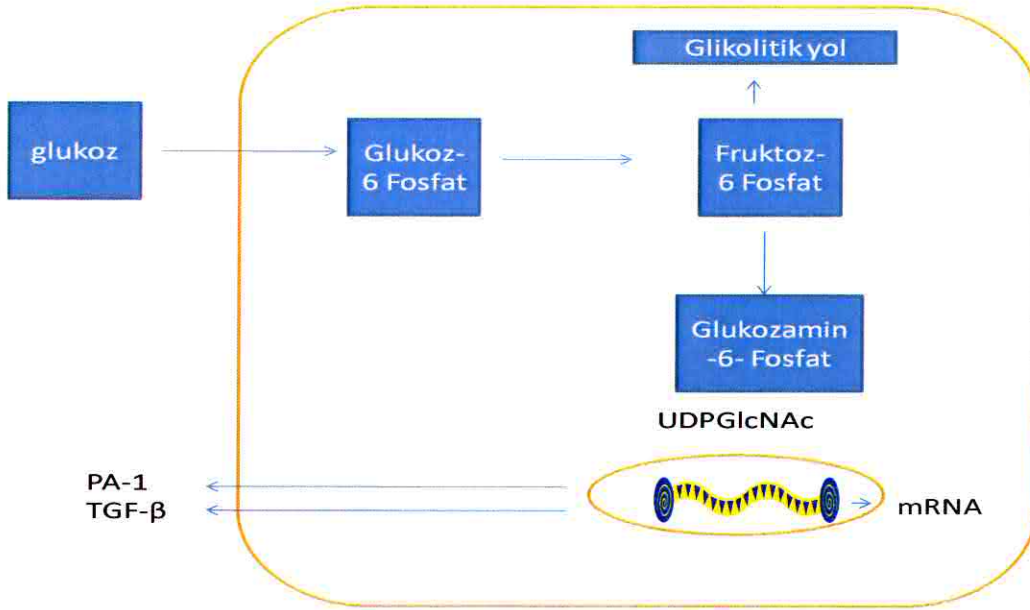


**Şekil 3:** PKC aktivasyonuna bağlı oluşan ürünler ve etkileri (NOS: Nitrik oksid sentetaz, ET-1: Endotelin-1, VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü, TGF: Transforming Growth Faktör, PAI: Plazmin aktivatör inhibitör, NF-kB: nükleer faktör-kB ROS:Reaktif oksijen radikalleri)

#### 2.1.3.1.4. Heksozamin yolu:

Yüksek konsantrasyondaki hücre içi glukoz heksozamin yoluna kayarak bazı diyabet komplikasyonlarına katkıda bulunur. Glikolizde glukoz-6-fosfat'tan sonraki basamak fruktoz 6 fosfat'tır. Fruktoz-6 fosfatın bir kısmı glukozamin 6 fosfata dönüşerek bir sinyal yolağına girer ve sonunda UDP N-asetil glukozamine dönüşür. N-asetil glukozamin'in üzerine serin ve treonin rezidülerini alması patolojik gen ekspresyonuna neden olur. Transkripsiyon faktör Sp1'in artması kan damarlarında TGF-1 ve bir fibrinolitik inhibitör olan plazminojen

aktivatör inhibitör-1'in (PAI-1) artışına neden olur (Şekil 4). Glikozaminin glomerüler mezengial hücrelerde de Sp1 yoluyla PAI-1'i arttırdığı gösterilmiştir (41,42).



**Şekil 4.** Heksozamin yolu (PAI-1:Plazminojen aktivatör inhibitör-1, TGF:Transforming growth faktör, UDPGlcNAc: UDP N-asetil glukozamin)

#### 2.1.3.1.5. Ortak mekanizma:

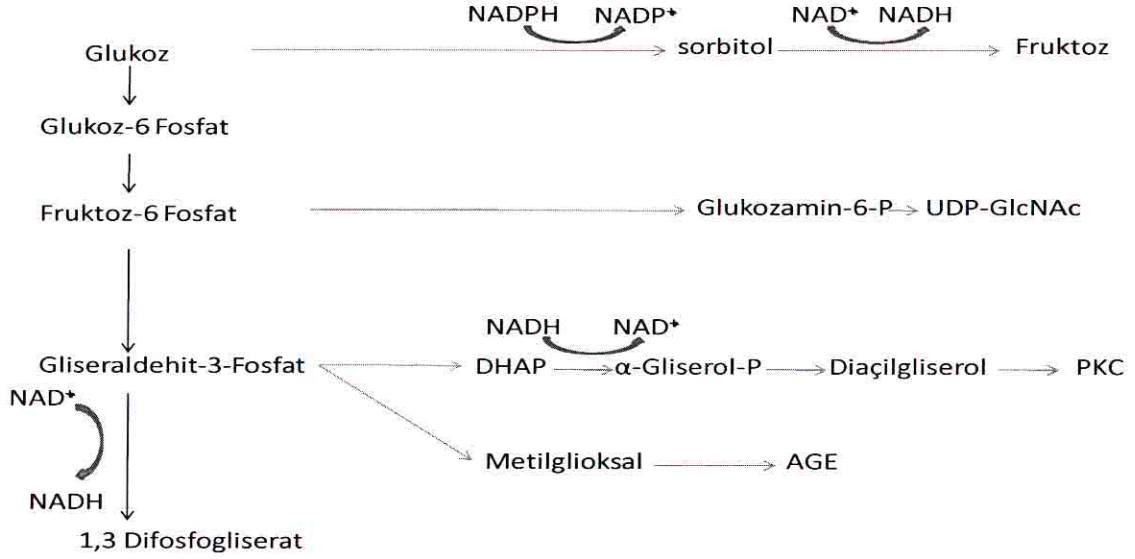
Aldoz redüktaz yolu, AGE oluşumu, PKC aktivasyonu ve heksozamin yolundan oluşan patolojik mekanizmaların tümü hiperglisemiye bağlı mitokondrial elektron transport zinciri anormalliği ve süperoksidin aşırı üretimini işaret eder. Diyabet ve hiperglisemi oksidatif stresi arttıran bir durumdur.

Elektron transport zinciri mitokondri iç membranında bulunan 4 enzim kompleksinden (1.2.3.4) oluşur. Glukoz sitrik asit döngüsü ile metabolize edilince elektron vericiler üretilir. Ana elektron verici NADH ve bir diğeri olan FADH<sub>2</sub> elektronlarını kompleks 1'e verirler. Elektronlarının enerjilerinin bir kısmı protonların membranın diğer tarafına pompalanması için kullanılır. Elektronların zincir boyunca taşınması bir proton gradienti oluşturarak ATP sentazın aktive olmasına yol açar.

Diyabetik hücrelerde sitrik asit döngüsünde daha yüksek glukozun okside olmasıyla daha fazla elektron vericisi ortaya çıkar. Sonuç olarak voltaj gradientinin çok artması ve Kompleks 3'ün bloke olmasıyla elektronlar koenzim Q'ya döner. Koenzim Q elektronları oksijene vererek süperoksid oluşmasına neden olur.

Diyabetik hücrelerde yüksek glukoz düzeylerinde ortaya çıkan süperoksid anahtar enzim olarak gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz (GAPDH) aktivitesini % 66 oranında azaltır.

GAPDH'nin üzerindeki metabolitlerin düzeyi artar. AGE sentezi için prekürsör olan metilglioksal gliseraldehit 3 fosfattan oluşur. Gliseraldehit 3 fosfat aynı zamanda PKC yolunun aktivatörü olan DAG'a dönüşerek PKC yolağını aktive eder. Fruktöz 6 fosfatın artışı heksozamin yolağının aktif hale gelmesiyle sonuçlanır. Hücre içi glukozun artışı ile de poliol yolu aktivitesi artar (Şekil 5) (41,42).



**Şekil 5:** Hiperglisemiye bağlı ortak yol (AGE : Artmış glikasyon son ürünleri, PKC : Protein kinaz C, DHAP : Dihidroksiaseton fosfat)

#### 2.1.3.2. Glomerular hiperfiltrasyon:

T1D'li hastaların yarısında hastalığın erken döneminde GFH % 25-50 oranında artar (44). Bu GFH artışı özellikle protein alımından sonra şiddetlenir. Glomerüler hipertrofi ve böbrek büyümesi tipik olarak GFH artışına eşlik eder (45).

Deneysel çalışmalar afferent glomerüler arteriollerde genişlemenin; intraglomerüler basınç ve renal kan akımını artırarak glomerüler hiperfiltrasyonda rol oynadığını göstermiştir. Hemodinamik değişikliklerin nedeni tam olarak anlaşılmış değildir. Normal ratlara erken glikasyon ürünlerinin infüzyonla verilmesi böbrek plazma akımı, GFH ve intraglomerüler basıncı artırmıştır (46).

Hormonların rolü hayvanlarda somatostatin analoglarının kronik olarak verilmesi sonucu erken hiperfiltrasyon ve böbrek büyümesinin gerilemesi ile desteklenmiştir. Bu çalışmada IGF-1 düzeylerinde düşme saptanmıştır. IGF-1 in rolü tam olarak kanıtlanmamış olsa da normal kişilere IGF-1 verilmesi renal vazodilatasyon ve GFH'yi artırır (47). IGF-1 e ek olarak atrial natriüretik peptid gibi diğer hormonlarda hiperfiltrasyona katkıda bulunabilir. Sodyum emiliminin artışına bağlı volüm genişlemesi sonucu salınan bu hormonlar afferent arteriolde dilatasyona neden olur (48). Seks hormonları da glomerüler filtrasyonu etkileyebilir. hiperglisemiye yanıt olarak kadınlarda böbrek kan akımında ve böbrek damar direncinde azalma tespit edilmişken erkeklerde bu değişiklik görülmemiştir (49).

Daha sonra bahsedileceği gibi sodyum-glukoz kotransportunun artışına bağlı tubullerde sodyum geri emiliminin artması ekstrasellüler volümün artışı yoluyla GFH 'nin yükselmesine neden olur (50).

#### **2.1.4. Diyabetik nefropatide böbrekteki yapısal değişiklikler:**

Klasik olarak diyabetik nefropati; GBM (glomerüler bazal membran) kalınlaşması, glomerüler ve tübüler hipertrofi, mezangial genişleme, glomerüloskleroz ve tubulointertisiyel fibrozis ile karakterizedir (10). Esasen tüm böbrek yapıları diyabetten etkilenir. Ekstrasellüler matriks (ECM) birikimi DN'de ana anormalliktir (6).

Glomerül bazal membran kalınlaşması ilk saptanabilir değişiklik olup diyabet başlangıcını takiben 1,5-2 yıl içinde gelişebilir. Tubuler bazal membran (TBM) kalınlaşması, GBM kalınlaşmasına ve mezangial matriks birikimine paralel olarak saptanabilir bir bulgudur (6).

Mezangial genişleme esasen mezangial matriks artışına bağlı olup bazal membran değişikliklerini takip eder. Mezangial matriks artışı T1D'in başlangıcından 5-7 yıl sonra saptanabilir. Mezangial genişleme noduler lezyonlar olan Kimmelstiel–Wilson nodülleri'ni oluşturabilir. Bu lezyonlar genişlemiş matriks ve çit şeklinde dizilmiş mezangial hücrelerin kapiller yumaklar tarafından çevrenmesi ile oluşur (6).

Fibronektin, laminin, Tip IV ve VI kollagen gibi normal ECM komponentlerinin üretimlerinin artması veya uzaklaştırılamaması sonucu mezangial matriks, GBM ve TBM'de birikir. Mezangium aynı zamanda GBM boyunca da genişleyerek glomerüler filtrasyon yüzeyinin azalmasına yol açabilir (6).

Afferent ve efferent arteriolde hiyalinozis DN'ye özgü bir bulgu sayılır ve hastalığın başlangıcından sonraki birkaç yıl içinde görülebilir. İmmünglobulinler, kompleman,

fibrinojen ve albumini içeren plazma proteinlerinden oluşan bu eksudatif lezyonlar, subendotelial bölgeden başlayıp arteriol lümenine doğru ilerleyerek lümenin daralmasına neden olur. Arteriyel hiyalinozisin ciddiyeti toplam glomeruloskleroza ağırlığı ile ilişkilidir (6).

Bowman kapsülü adezyonları ise proteinürik hastalarda bulunurken MA ve Normoalbuminüri (NA) hastalarda çok nadirdir. Bu lezyonlar genellikle glomerulotubular bileşimde yerleşir ve sıklıkla genişlemiş kapiller yumak ve luminal köpük hücreleri ile birliktedir. Mikroanevrizmalar ve Kimmelstiel–Wilson nodülleri bu lezyonlara eşlik eder.

Gizli ayaksı çıkıntı kalınlaşması MA'sı olan hastalarda gösterilmiştir. Ayaksı çıkıntı kalınlaşması hemen hemen her zaman proteinüriye eşlik eder (6).

#### **2.1.5. T1D'li hastalardaki böbrekteki fonksiyonel değişiklikler:**

Mezangium/glomerül (Mes/Glom) oranı DN de fonksiyonel değişikliklerle en çok ilişkili olan yapısal parametredir. Beş yılın üzerindeki hastalarda albumin atılım hızındaki değişiklik direkt olarak Mes/Glom oranıyla ilişkilidir . Glomerül bazal membran kalınlaşması diyabet süresiyle birlikte artış gösterir fakat Mes/Glom oranı artışı hastalığın ilk 15 yılında çok fazla değilken sonrasında hızla artar. Glomerül bazal membran kalınlığının artması hastalığın daha erken dönemlerinde görülür ve mikroalbuminüri ile ilişkilidir. Öte yandan Mes/Glom oranı, albuminüri, GFH azalması ve diyabet süresiyle daha fazla ilişkilidir. Mes/Glom artışı ve GBM kalınlaşması normoalbuminüriden proteinüriye kadar değişen derecede albumin atılımının yaklaşık % 60'ını açıklar (6).

