

**YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK NEFROPATİ TANISINDA
MİKROALBÜMİNÜRİ TEK SEÇENEK Mİ?**

**DR. FATMA KÜBRA YEŞİL MIZRAK
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. SERDAR ÖZTEZCAN**

İSTANBUL-2011

ÖNSÖZ

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Ayça VİTRİNEL'e

İçten yaklaşımı ve yardımcı kişiliği ile desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız hocam Prof. Dr. İnci ÖZDEN'e

Uzmanlık eğitimimde çok büyük emeği olan, bilgi ve deneyimlerini usanmadan esirgmeden paylaşan, tezimin hazırlanmasında emeği olan, öğretmeyi ve öğrenmeyi yaşam biçimi haline getirmiş, adil, etik, çalışkan, tanımaktan onur duyduğum Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Biyokimya Bölümü Başkanı hocam Prof. Dr. Serdar ÖZTEZCAN'a

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hocalığının yanında dostluğunu da esirgemeyen, her zaman yakın desteğini gördüğüm, hocam Doç. Dr. Jale ÇOBAN'a,

Tezime katkılarından dolayı Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Endokrinoloji uzmanı Sayın Yard. Doç. Dr. Hasan AYDIN'a

Dört yıl boyunca içten dostluğu ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan, çok şey paylaştığım, uzmanlığımı alıp ayrılmasından sonra yokluğunu hissettiğim, kıdemlim olan sevgili arkadaşım Uzm. Dr. Gülsen GÜL ÖZMEN'e

Tezimin çalışma aşamasında yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım tekniker Fehime SAATÇI, biyolog Erkan YÜCEL ve tekniker Perihan YILMAZ'a,

Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Merkez ve Kampüs Laboratuvarlarında çalışan, uzmanlık eğitimim boyunca dostluk ve desteklerini her zaman hissettiğim sevgili biyolog ve tekniker arkadaşlarıma, tıbbi sekreter ve hemşirelerimize,

Tezimin istatistiksel hesaplarının yapılmasında yardımlarından dolayı sevgili arkadaşım Yard. Doç. Çiğdem Altunok'a,

Bugünlere gelmemde büyük emekler harcayan, yaşamımın her alanında maddi, manevi her türlü desteklerini ve sevgisini benden esirgemeyen sevgili babam Ahmet YEŞİL'e, sevgili annem Hanife YEŞİL'e ve sevgili kardeşim Büşra YEŞİL'e

Her konuda desteği, sevgisi ve sabrı için sevgili eşim Egemen Çağrı MIZRAK'a Teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET

ABSTRACT

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitusun Tanımı Ve Tarihçesi	3
2.2. Epidemiyoloji	4
2.3. Sınıflandırılma	5
2.4. Tanı	8
2.5. Tip 1 Diabetes Mellitus	10
2.6. Tip 2 Diabetes Mellitus	12
2.7. Diğer Özel Tip Diyabetler	15
2.8. Gestasyonel Diabetes Mellitus	15
2.9. Diabetes Mellitusun Komplikasyonları	16
2.10. Makrovasküler Komplikasyonlar	17
2.11. Mikrovasküler Komplikasyonlar	17
2.11.1. Diyabetik Retinopati	17
2.11.2. Diyabetik Nöropati	18
2.11.3. Diyabetik Nefropati	18
2.11.3.1 Diyabetik nefropatide klinik evreler	22
2.11.3.2 Diyabetik nefropatide yapısal değişiklikler	24
2.11.3.3 Diyabetik nefropatide patofizyolojik değişiklikler	27
2.11.3.3.1 Hemodinamik değişiklikler	28
2.11.3.3.2 Hiperglisemi	29
2.11.3.3.3 İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGEs)	30
2.11.3.3.4 Poliöl Yolu	31
2.11.3.3.5 Protein Kinaz C	32
2.11.3.3.6 Oksidatif Stres	32
2.11.3.3.7 Sitokinler, Büyüme Faktörleri	32
2.11.3.3.8 Heksozamin yolu	33
2.12 Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)(Lipocalin2)	34
2.13 Kidney injury molecule-1(KIM -1)	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
6. KAYNAKLAR	50

ŞEKİLLER VE TABLOLAR

Şekil 1: Glukoz hemostazı ve Diabetes Mellitus

Şekil 2: Tip 1 diyabet klinik dönemleri

Şekil 3: Tip 2 diyabette insülin sekresyonu ve insülin duyarlılığı ilişkisi

Şekil 4: Kalıcı proteinüri bulunan ve bulunmayan, kadın ve erkek diyabet hastalarında mortalite karşılaştırması.

Şekil 5: 4702 tip 1 diyabetli, nefropatisi (DN) bulunan ve bulunmayan hasta gruplarında yapılan, kümülatif inme ve koroner kalp hastalığı insidansını gösteren çalışma.

Şekil 6: Diyabetik nefropatide etkili metabolik yollar

Şekil 7: Grupların cinsiyetlere göre dağılımları

Şekil 8: Mikroalbüminüri ile KIM-1 korelasyon grafiği

Şekil 9: HbA1c ve KIM-1 korelasyon grafiği

Tablo 1 : Glomerüler filtrasyon hızına (GFH) göre kronik böbrek hastalığı evrelemesi

Tablo 2: GFR hesaplamada kullanılan formüller (45)

Tablo 3: Kesitsel randomize çalışma; kontrol grubu ve albüminüri seviyelerine göre listelenmiş tip 2 diyabet hasta grubunun klinik verileri.

Tablo 4: Kesitsel randomize çalışma; kontrol grubu ve albüminüri seviyelerine göre listelenmiş tip 2 diyabet hasta grubunun tübüler marker düzeyleri.

Tablo 5: Tip 2 diyabette tübüler markırların korelasyonu

KISALTMALAR

WHO	:World Health Organization (Dünya sağlık Örgütü)
TURDEP-II	:Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması
DM	:Diabetes Mellitus
ADA	:American Diabetes Association (Amerikan Diyabet Birliği)
AKŞ	:Açlık kan şekeri
NGSP	:National Glycohemoglobin Standardization Program
DCTT	:Diabetes Control and Complications Trial
OGTT	:Oral glukoz tolerans testi
IFG	:Impaired fasting glucose (Bozulmuş açlık glukozu)
IGT	:Impaired glucose tolerance (Bozulmuş glukoz toleransı)
ICA	:Islet cell antibody
Anti-GAD	:Glutamik asit dekarboksilaz antikorları
LADA	:Latent autoimmune diabetes in adults
SODA	:Slow onset diabetes in adults
HLA	:Human leukocyte antigen
PCOS	:Polycystic ovary syndrome (Polikistik over sendromu)
MODY	:Maturity onset diabetes of the young
AGEs	:Advanced glycation end products
SDBY	:Son dönem böbrek yetmezliği
GFR	:Glomerular filtration rate (Glomerüler filtrasyon hızı)
MDRD	:Modification of Diet in Renal Disease
GHF	:Glomerular Hiperfiltrasyon
DN	:Diyabetik nefropati
GBM	:Glomerül Bazal Membranı
TGF- β1	:Transforming growth factor β 1
VEGF	:Vasküler endotelial growth faktör
RAAS	:Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi
ACEi	:Angiotensin converting enzyme inhibitor (Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü)

GLUT 1	:Glukoz transporter 1
GLUT 4	:Glukoz transporter 4
ROS	:Reactive oxygen species (Reaktif oksijen türleri)
RAGE	:Receptor for AGE
SPARC	:Osteonektin
NO	:Nitrik oksit
VCAM-1	:Vasküler hücre adezyon molekülü 1
PDGF	:Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PKC	:Protein Kinaz C
DAG	:Diaçilgliserol
CTGF	:Connective tissue growth factor (Konnektif doku büyüme faktörü)
GH	:Growth hormon (Büyüme hormonu)
IGF-1	:Insulin like growth factor-1
NGAL	:Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
KIM-1	:Kidney injury molecule-1
AKI	:Akut kidney injury (Akut böbrek hasarı)
SD	:Standart Deviation (Standart Sapma)
eGFR	:Estimated Glomerular filtration rate

ÖZET

Diyabetik nefropati diyabetin en sık görülen mikrovasküler komplikasyonlarından biridir ve son dönem böbrek yetmezliğine yol açan nedenlerin başında gelmektedir. Son on yılda diyabetin sıklığında görülen hızlı artış, diyaliz tedavisine ve böbrek transplantasyonuna ihtiyaç duyan hastaların sayısının da her geçen gün artacağını göstermektedir. Bu nedenle diyabetik nefropatinin gelişiminin mümkün olan en erken dönemde tanınması ve gerekli tedavilerle hastalığın önlenmesi ya da en azından gelişiminin yavaşlatılması son derece önemlidir. Erken dönem diyabetik nefropati tanısı için bugün elimizdeki en geçerli parametre, bir glomeruler hasar göstergesi olan mikroalbuminüridir ve oldukça düşük prediktif değere sahiptir.

Son yıllarda diabetik nefropati gelişimde tubuler hasarın da en az glomeruler hasar kadar hatta ondan önce ve daha etkili olduğuna dair çalışmalar vardır. Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin (NGAL) ve Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) adlı iki proteinin hasarlı tübüllerde arttığı gösterilmiştir. NGAL ve KIM-1'in kardiopulmoner bypass sonrası gelişen akut böbrek hasarınının tespitinde serum kreatinininden daha erken dönemde yükselmesi bu proteinlere olan ilgiyi arttırmış ve diyabet nefropati gibi kronik bir süreçte böbrek hasarını albuminden daha erken ve spesifik olarak gösterip gösteremeyeceği, farklı tip ve yaş gruplarını içeren sınırlı sayıda çalışmada incelenmiştir.