Mes/Glom oranının artışı GBM filtrasyon yüzeyinin de azalmasıyla birliktedir. Glomerüller, mezengial genişlemeye bağlı azalmış GFH'ı kompanze etmek için büyür. GF yüzeyini korumak için mezengial genişlemeye glomerüler büyüme ile karşılık veremeyen hastalar daha çabuk aşık nefropati geliştirirler (6).

Böbrekteki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler 5 evreye ayrılabilir (51);

**Evre 1:** Diyabetik böbrek hastalığının başlangıcı olup böbrek büyümesi ve GFH'nin artışı (GFH>100 ml/dak/yüzey alanı) ile karakterizedir.

**Evre 2:** Böbrekte glomeruler ve tubuler bazal membran kalınlaşması ve mezengial genişleme gibi yapısal değişiklikler ortaya çıkar. İdrar albumin atılımı (İAA) normal sınırlarda olup GFH hala yüksektir.

**Evre 3:** Tipik olarak yaklaşık 10 yıl veya daha uzun süreli diyabetli hastalarda ortaya çıkar. İdrar albumin atılımının yüksek olması ile (İAA: 30-300 mg/gün veya 20-200µg/dk)

karakterizedir. Bu evre ACE inhibitörleri ve/veya glisemik kontrolün sağlanmasıyla geri dönüşümlü olabilir, aksi halde İAA yılda % 20 oranında artış gösterir.

**Evre 4:** Aşikâr nefropati evresidir. İAA 300 mg/gün veya 200 µg/dk'nın üzerindedir ve makroalbuminüri olarak tanımlanır. İdrar test çubuğu test ile protein pozitifdir. GFH normal sınırlar içine geriler (70-100 ml/dak/yüzey alanı). Tedavi edilmezse GFH yılda 10 ml/dak/azalır ve 5-10 yıl içinde üremiye ilerler (GFH<20 ml/dak/yüzey alanı). Bu evrede böbrekteki yapısal değişiklikler geri dönüşümlü olmayabilir.

**Evre 5:** Son dönem böbrek yetmezliği evresidir. Diyabetin başlangıcından yaklaşık 20-30 yıl sonra ortaya çıkar. Üremik bulgular ve böbrek fonksiyonunda belirgin azalma vardır. Genellikle diyaliz veya böbrek transplantasyonu gerekir.

#### **2.1.6. Diyabetik nefropatide tubullerdeki değişiklikler:**

DN patogenezinde dikkat glomerüller üzerine yoğunlaşmışken tubullerin de önemli bir role sahip olduğu anlaşılmıştır . Tubul hasarı sadece glomerül hasarına ikincil değildir ve diyabetin erken döneminde ortaya çıkabilir (10). T1D'li hastalarda MA olmadan öncede tubulointerstitiyel hasar belirteci olan liver-type fatty acid-binding proteinin (LFABP) idrarda atılımı yüksek bulunmuştur (12).

Özellikle proksimal tubul DN patogenezinde kritik role sahiptir. Proksimal tubul başta hiperglisemi olmak üzere diyabete sürecindeki hemodinamik ve metabolik değişikliklere karşı çok hassastır. Glukoz proksimal tubul hücrelerine insülinde bağımsız olarak girer; bu durum proksimal tubulun kronik hipergliseminin zararlı etkilerine daha duyarlı olmasına yol açmaktadır. Kronik hiperglisemi sonucu proksimal tubullerde hipertrofi, atrofi ve azalmış organik iyon transportu gibi değişiklikler meydana gelir (10).

##### **2.1.6.1 Diyabetik nefropatinin başlangıcında tubuller:**

Diyabetik böbrek hasarının erken döneminde hiperfiltrasyon ve böbrek büyümesi ön plandadır.

Büyüme; böbreklerin hipertrofi ve hiperplazisi nedeniyle oluşur. Proksimal tubuller böbrek büyümesine önemli katkı yapar. Tubul büyüklüğünün artması proksimal tubul reabsorbsiyonunun artışı ile sonuçlanır. Diyabetin erken dönemlerinde görülen proksimal tubul geri emiliminin artışı insülin bağımsız sodyum glukoz transportunun artışı ve tubuler büyüme nedeniyledir. Proksimal tubuldeki aşırı geri emilim glomeruler hiperfiltrasyona yol açar. Normoalbuminürik hastalardaki glomeruler hiperfiltrasyonun proksimal Na emilimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca hiperglisemi direkt olarak da Epidermal büyüme faktörü reseptör aktivasyonu ile tubul hücre çoğalmasına neden olabilir (10).

### 2.1.6.2. Diyabetik nefropatinin ilerleyen döneminde tubuller:

Böbrek hasarı bir kez oluştuktan sonra ilerlemeye devam eder. Hiperfiltrasyon glomeruler kapiller basınç artışına yol açar. Glomerüler hipertansiyon endotelial, mezengial ve podosit hasarı sonucu tubuler lümende süzülen proteinlerin artışı yoluyla tubulointertisiyel inflamasyon ve fibrozise neden olur. Bu fonksiyonel nefron sayısının azalması ve glomerül kapiller basıncının daha fazla artışıyla hasarın bir kısır döngü içine girmesiyle sonuçlanır .

Tubulointertisiyel hasar DN'nin ilerlemesinde de önemli rol oynar. İlk olarak atrofik tubul hücrelerinden Na geri emiliminin azalması tubulo-glomerüler feedback ile GFH azalmasına yol açar. Ek olarak tubulointertisiyel hasar glomerül sonrası kapillerlerin daralmasıyla böbrek iskemisine neden olur. Bu ilerleyen dönemde tübüler atrofi gelişmesine katkıda bulunabilir (10).

Son dönem böbrek yetmezliğine gidişte tübüllerin hasarlanmasında hiperglisemi, artmış glikasyon son ürünleri ve intertisiyel fibrozise bağlı hipoksinin yanında proteinüri de önemli bir faktördür. Proteinüri geleneksel olarak böbrek hasarında sadece bir belirteç olarak düşünülmektedir. Fakat böbrek hasarına neden olduğuna dair çok güçlü kanıtlar bulunmaktadır. Proteinüri böbrek hasarında bir prognostik indeks olarak kullanılabilir. İdrarda artmış selektif olmayan protein atılımı böbrek fonksiyonlarının hızla azalacağını ve son dönem böbrek yetmezliğine gidiş riskinin yüksek olduğunu göstergesidir. Proteinüri profibrotik ve proinflamatuvar genlerin uyarılmasıyla TGF- $\beta$  gibi sitokinlerin üretimini artırır. RAS da proteinüri varlığında aktive olmaktadır. Ayrıca proteinüri tubul hücrelerinin miyofibroblastlara farklılaşmasıyla da ilişkilidir. Bu epitelden mezengiale dönüşüm böbrek fibrozisi için kritik bir basamaktır (10).

Albumin proteinürik idrarın ana bileşenidir. Albumin proinflamatuvar kemokinler olan IL-8 ve monosit kemotaktik faktörün (MCP-1) in salınımını da artırır. Albumin bağlı yağ asitleri peroksizom proliferatör faktör gama'yı aktive ederek tübül epitelyum hücrelerinin apoptozisine neden olur (10).

Transferrin; MCP-1, IL-8 ve makrofaj migrauar inhibitör faktör gibi tubuler proinflamatuvar kemokinlerin aşırı üretimine neden olan nefrotik bir proteindir. Kompleman bileşenleri de proteinürik idrarda bulunurlar. Tubulointertisiyel hasarla ilişkili olarak intratubuler C3 aktivasyon derecesi non selektif proteinüri düzeyi ile birlikte artar (10).

C3 sentezi hem transferin hem IL-2 tarafından artırılır. Proksimal tübül apikal membran hücrelerinde C5B-9 birikmesi tubul hasarında rol oynayabilir. Proteinüri içinde ultrafiltre

edilmiş IGF-1, hepatosit büyüme faktörü ve TGF- $\beta$  gibi büyüme faktörleri de intertisiyel fibrozisle ilişkilidir (10).

### **2.1.7. Mikroalbuminürinin tespiti:**

İdrar albumin atılımı: Normal günlük idrar albumin atılımı 20 mg'dan daha azdır. Tekrarlayan ölçümlerde albumin atılımı 30-300 mg/gün (20-200  $\mu$ g/dk) olduğunda mikroalbuminüri olarak adlandırılır. Persistan MA DN'nin erken göstergesidir. Albumin atılımı 300 mg/gün (200  $\mu$ g/dk) üzerinde olduğunda makroalbuminüri, aşikâr proteinüri, klinik renal hastalık veya test çubuğu pozitif proteinüri olarak adlandırılabilir (52). MA veya makroalbuminüri tanısı için 3-6 ay boyunca en az 2-3 kez idrar albumin atılımının yüksek saptanması gerekmektedir (53). Ateş egzersiz, kalp yetmezliği, kötü glisemik kontrol geçici olarak mikroalbumin atılımının yüksek bulunmasına neden olur (54).

MA taraması için 24 saatlik albumin atılımı başlangıçta altın standart yöntem olarak düşünülmesine karşın, sabah bakılan ilk idrar volüm değişikliklerine bağlı hataları azaltır. Öte yandan herhangi bir zamanda bakılan idrar albumin miktarı 20-30 mg/L'nin altındaysa MA olasılığı pek yoktur (54).

Mikroalbuminüri tanısı için ticari olarak üretilmiş test çubukları kullanılabilir. Bu testlerin sensitivitesi %80-97 spesifitesi %33-80 arasında değişmektedir (55). Albumin atılımı idrar volümü ve albumin miktarı ile belirlendiği için test çubukları yalancı pozitif veya negatif sonuç verebilirler. Bu nedenle sabah ilk idrarda tekrarlayan ölçümler yapılması daha doğru sonuçlar verecektir (56).

Albumin kreatinin oranı: Albumin kreatinin oranı 30-300 mg/gr kreatinin ise albumin atılımı muhtemelen 30-300 mg/gün'dür. Albuminürinin tespiti için herhangi bir zamanda bakılan albumin kreatinin oranı tarama için yüksek sensitivite ve spesifiteye sahiptir (57). Egzersiz albumin atılımını geçici olarak arttırdığı için hastalar 24 saat öncesinde ağır egzersiz yapmamalıdır. Kreatinin atılımı zayıf kişilerde azalmışken kas yapısı fazla olanlarda artmıştır. Irklar arasında da kreatinin atılımı açısından farklılıklar vardır (58).

Amerikan Diabet Derneği (ADA) 10 yaşından itibaren ve diyabet süresi 5 yılın üzerindeki hastalarda yıllık nefropati taraması yapılmasını önermektedir (59). Öte yandan ISPAD diyabet süresi 5 yılın üzerindeyse 9 yaş veya diyabet süresi 2 yılın üzerinde ise 11 yaşından itibaren tarama yapılmasını önermektedir (1). Taramalarda sabah ilk idrarda veya rastgele alınan idrarda albumin kreatinin oranının değerlendirilebilir (1,59).

### 2.1.8. Diyabetik nefropati tedavisi:

Hastaların büyük çoğunluğunda MA kendiliğinden normoalbuminüriye gerileyebilir. T1D'li bir hastada proteinüri hastalık başlangıcından sonra 5 yıldan daha kısa sürede ortaya çıkıyorsa glomerüler başka bir hastalık olup olmadığı denetlenmelidir. Sıkı glisemik kontrolün sağlanması DN in önlemesi için en önemli faktördür. Hastaların %15-65 inde normale yakın glisemik kontrolün sağlanması ile MA normoalbuminüriye gerileyebilir. Kötü glisemik kontrol MA için ACE inhibitörleri kullanılıyor olsa bile böbrek hastalığının ilerlemesi için risk faktörüdür (60). Test çubuğu pozitif proteinüri gelişmiş olsa bile sıkı glisemik kontrolün sağlanması böbreğin hasarlanma hızını yavaşlatabilir (61). Yoğun insülin tedavisi glomerüler hasarı ve hiperfiltrasyonu geriye döndürebilir. Albumin atılımının artışı geciktirebilir (62) .

ACE inhibitörleri ile kan basıncı kontrolünün sağlanması normotansif hastalarda bile albumin atılımını azaltabilir ve makroalbuminüriye gidişi engelleyebilir (63, 64, 65).

Angiotensin converting enzim inhibitörü Kaptopril tedavisiyle MA'lı hastaların yıllık albumin atılımı % 9,6 azalırken plasebo verilenlerin albumin atımlarının %14,2 arttığı gözlenmiştir (66). Mikroalbuminüri hastalarda ACE inhibitörleri ve Angiotensin (Ang) 2 reseptör blokörleri serum kreatinin artışını önler. ACE inhibitörleri tüm mortalite nedenlerini azaltırken Angiotensin 2 reseptör blokörleri yüksek mortalite ile ilişkilidir. Lisinopril ve enapril çocuklarda güvenle kullanılabilen ACE inhibitörleridir Ang 2 reseptör blokörlerinin ise çocuklarda yaygın kullanımı henüz yoktur (67).

### 2.2.Kidney Injury Molecule-1 :

KIM-1 bir Tip 1 membran glikoproteinidir; İlk olarak 1998 yılında Ichimura ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. %90'ından fazlası proksimal tubulde sentez edilmektedir. KIM-1 aynı zamanda daha düşük düzeylerde lenfositlerde sentezlenir. T hücre immunglobulin musin-1 (TIM-1) ve hepatositlerde hepatit A virüs hücresel reseptör-1 (HAVCR-1) olarak adlandırılır. KIM/TIM ailesi farelerde 8, ratlarda 6 ve insanlarda 3 üyeden oluşur. Özellikle akut ve kronik hasar sonrası özellikle proksimal tubullerin apikal membranlarında sentezi artmaktadır (68,69) . Tubullerde KIM-1 sentezlenmesi özellikle inflamasyon ve tubul hasarı ile ilişkilidir. Tubul epitel hasarını başlatan birçok faktör tubul hücrelerinde KIM-1 ekspresyonuna yol açar. Deneysel olarak oluşturulan iskemi reperfüzyon sonrası 3 saat içinde KIM-1 gen ve ürünlerinin ortaya çıktığı saptanmıştır. Beyin ölümünden 6 saat sonra

tubullerde herhangi bir yapısal bir değişiklik bulgusu olmaksızın KIM-1 in yükseldiği gözlenmiştir (69).

Tubullerde KIM-1 üretimi intertisiyel fibrozis ve makrofaj birikimi gibi intertisiyel ve mezangial matriks genişlemesi, fokal ve segmental glomeruloskleroz ve glomeruler makrofaj birikimi gibi glomerul patolojileriyle ilişkili olarak arttığı gösterilmiştir. Deneysel olarak renin anjiotensin aktivitesinin arttığı tubulointertisiyel durumlarda da KIM-1in sentezlendiği gösterilmiştir (69).

Sisplatin, folik asit, siklosporin, iyotlu kontrast madde ve diğer nefrotoksik ajanlara bağlı akut hasarlarda, akut ve kronik allograft nefropatisinde dönemde KIM-1 artışı gözlenmiştir (69). Fokal glomeruloskleroz, IgA nefropatisi, membranöz ve mebranoproliferatif glomerulonefrit akut ve kronik allograft nefropatisi, sistemik lupus eritematozus, Wegener granülomatosisi ve DN'de tubullerde özellikle inflamasyon ve fibrozis bölgesinde KIM-1 sentezinin arttırdığı gösterilmiştir (70). Diyabet oluşturulan farelerde birinci ayda KIM-1 düzeyi 20 kat artmıştır (13). İdrar KIM-1 düzeyleri böbrekteki inflamasyonla ilişkili olup böbrek fonksiyonları ile ters orantılıdır (69).

Sinyal peptidi olarak görev yapan immunglobulin benzeri alan ve musin bölgesinden oluşan hücre dışı parçası, transmembran protein ve tirozin fosforilaz sinyali içeren kısa bir intrasellüler bölgeden oluşur. KIM-1'in dış parçası proksimal tubul hasarı sonrası dökülür. Metalloproteinaz aktivitesi çözünebilir KIM-1'in salınmasına neden olur (şekil 6). Bu dökülmenin en azından bir kısmı strese bağlı olarak MAP kinaz sinyal yolağı tarafından düzenlenir (71).

KIM-1 adezyon moleküllerine benzer şekilde hücreler arası ve hücre matriks etkileşimde görev aldığı, lümene dökülen parçaların koruyucu bir tabaka oluşturabileceğine dair görüşler vardır. KIM-1 epitel hücrelerinin ölü hücreleri tanımasını ve fagositozunu sağlar. KIM-1 bir fosfatidilserin reseptörüdür. Apoptotik hücreleri tanır ve onları lizozomlara yönlendirir. Ek olarak apoptotik artıkların tubul lumeninden temizlenmesine yardımcı olur (69).

İdrarda ölçülen KIM-1 ile böbrek biyopsilerde tespit edilen KIM-1 düzeyleri birbiriyle uyumludur. Northern veya Western Blot yöntemleriyle normal böbrekte tespit edilemeyen KIM-1 ELISA yöntemi ile sağlıklı insanlarda bir miktar tespit edilebilir. Son zamanlarda üretilmiş olan test çubukları (RenaStick) ile hızlı ve duyarlı KIM-1 ölçümü de yapılabilmektedir (69).

Böbrek hasarının düzelmesiyle birlikte KIM-1 sentezinin azaldığı gözlenmiştir. Diyabeti olmayan proteinürik hastalarda anti proteinürik tedavi ile KIM-1 salınımı gerilemiştir. Bu

bilgilerin ışığında böbrek hasarının tespitinde ve tedavinin izleminde bir belirteç olarak kullanılabilmektedir (69).

### **2.3. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin:**

Lipocalin ailesi üyesi 25 Kd luk küçük bir proteindir. Lipocalin 2 olarak da bilinmektedir. Nötrofillerde ve epitel hücrelerinde ekprese olur. İlk olarak Mishra ve arkadaşları farelerde iskemi sonrası yükseldiğini tespit etmişlerdir. Hayvan modellerinde iskemik veya nefrotoksik böbrek hasarında en sık aktive olan proteinlerden biridir. NGAL, nötrofillerdeki matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9)' a kovalen olarak bağlanır. Sideroforlar dolaşımdaki demiri almak için bakteriler tarafından sentezlenir. NGAL'in sideroforlara bağlanarak azaltılmasıyla bakteristatik bir etki sağlanır. Öte yandan ökaryot hücreler tarafından üretilen sideroforlarla NGAL aracılı demir taşınması çeşitli hücrelerin çoğalması ve farklılaşması için kritik öneme sahiptir. İnsanlarda uterus, prostat, salgı bezleri, akciğer karaciğer (72), kolon, trakea, mide ve böbrekte değişik derecelerde NGAL gen ekspresyonu olmaktadır (74). NGAL çok sayıda kanser türünde kötü prognoz göstergesidir. NGAL' in fazla üretilmesi MMP-9'u bağlayarak bozulmasını önler ve MMP-9 enzim aktivitesinin artışına yol açar. MMP-9 bazal membran ve ekstrasellüler matriksin bozulmasına vasküler endotelial büyüme faktörünün salınımı yoluyla anjiyogenezis, invazyon ve metastazın artmasına neden olur. Ayrıca NGAL hücreler arası iletişimde, böbrek gelişiminde görev almaktadır (72-74).

Esasen proksimal tubul kökenli olarak tespit edilmiş olmasına rağmen sonraki çalışmalar henle ve toplayıcı kanalların NGAL için ana üretim bölgesi olduğu bulunmuştur. Plazmadaki NGAL glomerüllerden kolayca filtre olabilmesine karşın proksimal tubullerden megalin bağımlı endositoz yoluyla geri emilmektedir. İntravenöz olarak verilen NGAL in çok az bir kısmının idrara verildiği tespit edilmiştir(<0,2) (75). İdrardaki NGAL proksimal tubul hasarına bağlı geri emilimin bozulması ve yeni NGAL sentezi sonucuyla olabilir. Böbrek hasarı sonucu üretilen NGAL sistemik dolaşıma verilmeden üreterler yoluyla atılmaktadır. Akut böbrek hasarı sonucu karaciğer ve akciğer gibi diğer organlarda da yüksek miktarda NGAL üretilmekte fakat bu NGAL ayrı bir sistemik havuza verilmektedir (72-75).

Kardiyopulmoner by-pass sonrası serum ve idrar NGAL düzeyi 2-6 saatte yükselen hastaların takibinde akut böbrek hasarı (ABH) gelişmiştir (ABH serum kreatininin takip eden 1-3 günde iki katına çıkması olarak tanımlanmıştır) (73). Kardiyopulmoner by-pass yapılan 374 çocukta NGAL düzeyi cerrahi sonrası 2 saatte yükselmiş ve en az 48 saat bu yüksek kaldığı tespit edilmiştir. 2 saatteki bu yükselişin akut böbrek hasarının erken ve güçlü bir göstergesi olarak saptanmıştır. Kardiyak kateterizasyon için kontrast madde verilmesini takiben 2 saat içinde

yükselen serum ve idrar NGAL düzeyi kontrast nefropatisinin erken dönemde tespitinde kullanılmıştır. Cisplatin ve siklosporin ilişkili böbrek hasarında da NGAL yüksekliği rapor edilmiştir. Çeşitli nedenlerle çocuk yoğun bakım ünitesinde yatan çocuklarda serum kreatinin yükselmeden 1-2 gün öncesinde NGAL yükselmeye başlamıştır. Akut hasarın yanında kronik böbrek yetmezliğinde çocuklarda da belirteç olarak kullanılabilir. Diyare ilişkili Hemolitik üremik sendromda yükselen NGAL seviyesi diyaliz gereksinimi ve akut böbrek hasarının öngörülmesi açısından yüksek sentitive ile göstermiştir. IgA nefropatisi ve lupus nefriti gibi kronik hasarlı hastalarda da erken belirteç olarak kullanılmıştır. İdrar yolu enfeksiyonlarında NGAL in prediktif gücü böbrek hasarının şiddetine bağlı olarak artmaktadır (73,74).

Başlangıçtaki NGAL çalışmaları Western-Blood yöntemi yapılmış olsa da sonrakilerde ELISA kullanılmıştır. Hasta başında plazma NGAL ölçümü yapan kitler (Triage) de bulunmaktadır. Ayrıca idrar NGAL ölçümü yapan standardize cihazlarda (ARCHİTECT ) kullanılmaktadır (72,73).

Plazma NGAL ölçümleri kronik böbrek yetmezliği, kronik hipertansiyon, sistemik enfeksiyonlar, anemi, hipoksi, malignitelerden etkilenebilir (72,73).

#### **2.4 KIM-1, NGAL ve Diyabet :**

Bolignano ve ark. antihipertansif, ACE inhibitörü veya Ang 2 reseptör blokörü kullanan 56 T2D'li hasta (16 NA, 19 MA ve 21 DN) ve 18 sağlıklı olguda serum ve idrar NGAL düzeylerini karşılaştırmışlardır. NA hasta grubunda DM izlem süresi ortalama 12 (9-15) yıldır. Bu çalışmada NA hasta grubunda serum ve idrar NGAL düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olarak bulunmuştur. Ayrıca MA ve nefropati grubundaki idrar NGAL düzeyleri NA grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuşken NA ve MA grubu arasında serum NGAL düzeyleri arasında fark bulunamamıştır. Serum NGAL ile idrar NGAL ( $r=0,58$ ) ve serum kreatinin arasında pozitif, GFH ile negatif korelasyon saptanmış, idrar NGAL ile albuminüri, proteinüri, serum kreatinin arasında pozitif korelasyon GFH ve serum albumin ile negatif korelasyon göstermiştir. Bu çalışmada da HbA1c ve serum glukoz düzeyi ile NGAL arasında ilişki bulunamamıştır. Albumin atılımı normal olanlarla MA ve DN grubunu ayırmada idrar NGAL için spesifite % 100 sensitivite % 75, serum NGAL için spesifite %100 sensitivite % 93,7 bulunmuştur (16).

Zachwieja T1D'li GFH'leri ve İAA normal sınırlar içinde olan 24 çocukta ve 14 sağlıklı bireyde NGAL ve inflamasyon belirteci olarak IL-8 düzeyine bakmışlardır. Hastaların

ortalama takip süresi  $6,1 \pm 3,25$  yıldır. IL-8 düzeyinde farklılık bulunmazken hem serum hem de idrar NGAL düzeyi hasta grubunda kontrollere göre artmış olarak bulunmuştur. Serum ve idrar NGAL ile albumin atılımı arasında ilişki bulunmuştur ( $r=0,51$ ). HbA1c ve GFH ile serum ve idrar NGAL düzeyi arasında ilişki saptanamamıştır. Serum NGAL için diyabet hastalarını kontrollerden ayırmada spesifite % 79 sensitivite % 63, Pozitif Prediktif Değer (PPD) % 82, Negatif Prediktif Değer (NPD) % 58 bulunmuştur (76).

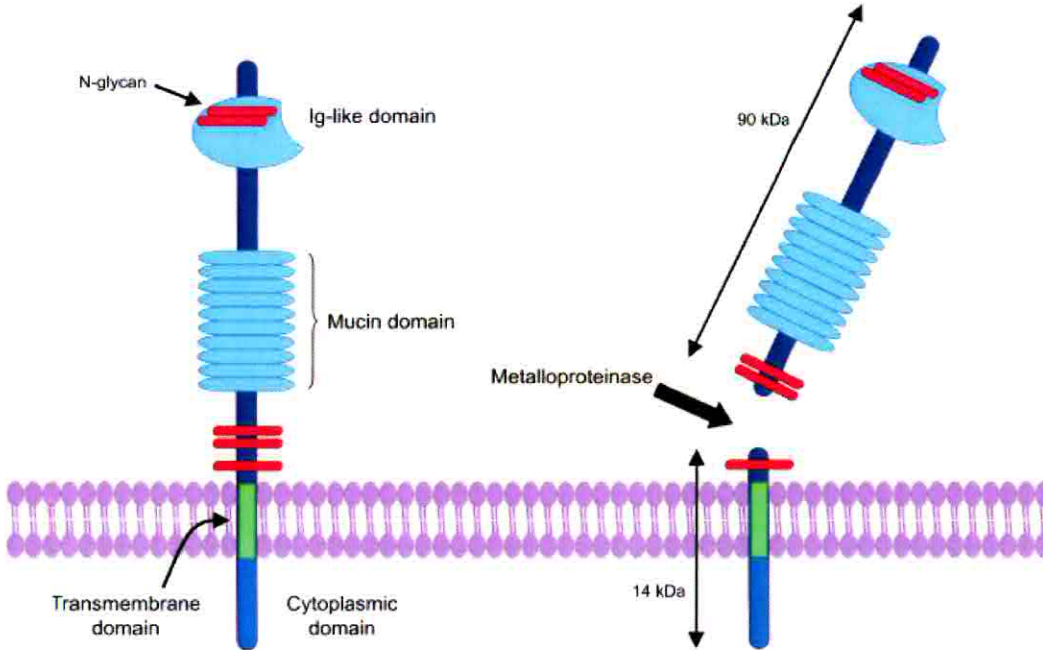
Nielsen ve ark. T1D'li hasta grubunda (58 NA, 45 MA, 45 makroalbuminürik) ve 55 sağlıklı bireyde NGAL ve KIM-1 düzeylerini değerlendirmişlerdir. Antihipertansif tedavi alma oranı NA grupta % 48, MA ve Makroalbuminüri grubunda ise %93 olarak verilmiştir. NA grupta diyabet süresi 37 yıl'dır. İdrar NGAL seviyesi NA grubunda bile kontrollere göre yüksek bulunmuş albumin atılımının derecesi ile birlikte idrar NGAL seviyesinin de arttığı gösterilmiştir. İdrar NGAL düzeyi makroalbuminüri grubunda normoalbuminüri grubuna göre yüksek olmakla beraber MA grubu ile NA ve makroalbuminüri grubu arasında fark bulunmamıştır. İdrar NGAL düzeyi ile yaş, BMI, kan basıncı arasında ilişki saptanamamıştır. Plazma NGAL düzeyi NA ve MA grubunda kontrollere göre yüksek bulunmuş fakat MA ve kontroller arasında farklılık saptanamamıştır (14).