Biz de bu konuyu daha fazla araştırmak amacıyla normoalbuminürik ve mikroalbuminürik diyabetlilerle sağlıklı kontrollerin idrarlarında NGAL ve KIM-1 düzeylerini inceledik. Öncelikle mikroalbuminüriden daha önceki dönemde bir artış olup olmadığını belirlemek için normoalbuminurik grubumuzu daha fazla sayıda kişiden oluşturduk. KIM-1'i mikroalbuminüri grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulmamıza rağmen ($p<0.05$), ilginç olarak NGAL'ı kontrol grubunda normoalbuminüri ve mikroalbuminüri grubundan daha yüksek bulduk. Bu fark kontrol ve mikroalbuminüri grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). NGAL'deki bu sonuçlarımızı diğer çalışmalarla kıyasladığımızda, normoalbumin grubundan mikroalbumin grubuna doğru anlamlı artışlar bulan çalışmaların daha uzun süreli ve

ileri düzey diyabetiklerle çalıştıklarını gördük. Sonuç olarak özellikle kısa süreli ve nispeten ılımlı düzeyde diyabeti olan hastalarda KIM-1'in erken nefropati göstergesi olarak daha umut verici bir parametre olduğu, NGAL'in ise daha ileri ve uzun süredir diyabetik olan hastalarda daha yararlı olabileceği düşünülebilir. Ayrıca bizim çalışmamızda ilgi çekiçi olarak kadınlarda NGAL'in erkeklere oranla oldukça yüksek bulunması bu tip çalışmalarda dikkate alınması gereken bir konudur.

ABSTRACT

Diabetic Nephropathy (DN) is one of the most important complication of Diabetes Mellitus and the most common cause of end stage renal disease. The acceleration of the incidence of the diabetes mellitus in the last decade indicates that the requirement for renal replacement therapy will increase. Therefore, early detection of the kidney damage is of great importance to prevent the disease, at least to slow down the development. Microalbuminuria which is a marker of glomerular damage and used in the diagnosis of incipient DN has a low predictive value in the early diagnosis of diabetic nephropathy.

While most attention has focused on glomerular changes, it is now increasingly recognized that tubules play an important role in the pathogenesis of diabetic nephropathy. In many studies, it is shown that proteins also determined tubular markers called neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) are good markers for earlier detection of acute renal injury after cardiopulmonary surgery much earlier than serum creatinine distinction. The importance of these proteins in chronic diseases are investigated in a limited research.

We investigated the prevalence of these tubular markers and also their relationship with renal indices at different stages of diabetic nephropathy. We analysed urine NGAL and KIM-1 concentrations in normoalbuminuric and microalbuminuric diabetic patients and healthy control group. We take the number of normoalbuminuric patients more than other groups to determine whether an increase in the earlier stages of DN. There was a difference in KIM-1 between microalbuminuric and control group ($p < 0.05$), KIM-1 was higher in microalbuminuric group. Interestingly we found NGAL concentrations higher in control group than in microalbuminuric group ($p < 0.05$). When we compared our results with the other studies, we saw that studies which found the NGAL results higher in microalbuminuric patients than normoalbuminuric are actually long term studies with more severe diabetes. In conclusion urinary KIM-1 can be a promising early marker for diabetic nephropathy in short term diabetes but for NGAL we may predict that it can be used as a diagnostic predictor for incipient DN in the advance stages of diabetes that kidneys are exposed to hyperglycemia for a long time.

Also the result that we interestingly found NGAL values higher in women than men must be taken account of in studies like these.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus, özellikle son yıllarda dünyada ve ülkemizde sıklığı hızla artan ve ciddi komplikasyonları nedeniyle yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen kronik bir hastalıktır. Diyabetik nefropati ise diyabetin en önemli mikrovasküler komplikasyonlarından biridir ve son dönem böbrek yetmezliğinin (SDBY) en sık nedenidir (5, 24, 25).

Günümüzde diyabetik nefropatinin erken tanısı için en sık kullanılan parametreler serumda kreatinin ve idrarda glomeruler hasarın göstergesi olarak düşük düzey albümin (mikroalbumin=30-300 mg/gün) ölçümleridir (12, 34). Serumda kreatinin artışı ancak ilerlemiş böbrek hasarlarında ortaya çıkarken, mikroalbuminüri görece daha erken bir bulgu olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte mikroalbuminüri diyabet hastalarında düşük prediktif değere sahiptir, çünkü bu hastalarda sıklıkla bulunabilen arteriyel hipertansiyona veya kalp yetmezliğine bağlı olabilir (12). Bazı hastaların nefropati gelişmesine rağmen normoalbuminürik kalmaları, mikroalbuminürisi olan bazılarının ise daha sonra normoalbuminüriye dönmeleri hastalığın gelişiminin izlenmesinde de bu parametrenin çok yeterli olmadığını göstermektedir. İdrar albümin düzeyleri sağlıklı kişilerde gün içinde ve günler arasında değişiklik gösterebilir. Egzersiz, idrar yolu enfeksiyonu, ateş idrarda albümin atılımına sebep olabilir. Bu nedenle nefropati tanısı için 6 ay içinde en az 2-3 defa mikroalbuminüri saptanması gerektiği vurgulanmaktadır (12).

Albumine ait bu çekinceler son yıllarda diyabetik nefropatinin erken tanısı için albuminden daha sensitif ve spesifik parametrelerin bulunması ihtiyacını doğurmuştur. Kardiyopulmoner bypass ameliyatları sonrasında gelişen akut renal hasara bağlı olarak yükseldiği gösterilen neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) üzerinde çalışılan parametrelerden biridir (46). Yayınlanan sınırlı sayıda makalede NGAL'in erken dönem diyabetik nefropati tanısı için iyi bir gösterge olabileceği ileri sürülmektedir (60). Bir diğer parametre de Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) dir. Bu molekülün de hasarlanmış böbrekte özellikle proksimal tübülüs epitel hücresi apikal membranında sentezlendiği gösterilmiştir (70, 71).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda sağlıklı kontroller ile mikroalbuminüresi olan ve olmayan tip 2 diyabetik hasta gruplarının idrarlarında NGAL ve KIM-1 düzeylerini ölçerek bu parametrelerin diyabetik nefropatinin erken tanısındaki kullanılabilirliklerini, ayrıca NGAL ile KIM-1'in tübüler kaynaklı olması nedeniyle, diyabetik nefropati gelişiminde yıllardır asıl rol oynadığına inanılan glomerul hasarına karşı son dönemlerde oldukça taraftar bulan tübüler hasarın (23) rolünü sorgulamak istedik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitusun Tanımı Ve Tarihçesi

Diyabet, insülin salınımında, aktivitesinde, veya her ikisinde birden bozulmaya bağlı olarak hiperglisemi gelişmesi ile karakterize metabolik hastalıklara verilen isimdir (1).

Çok eski zamanlardan beri diyabet bulguları gösteren insanların idrarlarındaki şekerli tat bilinmesine rağmen “Diabetes” sözcüğünü ilk kullanan ve tıp sözlüğüne kazandıran kişi bir Anadolu hekimi olan Kapodokyalı Areteaus’dur (MS 130-200). Diabetes, süzülme, akıp gitme, öteye geçme anlamında bir sözcüktür. Areteaus bu hastalığı anlatırken “etler ve uzuvlar sulanarak idrar halinde süzülüp gitmektedir.” demektedir. Ona göre bu hastalığa tutulan kişiler su içmekten ve idrar etmekten kendini kurtaramaz, zayıflamayı takiben ölüm kaçınılmadır (2). 1675 yılında Thomas Willis idrardaki şekerli tada atıf yaparak “diabetes” sözcüğüne latince bal anlamına gelen “mellitus” sözcüğünü eklemiştir (3).

M.S. 11. yüzyılda İbn-i Sina, diyabetin birbirinden farklı iki tipinin olduğunu belirtmiştir, ilk kez diyabetik gangreni tanımlamıştır. Diyabet tanısı koyduğu hastalarını modern zamanda hala kullanımı olan idrar şeker atılımını azaltan zerdeçal, acıbakla ve çemenle tedavi etmiştir (4).

İngiliz Matheww Dobson 1776 yılında diabetes mellitus semptomlarının kanda artmış şekere bağlı olarak geliştiğini keşfetti (5). 1889 yılında ise Joseph von Mehring and Oskar Minkowski pankreasını çıkarttıkları köpeğin diyabetik hastalarda görülen semptomların aynısını göstermesi ile pankreas diyabet ilişkisini ilk ortaya koyan araştırmacılar oldu (6, 7, 8).

İnsülinin 1921 yılında Frederick Grant Banting ve Charles Herbert Best tarafından keşfi bu hastalıkta yeni bir dönemin başlamasına neden oldu. Aynı araştırmacılar sadece bir yıl sonra Toronto Üniversitesindeki çalışma arkadaşlarının da yardımı ile domuz pankreasından insülin hormonunu saflaştırmayı başardılar ve tedavi için insülin kullanımı ilk kez 1922 yılında gerçekleşti (9).

Diyabetin böbrek üzerindeki etkilerinden ilk kez 1936 yılında Kimmelstiel ve Wilson' un glomerüllerde hyalen nodül oluşumunu gözlemledikleri ve bunu “Nodular glomerulosclerosis” olarak isimlendirdikleri çalışmalarında söz edildi. 1942 de Bell diffüz glomeruloskleroza tanımlayarak, diyabetik nefropati patogeneğinde arteriolar lezyonların önemine işaret etti. Lunbaeck nefropati ve retinopatisi olan diabet vakalarında küçük damarlarda lezyonları gözlemiş ve ilk defa “diyabetik mikroanjyopati” terimini kullanmıştır (4, 10, 11).

2.2. Epidemiyoloji

Dünya sağlık örgütünün (WHO) öngörülerine göre 2000 yılında tüm dünyada 171 milyon olan diyabetli sayısı 2030 yılında 366 milyona ulaşacaktır. Yine WHO'ya göre 2004 yılında hiperglisemiye bağlı gelişen komplikasyonlar sonunu 3.4 milyon kişinin hayatını kaybettiği bilinirken, sağlık teknolojisindeki tüm gelişmelere ve diyabet konusunda toplumun daha da bilinçlenmesine rağmen bu sayı 2030 yılında ikiye katlanacaktır (12).

Ülkemizde de İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi ve Sağlık Bakanlığı'nın saha işbirliği ile 2010 yılında gerçekleştirilen ‘Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-II (TURDEP-II Çalışması)’na göre 1998 de % 7 olan erişkin diyabet sıklığının % 13.7'ye ulaştığı görülmüştür. Bu oran tüm öngörülerin çok üzerinde çıkmıştır. Bu sonuçlar Diabetes Mellitusun önümüzdeki yıllarda ülkemizde çok daha öncelikli bir sağlık sorunu olacağını ortaya koymaktadır (13).