Ferdau ve ark. T1D ve T2D'li 95 hasta (NA, MA ve makroalbuminüri) ve 45 sağlıklı bireyde proksimal tubul hasarı için KIM-1, NGAL, Sistatin C, NAG (N-asetil- $\beta$ -D-glukozaminidaz), glomerüller hasar için IgG ve distal tubul belirteci olan kalp yağ asidi bağlayıcı protein (H-FBAP) düzeyini değerlendirmiştir. Normoalbuminürik hasta grubunun % 65'i antihipertansif veya diüretik (%85 antihipertansif %32 diüretik) tedavisi almaktayken bu oran kontrollerde % 4 olarak verilmiştir. Bu çalışmada normoalbuminüri hastaların ortalama takip süresi  $24 \pm 11$  yıl'dır. Kontrol ve NA hastalar arasında glomerüller belirteç IgG arasında fark bulunmazken tubul belirteçleri NGAL, KIM-1, H-FBAP düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. KIM-1 hariç diğer tüm belirteçler albuminurinin şiddetiyle ilişkili bulunmuştur. KIM-1 seviyesi diyabetik grupta kontrollere göre yüksek saptanmıştır fakat diyabetik grup içinde farklılık bulunmamıştır. KIM-1 ile yaş cinsiyet, kolesterol düzeyi, BMI, kan basıncı, GFH arasında ilişki kurulamamıştır. KIM-1 ile albuminüri artışı arasında zayıf korelasyon tespit edilmiştir ( $R^2=0,06$ ). idrar NGAL ile KIM-1 arasında zayıf bir korelasyon bulunmuştur ( $R^2=0,1$ ). Lisinopril tedavisi ile 2 ayın sonunda NGAL düzeyinde anlamlı olmayan bir düşme gözlenmiştir (77).

Wen-jin-Fu ve ark. 5 yılın altındaki 101 T2D ( 61 NA, 24 MA, 16 makroalbuminuri) ve 28 sağlıklı bireyde NGAL, NAG ve KIM-1 düzeylerini değerlendirmiştir. Bu çalışmada normoalbuminik hastalarla kontrol gurubu arasında NGAL için 2, NAG için 1,5 ve KIM-1 de 1,2 kat anlamlı artışlar saptanmıştır. KIM-1 ve NGAL düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır ( $r=0,038$ ). İdrar NGAL normoalbuminüri grubunda kontrollere göre yüksek bulunmuştur. NGAL makroalbuminüri grubunda diğer gruplara göre, MA grubunda NA ve kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. İdrar NGAL düzeyi idrar albumin kreatinin oranıyla güçlü pozitif ( $R=0,556$ ) GFH ile negatif korelasyon ( $R=-0,215$ ) korelasyon göstermiştir. KIM-1 tüm diyabetik gruplarda kontrol gtrubunda göre yüksek bulunurken diyabetik gruplar arasında farklılık görülmemiştir (15).

Nielsen ve arkadaşlarının 2011 yılındaki çalışmalarında ortalama diyabet süresi 28 yıl olan 78 T1D'li diyabetik nefropatisi olan hastada 4 yıllık izlemin sonunda idrar NGAL artışının son dönem böbrek yetmezliğine gidiş ve ölümle ilişkili olduğu GFH azalması ile ilişkili olmadığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada HbA1c artışının da idrar NGAL artışı ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (17).

**Şekil 6. Kidney Injury Molecule-1'in yapısı (69):**



### 3. MATERYAL METOD

Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalı'nda T1D tanısıyla 3 yıldan daha uzun süredir takip edilen, tekrarlayan ölçümlerde 24 saatlik idrar mikroalbumin düzeyleri 30 mg/gün'ün altında saptanan 60 hasta ve herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan 60 sağlıklı çocuk kontrol grubu olarak alındı. Malnutriyon, obezite, hipertansiyon, hiperlipidemi, böbrek hastalığı veya akut enfeksiyonu olan çocuklar kontrol grubu dışında bırakıldı.

Çalışma protokolü, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu tarafından incelendi ve onaylandı (Karar No:2009/9, Sayı:21, Tarih:17.09.2009).

Hastaların fizik incelemeleri sonrasında HbA1c, lipid düzeyleri, BUN, serum ve idrar kreatinin, 24 saatlik idrar mikroalbumin düzeyleri çalışıldı. Eşlik edebilecek diğer otoimmün hastalıklar için tiroid fonksiyon testleri, tiroid otoantikörleri, anti-endomisyum ve anti-gliadin antikörleri, karaciğer fonksiyon testleri çalışıldı. Hastalar retinopati ve nöropati açısından tarandı. Hasta grubuna 24 saatlik kan basıncı monitorizasyonu yapıldı. Hastaların dosya kayıtlarından takip süresi, son bir yıldaki, son 2 yıldaki ve hastalığın başından bu yana olan HbA1c ortalamaları hesaplandı. Yaş ve hastalığın başlangıç yaşı, takip süresi desimal yıl olarak kayıt edildi.

Sağlıklı kontrollerde fizik incelemenin yanı sıra kan şekeri, serum lipid, BUN, kreatinin ile tam idrar analizi ve idrar kreatinin değerlerine ölçüldü. Türk çocuklarına göre belirlenen L, M, S değerleri ile VKİ standart deviasyon skorları hesaplandı. Obezite yaş ve cinsiyete göre VKİ>97 persentilin üzerinde olması olarak tanımlandı (78). LDL>100 mg/dl, TG>150 mg/dl veya HDL<40 mg/dl olması dislipidemi olarak değerlendirildi(79).

Glomerüler filtrasyon hızı Schwartz formülü ile hesaplandı:

$GFH = k \times \text{boy (cm)} / \text{serum kreatinin}$ ;  $k = 0,55$  (adölesan kızlar),  $0,7$  (adölesan erkekler)

Ambulatuvar kan basıncı ölçümü için gün içinde (08.00'den itibaren) 30 dakikada bir ve 23:00'den itibaren 1 saat arayla ölçüm yapacak şekilde ayarlanan Tracker NIBP 2, Delmar Reynolds kullanıldı. Cihaz ile birlikte gelen standart manşonlardan [küçük (20-24 cm), orta (24-32 cm) ve büyük (32-38cm)] hastanın koluna en uygun olanı dominant olmayan kola takıldı. Hastalardan manşonun şiştiği ve söndüğü anlarda hareketsiz olmaları, yoğun egzersiz dışında günlük aktivitelerine devam etmeleri istendi. Sistolik kan basıncı <240 mmHg ve >70

mmHg olduğunda, diyastolik kan basıncı <140 mmHg ve >40 mmHg olduğunda ölçümler geçerli kabul edildi (80).

Tüm ölçümler ABPM'nin cinsiyet ve boya göre normal verileri dikkate alarak SDS'ye çevrildi (80). Gündüz/gece, sistolik/diyastolik SDS değerlerinden en az birinin cinsiyet ve yaşa göre 95 persentilin üzerinde olması hipertansiyon olarak tanımlandı (81).

### 3.1. KIM-1 ölçümü :

KIM-1 ve NGAL için sabah ikinci idrardan ayrılan örnekler çalışma süresine kadar -70°C' de saklandı. Örnekler, OMÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda biyokimya uzmanı tarafından çalışıldı. Uzman, örneklerin çalışma ya da kontrol grubun ait olduğunu bilmemekteydi

KIM-1 sandwich ELİSA (R&D Cat# DY1750, Minneapolis, MN): Plate Hazırlanması; Costar marka EIA mikropate kuyucuklarına; fosfat buffer saline (PBS, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8.1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ile hazırlanmış 0,2 µm filtreden geçirilerek pH'ı 7.2-7,4 e ayarlanmış fosfat tamponu) içinde dilüe edilerek konsantrasyonu 0.4 µg/mL olacak şekilde dilüe edilen "capture antibody"den (72 µg/mL), her bir kuyucukta 100 µL olacak şekilde pipetlenerek kaplandı. Plate daha sonra üzeri adheziv strip ile kapatılarak bir gece oda ısısında inkübe edildi. Ertesi gün plate'in her kuyucuğu otomatik mikropate yıkayıcı ile (Bio-Tek) aspire edilip , 400 µL wash buffer (0.05% Tween-20 in PBS, pH 7.2-7.4) ile yıkandı. Bu işlem iki defa tekrarlandı. Plate'ler her bir kuyucuğa 300 µL reagent dilüent (1% BSA in PBS, pH 7.2-7.4, 0.2 µm filtered) koyularak bloke edildi ve 1 saat oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, bir önceki yıkama işlemi süreci tekrarlanarak kuyucuklar yıkandı. Plate numune eklenmesi için hazır hale getirilmiş oldu. 100 µL standart (rekombinant insan KIM-1 ile dilüe edilerek hazırlanmış 7 adet standart) ve idrar örnekleri belirlenmiş kuyucuklara pipetlendi. Her bir standart 2 kuyucuk adhezif strip ile kapatıldı ve 2 saat süreyle oda ısısında 400 rpm "orbital shaker"da inkübasyona konuldu. Plate aynı yıkama protokolü ile yıkandı ve her kuyucuğa 100 µL "detection antibody" (400 ng/mL çalışma konsantrasyonuna reagent dilüent ile dilüe edilen biotinylated goat anti-human KIM-1) eklendi. Plate yeni bir adhezif strip ile kaplandı, oda ısısında 400 rpm "orbital shaker"da inkübe edildi. Yıkama basamağı tekrar edildi ve çalışma konsantrasyonuna dilüe edilen 100 µL streptavidin-HRP (horseradish-peroxidase) her kuyucuğa eklendi. Plate ışıktan korunarak, adhezif strip ile kaplandı, oda ısısında 400 rpm "orbital shaker"da 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Yıkama sonrası 100 µL substrat solusyonu (1:1 oranında color reagent A ve B karıştırılarak hazırlanan) kuyulara eklendi, plate ışıktan korunarak, adhezif strip ile kaplandı,

oda ısısında 400 rpm orbital shaker’da 20 dakika daha inkübasyona bırakıldı. Reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 50 µL stop solution (2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) eklendi. Daha sonra plate reader kullanılarak (TECAN plate reader) 450nm.de absorbanslar okunarak kaydedildi. İdrar KIM-1 konsantrasyonu 7 adet standart kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre hesaplandı ve konsantrasyonlar pg/mL olarak ifade edildi.

Standart hazırlanması; Rekombinant human KIM-1, reagent diluent ile 2 kat seri dilüsyon yapılarak 2012 pg/ml, 1006 pg/ml, 503 pg/ml, 256 pg/ml, 128 pg/ml, 64 pg/ml ve 32 pg/ml konsantrasyonlarında 7 adet standart elde edildi.

Analitik test: İdrar kreatinini Roche/ Cobas 8000 (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA) kullanılarak ölçüldü.

### **3.2. NGAL ölçümü:**

İdrar NGAL düzeyleri ticari sandwich enzim ELİSA kiti (BioVendor Human Lipocalin-2/NGAL Cat# RD191102200R, Heidelberg, Germany) ile çalışıldı. Enzimatik reaksiyonlar otomatik mikropalak fotometre ile ölçüldü. İdrar örneklerinde ölçüm içi farklılıklar % 7,03 ölçümler arası farklılıklar % 9,73’idi. NGAL sonuçları “ ng/ml” olarak ölçüldü. Yüksek sonuçlar seyreltilerek tekrar çalışıldı.

Spot idrarda ölçülen NGAL ve KIM-1 düzeyleri günlük idrar miktarı değişimleri nedeniyle kreatinine oranlanarak “ng/mg kreatinin” olarak verildi.

### **3.3.İstatistiksel değerlendirme:**

Verilerin değerlendirilmesinde “The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows versiyon 15.0” istatistik analiz programı kullanıldı. Kategorik verilerin sıklık oranları arasındaki farkın karşılaştırılmasında Ki-Kare ve Fisher’in kesin olasılık testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan verilerin ortalamaları arasındaki farkın karşılaştırılmasında Student-t testi, normal dağılıma uymayan verilerin ortalamaları arasındaki farkın karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı.İstatistik değerlendirmede elde edilen p değerinin <0.05 olması önemli olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışma 60 T1D'li hasta (28 kız, 32 erkek) ve 60 sağlıklı çocuk ve adolesanı içeren kontrol grubunda (32 kız, 28 erkek) yapıldı. Her iki grubun ortalama yaşı  $13 \pm 3$  yıldır. Hasta ve kontrol grubundaki olguların cinsiyet, yaş, GFH, lipid düzeyleri ve serum kreatininleri benzerdi. Hastaların VKİ SDS'leri kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulundu ( $p < 0,001$ ). Hasta grubunda ortalama diyabet tanı yaşı  $6,0 \pm 3,4$  yıl, ortalama diyabet takip süresi  $6,8 \pm 2,2$  yıl'dır. Hastaların 7 (%11,7)'sinde obezite, 17 (% 28)'sinde dislipidemi, 8 (%13)'inde nöropati, 9 (%15)'unda eşlik eden bir otoimmün hastalık bulunurken, fundus muayenesinde retinopati saptanan hasta yoktu (Tablo I,II,III).

**Tablo I. Hasta ve kontrol grubundaki olguların demografik ve klinik özellikleri**

|                                           | Hasta                                | Kontrol                             | p                |
|-------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------|
| <b>Cinsiyet (K/E) n (%)</b>               | 28/32 ( 46,7/53,3)                   | 32/28 ( 53,3/46,7)                  | 0,6              |
| <b>Yaş</b>                                | $13 \pm 3$<br>13 (7,1-17,9)*         | $13 \pm 3$<br>13,6 (6,9-17,9)       | 0,9              |
| <b>Tanı yaşı</b>                          | $6,0 \pm 3,4$<br>5,8 (0,8-113,9)     |                                     |                  |
| <b>VKİ SDS</b>                            | $0,3 \pm 1,0$<br>0,3 (-1,87-2,10)    | $-0,3 \pm 0,9$<br>-0,5 (-1,80-1,37) | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>Obezite n (%)</b>                      | 7 (11,7)                             |                                     |                  |
| <b>Takip süresi (yıl)</b>                 | $6,80 \pm 2,20$<br>6,76 (3,10-13,30) |                                     |                  |
| <b>Dislipidemi n (%)</b>                  | 17 (28,3)                            |                                     |                  |
| <b>Nöropati n (%)</b>                     | 8 (13,3)                             |                                     |                  |
| <b>Retinopati</b>                         | -                                    |                                     |                  |
| <b>Eşlik eden Otoimmün hastalık n (%)</b> | 9 (15,0)                             |                                     |                  |

\*Ortanca değer (en düşük-en yüksek)

**Tablo II. Hasta ve kontrol grubundaki olguların laboratuvar özelliklerinin karşılaştırılması**

|                                        |                                 |                                 |     |
|----------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----|
| <b>Total kolesterol (mg/dL)</b>        | 160,7 ± 30,0<br>156 (91-223)    | 154,2 ± 23,6<br>161 (95-195)    | 0,2 |
| <b>Trigliserid (mg/dL)</b>             | 87,9 ± 44,5<br>74 (33-270)      | 80,9 ± 31,2<br>79 (40-133)      | 0,3 |
| <b>LDL (mg/dL)</b>                     | 56,0 ± 14,8<br>84 (43-184)      | 56,9 ± 16,0<br>76 (29-150)      | 0,9 |
| <b>Serum kre (mg/dl)</b>               | 0,57 ± 0,10<br>0,57 (0,40-0,80) | 0,53 ± 0,11<br>0,54 (0,29-0,88) | 0,6 |
| <b>GFH (mL/min/1.73 m<sup>2</sup>)</b> | 157 ± 28<br>157 (114-220)       | 163 ± 24<br>160 (124-227)       | 0,2 |

**Tablo III. Hasta grubundaki olguların laboratuvar özellikleri**

|                                                            |                                                           |
|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| <b>Son HbA1c</b>                                           | 8,6 ± 1,0<br>8,5 (5,9-11,8)                               |
| <b>Son 1 yıldaki HbA1c ortalaması</b>                      | 8,6 ± 1,0<br>8,6 (6,0-11,6)                               |
| <b>Son 2 yıldaki HbA1c ortalaması</b>                      | 8,6 ± 1,0<br>8,5 (5,7-11,8)                               |
| <b>Tanıdan sonraki toplam HbA1c ortalaması</b>             | 8,2 ± 1,0<br>8 (5,6-11,3)                                 |
| <b>HbA1c'ye göre metabolik kontrolün değerlendirilmesi</b> | HbA1c <7,5 12 (20,0)<br>7,5-9, 37 (61,7)<br>> 9 11 (18,3) |
| <b>Günlük insülin dozu (ünite/kg/gün)</b>                  | 0,95 (0,50-1,60)                                          |
| <b>24 saatlik idrar albumin atılımı (mg/gün)</b>           | 10,0 ± 7,5 (2-28)                                         |

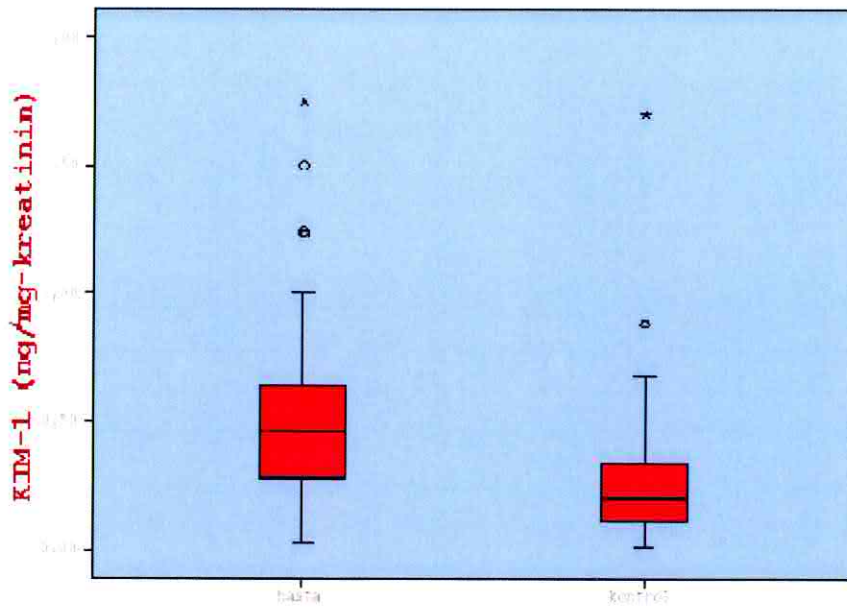
#### 4.1.KIM-1 VE NGAL Sonuçları

Hasta grubundaki olgularda KIM-1 düzeyi ortalama  $0,50 \pm 0,34$  ng/mg kr, kontrol grubundaki olgularda ise  $0,26 \pm 0,25$  ng/mg kr, NGAL düzeyi hasta grubundaki olgularda  $33,0 \pm 31,0$  ng/mg kr, kontrol grubunda yer alan olgularda  $12,4 \pm 13,3$  ng/mg kr'di (Tablo IV) (Şekil 7,8). Hasta grubunda hem KIM-1 hem de NGAL düzeyleri kontrol grubundaki olgulara göre yüksek saptandı. Hasta ve kontrol grubunun KIM-1 ve NGAL düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0,001$ ).

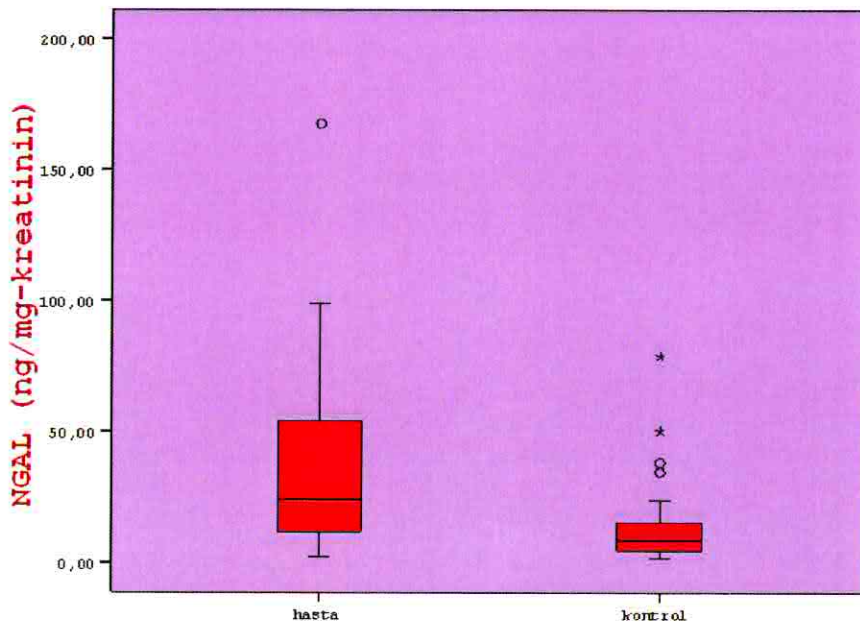
**Tablo IV. Hasta ve kontrol grubunda yer alan olguların KIM-1 ve NGAL sonuçları**

|                  | Hasta                           | Kontrol                         | p       |
|------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------|
| KIM-1 (ng/mg kr) | 0,50 ± 0,34<br>0,46 (0,03-1,75) | 0,26 ± 0,25<br>0,20 (0,02-1,70) | < 0.001 |
| NGAL (ng/mg kr)  | 33,0 ± 31,0<br>23,6 (2,3-167)   | 12,4 ± 13,3<br>8,8 (1,8-79)     | < 0.001 |

**Şekli 7. Hasta ve kontrol grubunda yer alan olguların KIM-1 değerleri**



**Şekil 8. Hasta ve kontrol grubunda yer alan olguların NGAL değerleri**

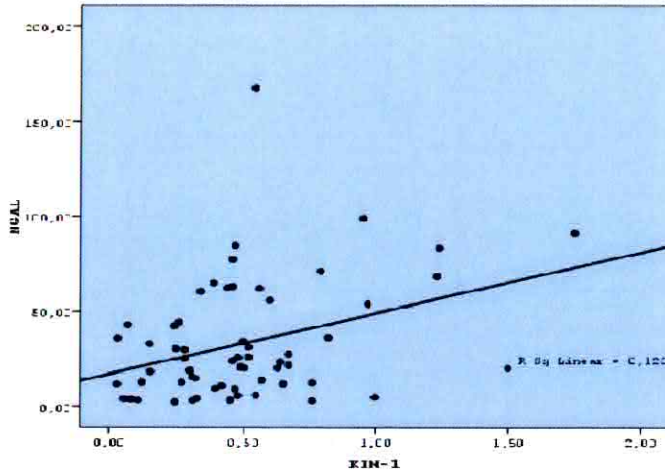


Tüm gruplarda değerlendirme yapıldığında KIM-1 ve NGAL arasında orta derecede güçlü bir korelasyon saptanırken ( $p=0,001$ ,  $r=0,440$ ), sadece hasta grubunda KIM-1 ve NGAL arasında zayıf bir korelasyon olduğu gözlemlendi ( $p=0,02$ ,  $r=0,289$ ) (Tablo V, Şekil 9,10).

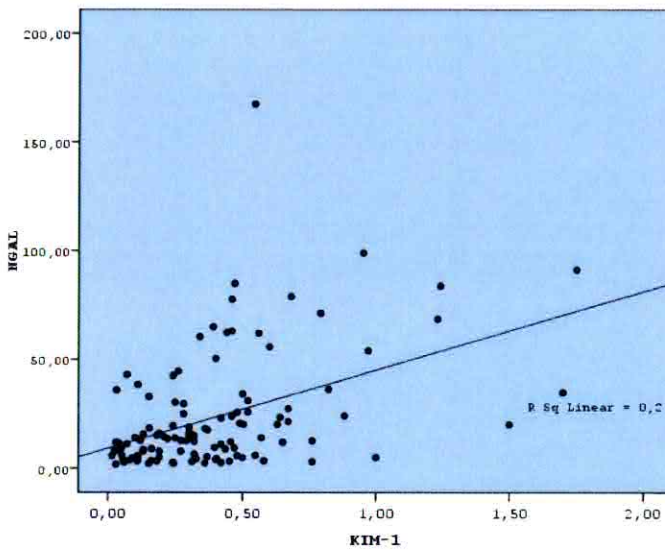
**Tablo V. KIM-1 ve NGAL Korelasyonu**

|                              | <b>r</b> | <b>p</b>          |
|------------------------------|----------|-------------------|
| <b>Hasta + Kontrol grubu</b> | 0,440    | <b>&lt; 0,001</b> |
| <b>Hasta grubunda</b>        | 0,289    | <b>0,02</b>       |

**Şekil 9. Tüm gruplarda KIM-1-NGAL korelasyonu**



**Şekil 10. Hasta grubunda KIM-1-NGAL korelasyonu**



#### 4.2.Korelasyon analizleri

Korelasyon analizinde hastalık süresi, BMD SDS, ,serum kreatinin, HbA1c, GFH, lipid ve idrar albumin atılım düzeyleri ile KIM-1 veya NGAL arasında bağlantı saptanmadı(TabloVI).

| <b>TabloVI . KIM-1 ve NGAL Düzeyi kilinik ve laboratuvar parametrelerin karşılaştırılması</b> |              |          |             |          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|----------|-------------|----------|
|                                                                                               | <b>KIM-1</b> |          | <b>NGAL</b> |          |
|                                                                                               | <b>p</b>     | <b>r</b> | <b>p</b>    | <b>r</b> |
| <b>Takip süresi</b>                                                                           | 0,1          | 0,20     | 0,5         | 0,09     |
| <b>BMD SDS</b>                                                                                | 0,4          | 0,10     | 0,4         | -0,10    |
| <b>SonHbA1c</b>                                                                               | 0,53         | -0,19    | 0,74        | -0,43    |
| <b>Son 1 yıldaki HbA1c ortalaması</b>                                                         | 0,85         | -0,02    | 0,69        | -0,05    |
| <b>Son 2 yıldaki HbA1c ortalaması</b>                                                         | 0,46         | -0,09    | 0,91        | -0,14    |
| <b>Tedavi süresince olan HbA1c ortalaması</b>                                                 | 0,71         | -0,04    | 0,69        | 0,05     |
| <b>Serum kreatinin</b>                                                                        | 0,44         | -0,11    | -0,68       | - 0,07   |
| <b>GFH</b>                                                                                    | 0,7          | 0,07     | 0,6         | 0,07     |
| <b>T.kolesterol</b>                                                                           | 0,20         | -0,165   | 0,64        | -0,06    |
| <b>LDL</b>                                                                                    | 0,98         | -0,03    | 0,69        | -0,05    |
| <b>Trigliserid</b>                                                                            | 0,84         | -0,26    | 0,57        | 0,07     |
| <b>24 saatlik idrar albumin düzeyi</b>                                                        | 0,64         | 0,67     | 0,32        | -0,14    |

#### 4.4 ABPM sonuçlarının değerlendirilmesi

Poliklinik ölçümlerine göre sadece bir hastada hipertansiyon tespit edildi. Ambulatuvar kan basıncı monitorizasyonu sonucu ise hastaların % 64'ünde hipertansiyon, % 45'inde sistolik dipper kaybı, %31'inde diastolik dipper kaybı olduğu saptandı. ABPM sonuçlarının yaşa göre SDS değerleri Tablo VII'da verilmiştir.