Diyabetin her iki tipi de Türkiye’de ve Dünya’da yukarıdaki belirtildiği şekilde artmasına rağmen özellikle tip 2 diyabet obesitenin artışına, fiziksel aktivenin azalmasına paralel olarak daha hızlı bir artış göstermektedir (12).

2.3. Sınıflandırılma

Diyabetin iki ana formu tip 1 ve tip 2 diyabettir. Tip 1 diyabet tam veya tama yakın insülin yetmezliği sunucu gelişirken, tip 2 diyabet insülin direnci, bozulmuş insülin sekresyonu ve artmış glukoz yapımı sonucu ortaya çıkar. Tip 2 diyabet hastalarının er veya geç hiperglisemi kontrolü için insüline ihtiyaç duyar hale gelmeleri sınıflandırmada karışıklık yarattığından önceki yıllarda kullanılan “İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus” ve “İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus” terimleri terk edilmiştir. Yeni sınıflamadaki diğer bir fark ise, sınıflandırmada yaşın bir kriter olduğu “Juvenil Tip ” ve “Erişkin Tip” tanımlarının da kaldırılmasıdır. Çünkü Tip 1 diyabet sıklıkla 30 yaşında önce ortaya çıkmasına rağmen otoimmün beta hücre hasarlanması herhangi bir yaşta gelişebilir. Ayrıca tip 1 diyabet hastalarının %5-10 kadarında 30 yaşından sonra diyabetin orta çıktığı gösterilmiştir. Aynı şekilde tip 2 diyabet sıklıkla ilerleyen yaşla ilişkili olmasına rağmen artık çocuklarda ve genç erişkinlerde özellikle obez adolesanlarda görülmeye başlanmıştır (12, 14). Bu nedenlerden dolayı günümüzde sınıflandırma hiperglisemiye neden olan patogeneze temel alınarak yapılır.

İnsülin aktivitesinde ve/veya sekresyonunda bozukluğa yol açan diğer çeşitli genetik ve metabolik bozukluklar da tip 2 diyabet ile benzer fenotipte hiperglisemi gelişimine neden olurlar. Belirgin tip 2 diyabet ortaya çıkmadan önce glukoz homeostazisinin bozulduğu ilk dönemlerinde “bozulmuş açlık glukozu” veya “bozulmuş glukoz toleransı” gelişir. (12).

Diabetes Mellitus Etyolojik Sınıflandırması

Amerikan Diyabet Birliği (ADA) 2007 (12)

I. Tip 1 Diabetes Mellitus

A. İmmün aracılı

B. İdiyopatik

II. Tip 2 Diabetes Mellitus

III. Diğer özel tipler

-Beta hücrelerinin genetik hastalıkları

- MODY 1 (Kromozom 20, HNF-4 α)
- MODY 2 (Kromozom 7, glukokinaz)
- MODY 3 (Kromozom 12, HNF-1 α)
- MODY 4 (Kromozom 13, IPF-1)
- MODY 5 (Kromozom 17, HNF 1 β)
- MODY 6 (Kromozom 2, Neuro D1)
- Mitokondrial DNA 3243 mutasyonu
- Diğerleri

- İnsülin etkisinin genetik defektleri

- Tip A insülin rezistansı
- Leprechaunizm
- Rabson-Mandenhall Sendromu
- Lipoatrofik diyabet
- Diğerleri

- Pankreas hastalıkları

- Pankreatit
- Travma /pankratektomi
- Neoplazi
- Kistik Fibrozis
- Hemokromatozis
- Fibrokalkuloz Pankreatopati
- Diğerleri

- Endokrinopatiler

- Akromegali
- Cushing Sendromu
- Glukagonoma
- Feokromasitoma
- Hipertiroidizm
- Somatostatinoma

- Aldosteronoma
- Diğerleri
- İlaçlar ve kimyasal madde etkileri
 - Vakor
 - Pentamidin
 - Nikotinic Asit
 - Glukokortikoidler
 - Tiroid Hormonu
 - Diazoksit
 - β -adrenerjik agonistler
 - Tiazidler
 - Dilantin
 - α -INF
 - Diğerleri
- İnfeksiyonlar
 - Konjenital Rubella
 - CMV
 - Diğerleri
- İmmün mekanizmalar
 - Anti-insulin reseptor antikorları
 - “Stiff man” sendromu
 - Diğerleri
- Diğer genetik sendromları
 - Down Sendromu
 - Klinefelter Sendromu
 - Turner Sendromu
 - Wolfram Sendromu
 - Friedreich ataksisi
 - Huntington koresi
 - Laurence-Moon-Biedl Sendromu
 - Miyotonik distrofi

- Porfiria
- Prader-Willi Sendromu
- Diğerleri

IV. Gestasyonel Diabet

2.4. Tanı

Ulusal Diyabet Veri Grubu (The National Diabetes Data Group, NDDG) ve WHO, diyabet için tanı kriterlerini düzenlerken şu durumları göz önüne bulundurmüşlardır:

- Açlık kan şekeri (AKŞ) ve şeker yüklemesine verilen cevabın normal kişiler arasında geniş dağılım göstermesi
- Diyabetin görüldüğü etnik gruba göre, ortalamadan sapmalardan çok komplikasyonlarının geliştiği kan şekeri düzeyleri. Örneğin; Amerikan yerlilerinde retinopati prevalansı AKŞ>116 mg/dL düzeylerde artış gösterir (1, 12).

DM Tanı Kriterleri (ADA 2011)

1. HbA1C \geq %6.5.

HbA1C testi Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı (National Glycohemoglobin Standardization Program, NGSP) ile sertifikalandırılmış Diyabet Kontrol ve Komplikasyonları Çalışmasına (Diabetes Control and Complications Trial, DCTT) göre standardize edilmiş bir yöntemle çalışılmalıdır

2. En az 8 saatlik açlıktan sonra venöz plazma glukoz seviyesinin, 126 mg/dl' ye eşit veya yüksek saptanması

3. WHO nun belirlediği standartlara göre yapılan 75 gr oral glukoz tolerans testi (OGTT) 2. saat plazma glukoz düzeyinin 200 mg/dl' ye eşit veya yüksek olması
4. Hiperglisemiye özgü semptomların (poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı) varlığına ek olarak, günün herhangi bir zamanında rastgele ölçülen venöz plazma glukoz değerinin 200 mg/dl' ye eşit veya yüksek olması

Yukarıdaki kriterlerden birinin bulunması durumunda diyabet tanısı konur. İlk 3 kriterden biri ile birlikte belirgin hiperglisemi semptomlarının bulunmaması durumunda bu kriterlerden biri farklı bir günde tekrarlanmalıdır (15).

Glukoz hemostazı açlık kan şekerine göre üç kategoriye ayrılır.

1. AKş ' nin 100 mg/dl den düşük olduğu seviyeler "normal"
2. AKş ' nin 100-125 mg/dl arasında olduğu seviyeler "bozulmuş açlık glukozu"
3. AKş ' nin 126 mg/dl ve üzerinde olduğu seviyeler "diyabet"

OGTT de 2. saat kan şekeri seviyelerinde ise değerlendirme ;

1. 140 mg/dl den düşük olduğu seviyeler "normal"
2. 140-199 mg/dl arasında olduğu "bozulmuş glukoz toleransı"
3. 200 mg/dl ve üzeri olduğu seviyeler "diyabet" şeklinde yapılır.

ADA bozulmuş açlık glukozu (IFG, impaired fasting glucose) ve bozulmuş glukoz toleransını (IGT, impaired glucose tolerance) prediyabet olarak tanımlanmaktadır.

IFG ve IGT tip 2 diyabet gelişimi (gelecek 5 yıl içinde %25-40) için önemli bir risk oluşturmakta, özellikle kardiyovasküler hastalık riskinde de artışa neden olduğu belirtilmektedir. (12, 14)

Diyabet tipi	Normal glukoz toleransı	Hiperglisemi		
		Prediyabet	Diabetes Mellitus	
		Bozulmuş açlık glukozu veya bozulmuş glukoz toleransı	İnsülin ihtiyacı yok	Kontrol için insülin
Tip 1				
Tip 2				
Diğer özel tipler				
Gestasyonel diyabet				
Zaman (yıl)				
Açlık kan şekeri	<5.6 mmol/L (100 mg/dL)	5.6-6.9 mmol/L (100-125 mg/dL)	≥ 7.0 mmol/L (126 mg/dL)	
2 saatlik tokluk kan şekeri	<7.8 mmol/L (140 mg/dL)	7.8-11.1 mmol/L (140-199 mg/dL)	≥ 11.1 mmol/L (200 mg/dL)	

Şekil 1: Glukoz hemostazı ve Diabetes Mellitus (1)

2.5. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 Diabetes Mellitus, pankreas beta hücresinin selektif ve ilerleyici harabiyetine bağlı olarak gelişen ve insülin tedavisinin yaşam sürdürülmesi için zorunlu olduğu, aksi durumlarda ketoasidoz, koma ve ölümün görülebileceği diyabet tipidir (16). Tip 1 diyabetin etyolojisinde genetik, çevresel ve immünolojik faktörler sorumlu tutulmaktadır.