Korelasyon analizinde KIM-1 ile 24 saatlik kan basıncı arasında bağlantı saptanırken ( $p=0,025, r=0,343$ ), ABPM parametreleri (ortalama kan basıncı, sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı, sistolik kan basıncı yükü, diastolik kan basıncı yükü, sistolik dipper, diastolik dipper yüzdesi) ile NGAL arasında bağlantı saptanmadı (Tablo VIII).

**Tablo VII. Hastaların ABPM verileri**

|                                |                                        |              |                                  |
|--------------------------------|----------------------------------------|--------------|----------------------------------|
| <b>GÜNDÜZ</b>                  | <b>Ortalama kan basıncı</b>            |              | -0,8 ± 0,8<br>-0,6 (-2,2-1,0)    |
|                                | <b>Sistolik</b>                        |              | 0,45 ± 1,20<br>0,50 (2,0-3,6)    |
|                                | <b>Diastolik</b>                       |              | -0,3 ± 1,0<br>-0,2 (-2,2- 2,4)   |
|                                | <b>Sistolik kan basıncı yükü (%)</b>   |              | 30 ± 25<br>23 (0-100)            |
|                                | <b>Diastolik kan basıncı yükü (%)</b>  |              | 12 ± 14<br>44 (0-100)            |
| <b>GECE</b>                    | <b>Ortalama kan basıncı</b>            |              | -0,2 ± 1,2<br>-0,2 (-2,3- 2,3)   |
|                                | <b>Sistolik</b>                        |              | 1,0 ± 1,0<br>1,0 (-1,6-2,7)      |
|                                | <b>Diastolik</b>                       |              | 0,7 ± 1,2<br>0,7 (-1,6-2,8)      |
|                                | <b>Sistolik kan basıncı yükü (%)</b>   |              | 45 ± 31<br>44 (0-100)            |
|                                | <b>Diastolik kan basıncı yükü (%)</b>  |              | 31 ± 30<br>20 (0-90)             |
| <b>24 saatlik</b>              | <b>Ortalama kan basıncı</b>            |              | - 0,7 ± 0,9<br>- 0,9 (-1,9- 1,4) |
|                                | <b>Sistolik</b>                        |              | 0,6 ± 1,0<br>0,7 (-1,8-2,7)      |
|                                | <b>Diastolik</b>                       |              | -0,1 ± 1,0<br>-0,1 (-1,8- 2,6)   |
| <b>DİPPER</b>                  | <b>Sistolik düşme (%)</b>              |              | 9 ± 6<br>10 (0-21)               |
|                                | <b>Diastolik düşme (%)</b>             |              | 14,0 ± 8,5<br>15 (0-30)          |
|                                | <b>Dipper/non-dipper (sistol) (%)</b>  | <b>n</b>     | 33/27 (55/45)                    |
|                                | <b>Dipper/non-dipper (diastol) (%)</b> | <b>n</b>     | 41/19 (69/31)                    |
| <b>HİPERTANSİYON (var/yok)</b> |                                        | <b>n (%)</b> | 38/22 (64 / 36)                  |

**Tablo VIII. ABPM parametreleri ile KIM-1 ve NGAL arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi**

|                   |                                   | KIM-1        |                 | NGAL |       |
|-------------------|-----------------------------------|--------------|-----------------|------|-------|
|                   |                                   | p            | r               | p    | r     |
| <b>GÜNDÜZ</b>     | <b>Ortalama kan basıncı</b>       | 0,97         | 0,26            | 0,5  | -0,09 |
|                   | <b>Sistolik</b>                   | 0,10         | 0,25            | 0,36 | -0,14 |
|                   | <b>Diastolik</b>                  | 0,17         | 0,21            | 0,23 | -0,18 |
|                   | <b>Sistolik kan basıncı yükü</b>  | 0,87         | 0,02            | 0,62 | -0,07 |
|                   | <b>Diastolik kan basıncı yükü</b> | 0,87         | 0,10            | 0,79 | -0,04 |
| <b>GECE</b>       | <b>Ortalama kan basıncı</b>       | 0,58         | 0,088           | 0,65 | -0,07 |
|                   | <b>Sistolik</b>                   | 0,13         | 0,23            | 0,28 | -0,17 |
|                   | <b>Diastolik</b>                  | 0,85         | 0,03            | 0,67 | -0,06 |
|                   | <b>Sistolik kan basıncı yükü</b>  | 0,75         | 0,11            | 0,5  | -0,09 |
|                   | <b>Diastolik kan basıncı yükü</b> | 0,74         | 0,05            | 0,9  | -0,01 |
| <b>24 saatlik</b> | <b>Ortalama kan basıncı</b>       | 0,09         | 0,26            | 0,57 | -0,09 |
|                   | <b>Sistolik</b>                   | <b>0,025</b> | <b>r =0,343</b> | 0,46 | -0,11 |
|                   | <b>Diastolik</b>                  | 0,16         | 0,16            | 0,43 | -0,12 |
| <b>DİPPER</b>     | <b>Sistolik düşme (%)</b>         | 0,9          | 0,05            | 0,62 | 0,07  |
|                   | <b>Diastolik düşme (%)</b>        | 0,71         | -0,05           | 0,47 | -0,11 |

## 5. TARTIŞMA

Diyabetik nefropati T1D'nin en sık görülen komplikasyonlarından biri olup son dönem böbrek yetmezliğinin önemli bir nedenidir. Erken dönemde alınan önlemler ve uygun tedavi böbrek yetmezliğinin önlenmesinde kritik role sahiptir (1,2). Nefropatinin tespitinde standart olarak MA taraması kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemle hastaların yaklaşık dörtte birinin son dönem böbrek yetmezliğine gidişte gözden kaçtığı saptanmıştır (9). Ayrıca İAA normal olan hastalarda bile böbrekte ağır lezyonlar olabileceği gösterilmiştir (7). Bu nedenle DN taraması için daha duyarlı laboratuvar testlerine ihtiyaç vardır.

Diyabetlilerde böbrek hasarının erken dönemlerinde tubullerinin de rolü olduğu görüşü son dönemde önem kazanmıştır (6). Bu nedenle KIM-1 ve NGAL gibi tubul hasar belirteçlerinin DN'deki yeri araştırmalara konu olmuştur. Sağlıklı bireylerde çok az miktarda sentezlenen KIM-1 böbrek hasarı sonrası idrara salınır. Daha önce akut ve kronik böbrek hasarına yol açan çeşitli durumlarda hasar belirteci olarak kullanılmıştır(68,69). Diyabet oluşturulan farelerde KIM-1'in 1. ayda 20 kat arttığı gösterilmiştir (13). Ayrıca albumin atılımı normal olan yetişkin T1D ve T2D hastalarının idrarında da yüksek tespit edilmiştir (14-17). Diğer bir tubul hasar belirteci olan NGAL ise İAA normal çocuk ve yetişkin diyabet hastaların serum ve idrarlarında da yüksek bulunmuştur (14-17,76).

Bu çalışmada İAA normal olan diyabetlilerde idrar KIM-1 ve NGAL düzeyinin birlikte değerlendirilmesi, sonuçların klinik ve laboratuvar parametrelerle karşılaştırması, bu belirteçlerin klinik pratikte kullanılabilirliğinin tespiti amaçlandı.

Çalışmamızdaki en dikkat çekici sonuç İAA normal olan T1D'li çocuk ve adolesanların KIM-1 ve NGAL düzeylerinin sağlıklı bireylere göre yüksek bulunmasıdır (<0,001). Bu sonuç diyabetin erken döneminde albuminüriden bağımsız olarak tubul hasarı olduğunun göstergesi olarak değerlendirildi. **Zachwieja** ve ark. GFH'leri ve İAA'ları normal sınırlar içinde olan 24 T1D'li çocukta ve 14 sağlıklı bireyde NGAL ve inflamasyon belirteci olarak IL-8 düzeyini değerlendirmişlerdir. IL-8 düzeyinde farklılık saptanmazken hem serum hem de idrar NGAL düzeyi hasta grubunda sağlıklı çocuklara göre yüksek olarak bulunmuştur. Zachwieja ve ark. çalışması, İAA normal olan diyabetli çocuklarda NGAL düzeyinin yüksek saptanması ve hastaların takip süresinin ( $6,8 \pm 2,2$  yıl) kısalığı yönüyle çalışmamızla benzer özellikler taşımaktadır (76). **Wen-Jin-Fu** ve arkadaşlarının beş yılın altındaki 101 T2D'li hasta (61 NA, 24 MA, ve 16 makroalbuminuri) ve kontrol grubunda yer alan 28 sağlıklı bireyde NGAL,

NAG (N-asetil- $\beta$ -D-glukozaminidaz) ve KIM-1 düzeylerini inceledikleri çalışmada; normoalbuminik hastalarla kontrol grubu arasında NGAL için 2, NAG için 1,5 ve KIM-1 de 1,2 kat anlamlı artışlar saptanmışlardır (15). **Bolignano** 56 T2D'li yetişkin hasta (16 NA, 19 MA, 21 DN) ve 18 sağlıklı birey arasında serum ve idrar NGAL düzeylerini karşılaştırmıştır. Bu çalışmada DM izlem süresi 12 yıl (9-15) olup, NA hasta grubunda serum ve idrar NGAL düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (16). **Nielsen** ve ark çalışmalarında T1D'li yetişkin hasta grubunda (58 NA, 45 MA, 45 makroalbuminürik) ve 55 sağlıklı bireyde NGAL ve KIM-1 düzeylerini değerlendirmişlerdir. Diyabet süresi ortalama 37 yıl olan NA'lı hasta grubunda KIM-1, idrar ve plazma NGAL seviyesi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (14). **Ferdau** ve ark. T1D ve T2D'li (NA, MA ve makroalbuminürik) 95 yetişkin hasta ve 45 sağlıklı bireyde proksimal tubul hasarı için KIM-1, NGAL, Sistatin C, ve NAG glomerüller hasar için IgG ve distal tubul belirteci olan kalp yağ asidi bağlayıcı proteini (H-FBAP) değerlendirmiştir. Bu çalışmada normoalbuminürik hastaların ortalama takip süresi  $24,0 \pm 11,0$  yıl'dır. Albumin atılımı normal olan hasta grubunda tubul belirteçleri NGAL, KIM-1, H-FBAP düzeyleri kontrol grubundaki olgulara göre yüksek saptanırken, glomerüller belirteç IgG düzeyinde bu iki grup arasında fark bulunamamıştır (77). Çalışmamızda İAA normal olan hastalarda KIM-1 ve NGAL düzeyinin yüksek bulunması literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur ve diyabetin erken döneminde tubul hasarı olduğunun göstergesidir. Özellikle **Ferdau**'nın çalışmasında hasta ve kontrol grubundaki olgular arasında glomerül hasar belirteci olan IgG düzeyleri benzer olduğu halde, hasta grubunda KIM-1 ve NGAL'in yüksek

Çalışmamızda diyabetli olgularda KIM-1 ve NGAL arasında zayıf bir korelasyon olduğu görüldü ( $p=0,02$ ,  $r=0,289$ ). Özellikle NGAL tubul hasarının şiddeti ile birlikte duyarlılığı artan bir belirteç olarak bilinmektedir. Hastalarımızda diyabet takip süresinin kısa olması ve proteinürinin olmaması; tubul hasarının da hafif olduğu ve buna bağlı olarak iki belirteç arasında zayıf korelasyon saptandığını düşündürebilir. Literatürde diyabetli hastalarla yapılan diğer çalışmalara baktığımızda **Nielsen** çalışmasında idrar NGAL ile KIM-1 arasında zayıf bir korelasyon ( $r=0,1$ ) bildirirken (14), **Wen-jin-Fu** KIM-1 ve NGAL düzeyleri arasında korelasyon olmadığını ( $r=0,038$ ) rapor etmiştir. (15). Bu çalışmalar ileri derece nefropatisi olan hastaları da içermektedir. Dolayısıyla tubul hasarının görece olarak daha fazla olduğu düşünülebilecek hasta gruplarında da KIM-1 ve NGAL arasında düşük korelasyon rapor edildiği görülmektedir. KIM-1 proksimal tubul hasarına özgü bir belirteç olarak bilinmektedir (68,69). NGAL ise ilk olarak iskemi sonrası proksimal tubul kaynaklı olarak tespit edilse de sonraki çalışmalar henle ve toplayıcı kanalların NGAL için ana üretim bölgesi olduğunu

göstermiştir (72-74). Bu iki belirtecin tubullerin farklı bölgelerinden salınması aralarındaki korelasyonun zayıf olmasına yol açabilir. Diğer olası sebep çalışmada hastaların ulaşım sorunları nedeniyle idrar örneklerinin sabah ilk idrardan alınamamış olmasıdır. Sabah ilk idrarda belirteçlerin değerlendirilmesi NGAL ve KIM-1 sonuçlarını ve bu belirteçler arasındaki korelasyonu değerlendirmek için daha değerli olabilir.