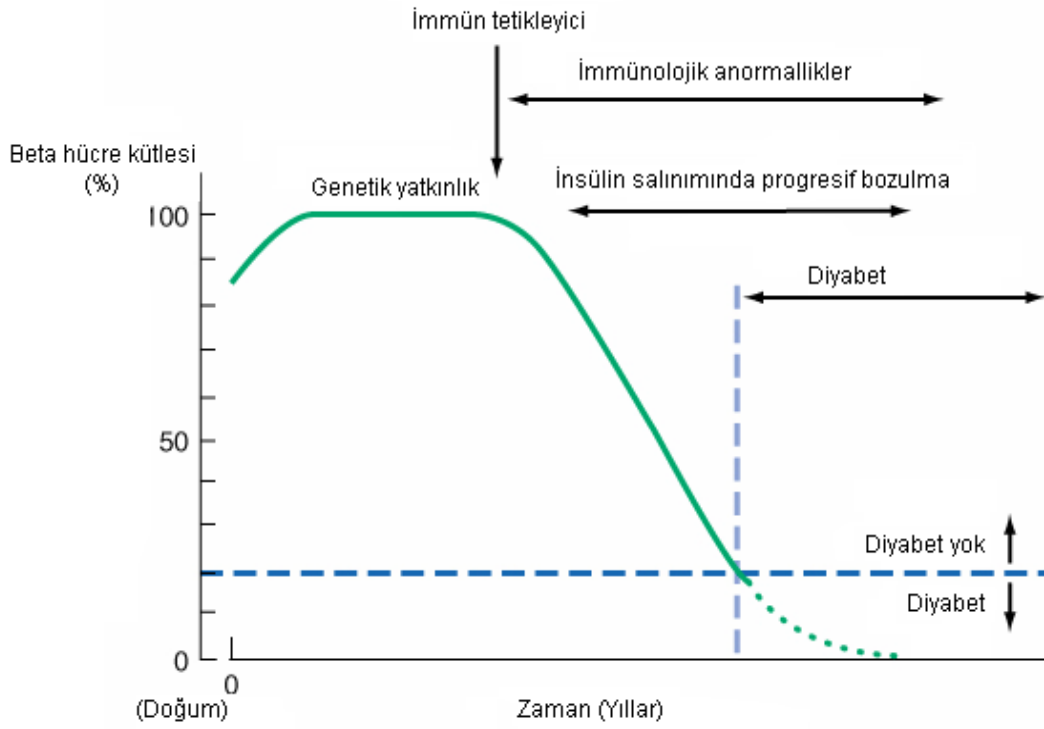
İmmün aracılı tip 1 diabetes mellitus da adacık hücresi otoantikörleri (islet cell antibody, ICA), glutamik asit dekarboksilaz antikörleri (anti-GAD) ve insülin antikörlerinin bulunması beta hücre harabiyetine neden olan otoimmün teoriyi destekleyen bulgulardır. Bu otoimmün süreci bir infeksiyon özellikle viral enfeksiyonlardan koksaki B, kabakulak, konjenital rubella veya çevresel bir uyarının tetiklediği düşünülmektedir. Bu uyarıyla birlikte yukarıda söz edilen immünolojik

markırlar kanda görülmeye başlar. Hastalığın başlangıç dönemlerinde normal glukoz toleransı korunmasına rağmen beta hücre kütlesi azalmaya, insülin salınımı giderek düşmeye başlar. Beta hücre kütlesindeki azalma hızı, kişiden kişiye farklılık gösterir, kimi hastada çok hızlı bir şekilde hasar oluşurken, kimi hastalarda bu süreç daha yavaş seyreder. Belirgin diyabet bulguları beta hücrelerinin büyük kısmının (~%80) hasarlanması ile ortaya çıkmaya başlar. Geri kalan fonksiyonel hücreler glukoz toleransı sağlayabilecek yeterlilikte değildir. Klinik tablonun glukoz intoleransından belirgin diyabet semptomlarına dönmesi ise insülin ihtiyacının arttığı enfeksiyon veya ergenlik gibi durumlarla olur. Otoimmün hasarın kalan sağlam hücreleride yıkması mutlak insülin yokluğu ile sonlanır (12).

Latent otoimmün diabetes in adults (LADA) adı verilen, hastaların fenotip olarak tip 2 diyabete benzediği, yavaş seyirli, mutlak insülin yetmezliği bulunmayan fakat otoantikörlerin bulunduğu tip 1 diyabetin otoimmün bir çeşidi de bulunur (17).

İdiyopatik tip 1 diyabette ise antikörler da dahil herhangi otoimmün bir neden bulunamaz. Bilinmeyen nedenlerle β -hücre kaybı ve insülin yetmezliği gelişir. Bu hastalarda ketoasidozise yatkınlık vardır (16).

Tip 1 diyabet için genetik uyumluluğun tek yumurta ikizlerinde %30 ile %70 arasında değişiklik göstermesi genetik yatkınlık dışında çeşitli başka faktörlerin de hastalığın gelişimde önemli yeri olduğunu gösterir. Hastalığa genetik yatkınlık 6. kromozomdaki HLA ile ilişkilidir. Çoğu tip 1 diyabet hastalarında HLA-DR3, DQB1*0201 ve HLA-DR4, DQB1*0302 bulunur (12).



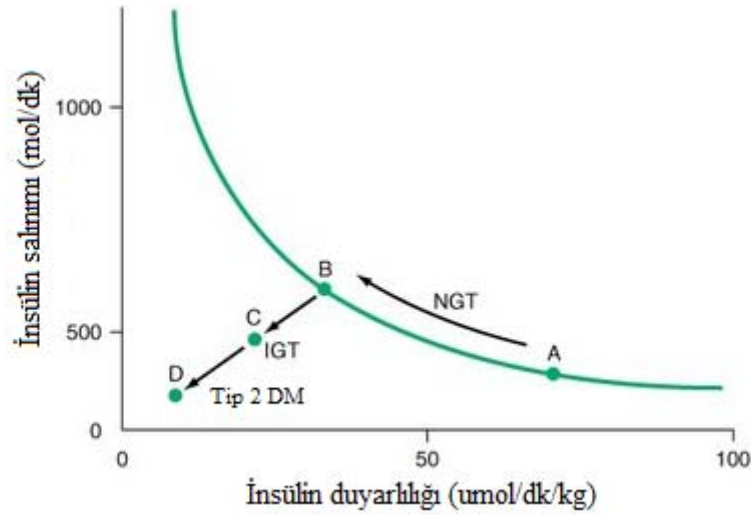
Şekil 2: Tip 1 diyabet klinik dönemleri (12)