Korelasyon analizleri sonucunda; glisemik kontrol düzeyi (son HbA1c, son bir yıldaki HbA1c ortalaması, son iki yıldaki HbA1c ortalaması, diyabet süresi boyunca olan tüm HbA1c ortalamaları) hastalık süresi, lipid düzeyleri, serum kreatinin, GFH, idrar albumin atılım derecesi ile KIM-1 veya NGAL arasında bağlantı saptanmadı. **Zachwieja**'nın çalışmasında da HbA1c ve GFH ile serum ve idrar NGAL düzeyi arasında ilişki saptanmazken, albumin atılımı ile ilişkili bulunmuştur ( $r=0,51$ ) (76). **Wen-jin-Fu** idrar NGAL düzeyinin idrar albumin/kreatinin oranıyla güçlü pozitif ( $r=0,556$ ), GFH ile negatif ( $r= - 0,215$ ) korelasyonunu belirlemiştir (15). **Nielsen**'in çalışmasında idrar NGAL düzeyi ile yaş, VKİ, kan basıncı arasında ve KIM-1 ile yaş cinsiyet, kolesterol düzeyi, VKİ, kan basıncı, GFH arasında ilişki kurulamamış, idrar NGAL ve KIM-1 ile albumin/kreatinin arasında zayıf korelasyon tespit edilmiştir (sırasıyla  $r=0,18$ ,  $r=0,06$ ) (17). **Bolignano** idrar NGAL ile albuminuri ( $r=0,55$ ), proteinüri ( $r=0,77$ ), serum kreatinin ( $r=0,77$ ) arasında pozitif, GFH ( $r=-0,72$ ) ve serum albumin ile negatif korelasyon rapor etmiştir, fakat HbA1c ve serum glukoz düzeyi ile NGAL arasında ilişki bulamamıştır (16). **Ferdau** NGAL ile albuminuri arasında ilişki saptamışken KIM-1 ile albumin atılımı arasında ilişki olmadığını yayınlamıştır. Diyabetik nefropatili hastalarda yapılan başka bir çalışmada ise 4 yıllık izlemin sonunda idrar NGAL artışının son dönem böbrek yetmezliğine gidiş ve ölümle ilişkili bulunurken, GFH azalması ile ilişkili olmadığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da HbA1c artışının da idrar NGAL artışı ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (77). **Zachwieja**'nın albumin atılımı normal olan çocuklardaki çalışmasının dışındaki literatür bilgileri normoalbuminüriden makroalbuminüriye kadar İAA değişen ve farklı böbrek fonksiyonlarına sahip yetişkin hasta gruplarındaki diyabetlilere ait sonuçları içermektedir. İleri derece nefropatisi bulunan hastaları da içeren bu çalışmaların hiçbirinde glisemik kontrol ile KIM-1 ve/veya NGAL arasında ilişki rapor edilmemiştir. Yukarıda belirtildiği üzere albumin atılımıyla NGAL ve KIM-1 ilişkisine dair sonuçlar ise çelişkilidir.

Poliklinik ölçümlerinde sadece bir hastada hipertansiyon tespit edilirken, ABPM ile hastaların % 64 ünde hipertansiyon, %27'sinde sistolik dipper kaybı, %19'unda diyastolik dipper kaybı saptandı. Hipertansiyon oranı literatürde ulaşılabilen çalışmalara göre yüksek saptandı.

Holl'un çalışmasında ortalama yaşları  $14,6 \pm 4,2$  yıl ve diyabet süresi  $5,6 \pm 5,0$  yıl olan T1D'li 354 çocuktaki ABPM sonuçlarına göre hastaların %32'sinde hipertansiyon saptamıştır. Ayrıca gündüz ortalama sistolik KB, gecelik sistolik ve diastolik KB'da yükselme ve nokturnal dipping de düşme tespit etmiştir (82). Darcan ve ark. çalışmasında ortalama yaşı  $14,4 \pm 4,2$  olan 68 normotansif T1D'li hastanın ABPM ölçümlerinde NA'sı olan olguların %17,5'inde hipertansiyon ve % 41.1'inde dipper kaybı tespit etmişlerdir (83). Perrin ve ark. takip süresi 17 yıl ve ortalama yaşı 24 olan hasta grubunda ABPM veya poliklinik ölçümüne göre hipertansiyon oranını % 24 olarak rapor etmiştir (84). Çalışmamızda KIM-1 ile 24 saatlik sistolik kan basıncı ( $r=0,343$ ,  $p=0,02$ ) arasında ilişki saptanırken NGAL ile ABPM ölçümleri arasında bağıntı bulunmadı. Literatürde KIM-1 veya NGAL sonuçları ile ABPM parametrelerinin değerlendirildiği bir çalışmaya ulaşamadı.

Çalışmamızda serum NGAL düzeyi değerlendirilmedi. Böbrek hasarına bağlı olarak böbrek dışındaki başka dokularda da NGAL üretilmektedir. Glomerüllerden süzülen NGAL proksimal tubul tarafından tekrar emilmektedir. Tubullerde sentezlenen NGAL ise idrara verilmektedir. Sonuç olarak NGAL için iki ayrı havuz bulunmaktadır. İntravenöz olarak verilen NGAL'in çok düşük bir kısmının idrara verildiği gösterilmiştir ( $< \% 0,2$ ) (72-74). Sistemik kaynaklı NGAL'in idrara geçmesi için proksimal tubulde bir geri emilim bozukluğu olması gerekmektedir.

Çalışmamızdaki en büyük eksikliklerden biri de hastaların son birkaç gün içindeki kan şekeri değişiklikleri hakkında bilgi sahibi olmamamızdır. Yakın zamandaki kan şekeri yüksekliklerinin tubullerde neden olabileceği değişiklikler hakkında bilgi sahibi değiliz. Her iki belirtinin de tubul hasarını takiben kısa süre içinde idrarda tespit edilebildiği bilinmektedir. Yakın zamandaki olası kan şekeri yükseklikleri tubul hasarına yol açarak idrara KIM-1 ve NGAL salınmasına yol açmış olabilir. Hastaların son birkaç gün içindeki yaşadıkları olası kan şekeri dalgalanmalarının KIM-1 ve NGAL sonuçlarına etkisi en büyük soru işareti olarak kalmıştır.

Normoalbuminürik diyabet hastalarında idrar NGAL ve KIM-1 düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunması tubullerin de diyabetin başlangıcından itibaren hasarlandığı görüşünü desteklemektedir. Çalışmamızda diyabetik nefropati için kanıtlanmış risk faktörlerinin hiçbirisiyle NGAL ve KIM-1 düzeyleri arasında bağıntı olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca NGAL ve KIM-1 arasındaki zayıf bir korelasyon olduğu ortaya

çıkmiştir.Bu durum hem KIM-1 hem de NGAL'in güvenilirliği ve klinik pratikte kullanımını sınırlar özellikler gibi görünmektedir.

Sonuç olarak; her iki belirtecin diyabet nefropatisinin tayininde yerinin olup olmadığının belirlenmesi için uzun süreli prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğu görüşü oluşmuştur. Bu hastaların nefropati gelişimi açısından izlenmesi, KIM-1 ve NGAL düzeylerinin takibi, ani kan şekeri dalgalanmaları ile bu belirteçlerinin ilişkilerinin olup olmadığının ortaya konmasına yönelik ilerki dönemdeki çalışmalar, bu belirteçlerle ilgili daha sağlıklı bilgilere ulaşmamıza yardımcı olacaktır.

## 6. SONUÇLAR:

1. Hasta grubunda idrar KIM-1 ve NGAL düzeyleri kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulundu ( $< 0.001$ ).
2. KIM-1 ve NGAL arasında zayıf bir korelasyon saptandı ( $r = 0,289, p = 0,02$ ).
3. Korelasyon analizleri sonucunda; glisemik kontrol düzeyi (son HbA1c, son bir yıldaki HbA1c ortalaması, son iki yıldaki HbA1c ortalaması, diyabet süresi boyunca olan tüm HbA1c ortalamaları) hastalık süresi, lipid düzeyleri, serum kreatinin, GFH, idrar albumin atılım derecesi ile KIM-1 arasında bağlantı saptanmadı.
4. Korelasyon analizleri sonucunda; glisemik kontrol düzeyi (son HbA1c, son bir yıldaki HbA1c ortalaması, son iki yıldaki HbA1c ortalaması, diyabet süresi boyunca olan tüm HbA1c ortalamaları) hastalık süresi, lipid düzeyleri, serum kreatinin, GFH, idrar albumin atılım derecesi ile NGAL arasında bağlantı saptanmadı.
5. Ambulatuvar kan basıncı değerlerine göre hastaların 38 (% 64)'inde hipertansiyon, 27 (% 45)'inde sistolik dipper kaybı, 19 (% 31)'inde diyastolik dipper kaybı tespit edildi.
6. Ambulatuvar kan basıncı ölçümlerinde 24 saatlik sistolik kan basıncı ( $r = 0,343, p = 0,02$ ) ile KIM-1 arasında bağlantı vardı.
7. Ambulatuvar kan basıncı ölçüm sonuçları ile NGAL arasında bağlantı saptanmadı.

## 7. KAYNAKLAR

1. Craig ME, Hattersley A, Donaghue KC. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2009;10 (Suppl. 12)
2. Saka HN. Diabetes Mellitus. Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S (Editörler). *Pediatric Endocrinoloji*. 1. Baskı. Ankara: Pediatric Endocrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları, Kalkan Matbaacılık; 2003, s.415-455
3. Marcovecchio ML, Tossavainen PH, Dunger DB. Prevention and treatment of microvascular disease in childhood type 1 diabetes. *Br Med Bull*. 2010; 94:145-164.
4. Schultz cj, Konopelska-bahu t, Dalton rn, Carroll ta, Stratton i, Galeea, Neil a, Dunger DB. Microalbuminuria prevalence varies with age, sex, and puberty in children with type 1 diabetes followed from diagnosis in a longitudinal study. Oxford Regional Prospective Study Group. *Diabetes Care* 1999;22:495–502
5. Anton C Schoolwerth, MD, MSHA, Michael M Engelgau, MD, Kathy H Rufo, MPH, Frank Vinicor, MD, Thomas H Hostetter, MD, Dolph Chianchiano, JD, MPA, William M McClellan, MD, MPH, and David G Warnock, MD Chronic Kidney Disease: A Public Health Problem That Needs a Public Health Action Plan *Prev Chronic Dis*. 2006; 3(2): 57-61
6. Najafian B, Mauer M. Progression of diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009;83(1):1-8.
7. Fioretto P, Mauer M, Brocco E, et al. Patterns of renal injury in NIDDM patients with microalbuminuria. *Diabetologia* 1996;39:1569–1576
8. Brito PL, Fioretto P, Drummond K, et al. Proximal tubular basement membrane width in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int* 1998;53:754–761
9. Molitch ME, Steffes M, Sun W, Rutledge B, Cleary P, de Boer IH, Zinman B, Lachin J; Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study Group. Development and progression of renal insufficiency with and without albuminuria in adults with type 1 diabetes in the diabetes control and complications trial and the epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care*. 2010;33(7):1536-1543
10. Magri CJ, Fava S. The role of tubular injury in diabetic nephropathy. *Epub* 2009 Jan 30. Review. *Eur J Intern Med*. 2009 ;20(6):551-555.
11. Ginevri F, Piccotti E, Alinovi R, et al. Reversible tubular proteinuria precedes microalbuminuria and correlates with the metabolic status in diabetic children. *Pediatr Nephrol* 1993;7(1):23–26
12. Cabré A, Lázaro I, Girona J, Manzanares JM, Marimón F, Plana N, Heras M, Masana L. Plasma fatty acid-binding protein 4 increases with renal dysfunction in type 2 diabetic patients without microalbuminuria. *Clin Chem*. 2008;54(1):181-187

13. Bodin S, Chollet C, Goncalves-Mendes N, Gardes J, Pean F, Heudes D, Bruneval P, Marre M, Alhenc-Gelas F, Bouby N. Kallikrein protects against microalbuminuria in experimental type I diabetes. *Kidney Int.* 2009;76(4):395-403.
14. Nielsen SE, Schjoedt KJ, Astrup AS, Tarnow L, Lajer M, Hansen PR, Parving HH, Rossing P. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and Kidney Injury Molecule 1 (KIM1) in patients with diabetic nephropathy: a cross-sectional study and the effects of lisinopril. *Diabet Med* 2010 ;27(10):1144-1150.
15. Fu WJ, Xiong SL, Fang YG, Wen S, Chen ML, Deng RT, Zheng L, Wang SB, Pen LF, Wang Q. Urinary tubular biomarkers in short-term type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study. *Endocrine* 2011 Jul 21.
16. Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Fazio MR, Nicocia G, Buemi M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker of nephropathy in diabetic patients. *Kidney Blood Press Res.* 2009;32(2):91-98.
17. Nielsen SE, Andersen S, Zdunek D, Hess G, Parving HH, Rossing P. Tubular markers do not predict the decline in glomerular filtration rate in type 1 diabetic patients with overt nephropathy. *Kidney Int.* 2011 May;79(10):1113-1118.
18. Melendez-Ramirez LY, Richards RJ, Cefalu WT. Complications of type 1 diabetes. *Review. Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010 Sep;39(3):625-640.
19. Wang Y, Rangan GK, Tay YC, Wang Y, Harris DCH. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 by albumin is mediated by nuclear factor B in proximal tubule cells. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:1204–1213
20. Young, RJ, Ewing, DJ, Clarke, BF. Chronic and remitting painful diabetic polyneuropathy. Correlations with clinical features and subsequent changes in neurophysiology. *Diabetes Care* 1988;11:34-40.
21. Amin R, Widmer B, Dalton RN, Dunger DB. Unchanged incidence of microalbuminuria in children with type 1 diabetes since 1986: a UK based inception cohort. *Epub* 2009 Jan 15. *Arch Dis Child.* 2009;94(4):258-262.
22. Hovind P, Tarnow L, Rossing P, et al. Predictors for the development of microalbuminuria and macroalbuminuria in patients with type 1 diabetes: inception cohort study. *BMJ* 2004;328:1105-1110
23. Parving, HH, Hommel, E, Mathiesen, E, et al. Prevalence of microalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and neuropathy in patients with insulin dependent diabetes. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1988; 296:156-160
24. Mark E. Williams, Robert C. Diyabetik Böbrek hastalığının patogenezi Stanton çeviri: Ender Arıkan, Joslin's Diabetes Mellitus, Ondördüncü baskı, 2008. Sayfa 925-949
25. Krolewski, AS, Warram, JH, Christlieb, AR, et al. The changing natural history of nephropathy in type I diabetes. *Am J Med* 1985;78:785-794

26. Krolewski, M, Eggers, PW, Warram, JH. Magnitude of end-stage renal disease in IDDM: a 35 year follow-up study. *Kidney Int* 1996;50:2041-2046
27. A.S. Krolewski, J.H. Warram, L.I. Rand, C.R. Kahn, Epidemiologic approach to the etiology of type I diabetes mellitus and its complications. *N Engl J Med* 1987;317:1390-1398
28. A.R. Andersen, J.S. Christiansen, J.K. Andersen, S. Kreiner, T. Deckert, Diabetic nephropathy in type 1 (insulindependent) diabetes: an epidemiological study, *Diabetologia* 25: 1983: 496-501
29. Trevisan, R, Viberti, G. Genetic factors in the development of diabetic nephropathy. *J Lab Clin Med* 1995; 126:342-349
30. Satko, SG, Langefeld, CD, Daeihagh, P, et al. Nephropathy in siblings of African Americans with overt type 2 diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2002; 40:489-494
31. P. Fioretto, M.W. Steffes, J. Barbosa, S.S. Rich, M.E. Miller, M. Mauer, Is diabetic nephropathy inherited? Studies of glomerular structure in type 1 diabetic sibling pairs, *Diabetes* 1999;48:865-869
32. C.E. Mogensen, C.K. Christensen, Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients, *N Engl J Med* 1984;311:89-93
33. H.H. Parving, B. Oxenboll, P.A. Svendsen, J.S. Christiansen, A.R. Andersen, Early detection of patients at risk of developing diabetic nephropathy—a longitudinal study of urinary albumin excretion, *Acta Endocrinol.* 1982;100: 550-555
34. Roe, TF, Costin, G, Kaufman, FR, Carlson, ME. Blood glucose control and albuminuria in type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr* 1991; 119:178-182
35. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Research Group. Modern-day clinical course of type 1 diabetes mellitus after 30 years' duration: the diabetes control and complication trial/epidemiology of diabetes interventions and complications and Pittsburgh epidemiology of diabetes complications experience (1983–2005). *Arch Intern Med* 2009;169(14):1307–1316
36. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Prolonged effect of intensive therapy on the risk of retinopathy complications in patients with type 1 diabetes mellitus: 10 years after the diabetes control and complications trial. *Arch Ophthalmol* 2008;126(12):1707–1715.
37. Writing Team for the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy: the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study. *JAMA* 2003;290:2159–2167
38. Epstein, M, Sowers, JR. Diabetes mellitus and hypertension. *Hypertension* 1992; 19:403-418

39. S. Rudberg, B. Persson, G. Dahlquist, Increased glomerular filtration rate as a predictor of diabetic nephropathy—an 8-year prospective study, *Kidney Int.* 1992; 41:822-828
40. Bogdanovic R. Diabetic nephropathy in children and adolescents. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 507-525
41. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001 13;414(6865):813-820
42. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes.* 2005 ;54(6):1615-1625
43. Passariello N, Sepe J, Marrazzo G, et al. Effect of aldose reductase inhibitor (tolrestat) on urinary albumin excretion rate and glomerular filtration rate in IDDM subjects with nephropathy. *Diabetes Care* 1993; 16:789-795
44. Bank N. Mechanisms of diabetic hyperfiltration. *Kidney Int* 1991; 40:792-807
45. Tuttle KR, Bruton JL, Perusek MC, et al. Effect of strict glycemic control on renal hemodynamic response to amino acids and renal enlargement in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1991; 324:1626-1632
46. Sabbatini M, Sansone G, Uccello F, et al. Early glycosylation products induce glomerular hyperfiltration in normal rats. *Kidney Int* 1992; 42:875-81
47. Hirschberg R, Brunori G, Kopple JD, Guler HP. Effects of insulin-like growth factor I on renal function in normal men. *Kidney Int* 1993; 43:387-397
- 48 Hirschberg R, Kopple JD. The growth hormone-insulin-like growth factor I axis and renal glomerular function. *J Am Soc Nephrol.* 1992;2(9):1417-22
49. Cherney DZ, Sochett EB, Miller JA. Gender differences in renal responses to hyperglycemia and angiotensin-converting enzyme inhibition in diabetes. *Kidney Int* 2005; 68:1722-1728
50. Bank N. Mechanisms of diabetic hyperfiltration. *Kidney Int* 1991; 40:792-807
51. Abhay Vats, Frederick DeRubertis, Long-term complications of Type 1 Diabetes, *Diabetic Nephropathy, Type 1 Diabetes Etiology and Treatment*, Edited by Mark A. Sperling 2003;409-436
52. Eknoyan, G, Hostetter, T, Bakris, GL, et al. Proteinuria and other markers of chronic kidney disease: a position statement of the national kidney foundation (NKF) and the national institute of diabetes and digestive and kidney diseases (NIDDK). *Am J Kidney Dis* 2003; 42:617-622
53. Ogg RJ, Furth S, Lemley KV, Portman R, Schwartz GJ, Coresh J, Balk E, Lau J, Levin A, Kausz AT, Eknoyan G, Levey AS; National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative. National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents: evaluation, classification, and stratification. *Pediatrics.* 2003 ;111(6 Pt 1):1416-

54. Mogensen, CE. Prediction of clinical diabetic nephropathy in IDDM patients. *Alternatives to microalbuminuria?* Diabetes 1990; 39:761-767
55. Comper, WD, Osicka, TM. Detection of urinary albumin. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005; 12:170-176
56. Schwab, SJ, Dunn, FL, Feinglos, MN. Screening for microalbuminuria. A comparison of single sample methods of collection and techniques of albumin analysis. *Diabetes Care* 1992; 15:1581-1584
57. Nathan, DM, Rosenbaum, C, Protasowicki, VD. Single-void urine samples can be used to estimate quantitative microalbuminuria. *Diabetes Care* 1987; 10:414-418.
58. Mattix, HJ, Hsu, CY, Shaykevich, S, Curhan, G. Use of the albumin/creatinine ratio to detect microalbuminuria: implications of sex and race. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:1034-1039
59. Silverstein J, Klingensmith G, Copeland K, Plotnick L, Kaufman F, Laffel L, Deeb L, Grey M, Anderson B, Holzmeister LA, Clark N; American Diabetes Association. Care of children and adolescents with type 1 diabetes: a statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2005 ;28(1):186-212
60. Ficociello, LH, Perkins, BA, Silva, KH, et al. Determinants of progression from microalbuminuria to proteinuria in patients who have type 1 diabetes and are treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2:461-469
61. Coppelli, A, Giannarelli, R, Vistoli, F, et al. The beneficial effects of pancreas transplant alone on diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2005; 28:1366-1370
62. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 1993; 329:977-986
63. Newman DJ, Mattock MB, Dawnay AB, Kerry S, McGuire A, Yaqoob M, Hitman GA, Hawke C. Systematic review on urine albumin testing for early detection of diabetic complications. *Health Technol Assess*. 2005 ;9(30):XIII-163
64. ACE Inhibitors in Diabetic Nephropathy Trialist Group. Should all patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria receive angiotensin-converting enzyme inhibitors? A meta-analysis of individual patient data. *Ann Intern Med* 2001; 134:370-379
65. Randomised placebo-controlled trial of lisinopril in normotensive patients with insulin-dependent diabetes and normoalbuminuria or microalbuminuria. The EUCLID Study Group. *Lancet* 1997; 349:1787-1792
66. Captopril reduces the risk of nephropathy in IDDM patients with microalbuminuria. The Microalbuminuria Captopril Study Group. *Diabetologia* 1996; 39:587-593
67. Hilgers, KF, Dötsch, J, Rascher, W, Mann, JF. Treatment strategies in patients with

chronic renal disease: ACE inhibitors, angiotensin receptor antagonists, or both? *Pediatr Nephrol* 2004; 19:956-961

68. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.* 2002 ;62(1):237-244

69. Waanders F, van Timmeren MM, Stegeman CA, Bakker SJ, van Goor H. Kidney injury molecule-1 in renal disease. Review. *J Pathol.* 2010 ;220(1):7-16

70. 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. *J Pathol.* 2007 ;212(2):209-217.

71. Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol Dial Transplant.* 2009 ;24(11):3265-3268

72. Devarajan P. Review: neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury. *Nephrology* 2010;15(4):419-428

73. Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. Review. *Curr Opin Pediatr.* 2011 ;23(2):194-200

74. Soni SS, Cruz D, Bobek I, Chionh CY, Nalesso F, Lentini P, de Cal M, Corradi V, Virzi G, Ronco C. NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. Review. *Int Urol Nephrol.* 2010;42(1):141-150

75. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P, Barasch J. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. Review. *J Am Soc Nephrol.* 2007 Feb;18(2):407-413.

76. Zachwieja J, Soltysiak J, Fichna P, Lipkowska K, Stankiewicz W, Skowronska B, Kroll P, Lewandowska-Stachowiak M. Normal-range albuminuria does not exclude nephropathy in diabetic children. *Pediatr Nephrol* 2010;25(8):1445-1451

77. Nauta FL, Boertien WE, Bakker SJ, van Goor H, van Oeveren W, de Jong PE, Bilo H, Gansevoort RT. Glomerular and tubular damage markers are elevated in patients with diabetes. *Diabetes Care* 2011;34(4):975-981

78. Bundak R, Furman A, Gunoz H, Darendeliler F, Bas F, Neyzi O. Body mass index references for Turkish children. *Acta Paediatr.* 2006;95(2):194-198

79. Rosenbloom AL. Type 1 Diabetes in the child and adolescent: complications. In: Lifshitz F (Editor). *Pediatric Endocrinology*, New York, Informa Healthcare, 5th ed, 2007;68-76

80. Wühl E, Witte K, Soergel M, Mehls O, Schaefer F, German Working Group on Pediatric Hypertension. Distribution of 24-h ambulatory blood pressure in children: normalized reference values and role of body dimensions. *J Hypertens* 2002; 20:1995–2007

81. Urbina E, Alpert B, Flynn J, Hayman L, Harshfield GA, Jacobson M, Mahoney L, McCrindle B, Mietus-Snyder M, Steinberger J, Daniels S; American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in Youth Committee. Ambulatory blood pressure

monitoring in children and adolescents: recommendations for standard assessment: a scientific statement from the American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in Youth Committee of the council on cardiovascular disease in the young and the council for high blood pressure research. *Hypertension* 2008; 52(3):433-451

82. Holl RW, Pavlovic M, Heinze E, Thon A. Circadian blood pressure during the early course of type 1 diabetes. Analysis of 1,011 ambulatory blood pressure recordings in 354 adolescents and young adults. *Diabetes Care*. 1999;22(7):1151-1157.

83. Darcan S, Goksen D, Mir S, Serdaroglu E, Buyukinan M, Coker M, Berdeli A, Köse T, Cura A. Alterations of blood pressure in type 1 diabetic children and adolescents. *Pediatr Nephrol*. 2006;21(5):672-676

84. Perrin NE, Torbjörnsdotter T, Jaremko GA, Berg UB. Risk markers of future microalbuminuria and hypertension based on clinical and morphological parameters in young type 1 diabetes patients. *Pediatr Diabetes*. 2010;11(5):305-313