Tip 1 diyabet hastalığı sıklıkla 30 yaşından önce başlar. Hastalar zayıftır. Genellikle tip 1 diyabet hastaları polidipsi, poliüri, kilo kaybı gibi semptomlar ve çok yüksek glukoz değerleri ile başvururlar. Ketoasidoz koması da ilk bulgu olabilir. Bu hastalarda tanı koyulduğunda sıklıkla komplikasyon gelişmemiştir. Tedavinin ilk başlangıcından itibaren insülin kullanırlar. Tip 1 diabetlilerde Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi, Addison, pernisiyoz anemi gibi diğer otoimmün hastalıklar için risk artmıştır (12, 16).

2.6. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 DM diyabetin en sık görülen formudur. Bozulmuş insülin sekresyonu, insülin direnci, artmış hepatik glukoz yapımı ve anormal yağ metabolizması ile karakterizedir. Tip 2 diyabet insidansının çok yüksek olduğu toplumlarda erken dönemde ilk saptanan bozukluk insülin direncidir.

1. İnsülin direnci: İnsülinin hedef dokularda (özellikle kas, karaciğer, yağ dokusunda) etkisinin azalması olarak tanımlanan insülin direnci bu hastalarda en göze çarpan özelliktir. Bu direnci yenmek için beta hücrelerince normalden daha fazla salgılanan insülin kan glukoz düzeylerini normal seviyelerinde tutmaya çalışır. Beta hücrelerinin bu kapasitesi aşıldığı anda açlık kan glukoz düzeyi yükselerek diyabet ortaya çıkar. Artmış direnç insüline duyarlı dokularda glukoz kullanımının azalmasına, karaciğerden glukoneogenez ile glukoz yapımını uyarılmasına ve sonucunda hiperglisemiye neden olur. Karaciğerde glukoz üretiminin artması açlık kan şekerinin yükselmesine, periferik glukoz kullanımının azalması da tokluk hiperglisemisine neden olur. Tip 2 diyabete neden olan insülin direncinin moleküler mekanizması tam olarak aydınlatılmamıştır. Çizgili kaslarda insülin reseptör sayılarının ve tirozin kinaz aktivitesinin azaldığı gösterilmesine rağmen, bu değişikliklerin sebep değil hiperinsülineminin sonucu olarak geliştiğini ifade edenlerde vardır. Ayrıca kan şekeri seviyelerinin düzenlenmesinde insülinin etkili olduğu fosforilasyon-defosforilasyon mekanizmalarında postreseptör defektlerinin direnç gelişiminde rolü olduğu düşünülmektedir (12).



Şekil 3: Tip 2 diyabette insülin sekresyonu ve insülin duyarlılığı ilişkisi. İnsülin direnci arttıkça (A noktasından B noktasına gelindiğinde) insülin sekresyonu da artar. İnsülin artışı ile kompanse edilemediği durumda bozulmuş glukoz toleransı (C noktası) , daha ileri evrede ise tip 2 diyabet gelişir NGT: Normal glukoz toleransı, IGT: bozulmuş glukoz toleransı (12)

2. **Yetersiz insülin salınımı:** Hastalığın ilk dönemlerinde doku direncine karşı artan insülin düzeyleri hastalığın ilerlemesine paralel olarak gittikçe azalarak ağır insülin yetersizliğine kadar ilerleyebilir. İnsülin salınımindaki bu azalmanın sebebi belirsizdir (12). Kronik hiperglisemi sonucu gelişen glukotoksisite, serbest yağ asitlerinin kanda artışı ile gelişen lipotoksisite, ilerleyici beta hücre disfonksiyonuna sebep olur (18).
3. **Karaciğerde glukoz üretiminde artış:** İnsülinin hedef dokularından biri olan karaciğer hücrelerindeki insülin direncinin en önemli sonucu normal koşullarda geçerli olan hiperinsülineminin glukoneogenezi baskılanmasına engel olarak açlık hiperglisemisinin gelişimine, toklukta ise glukozun glikojen olarak depolanmasını azaltarak kan şekeri düzeylerinin artmasına neden olur (12).
4. **Yağ metabolizması bozuklukları:** Yağ hücrelerindeki insülin direncine ve obesiteye bağlı olarak adipositlerde lipoliz uyarılır, serbest yağ asitleri salınır bunun sonucu olarak da hepatositlerde lipid (VLDL, trigliserid) sentezi artar. Dislipidemi gelişir. HDL azalır, VLDL, trigliserid yükselir (12).

Tip 2 diyabetin tip 1 diyabete göre daha güçlü bir genetik temeli vardır. Tek yumurta ikizlerinde tip 2 diyabetin genetik uyumu % 70-90 lardadır. Ebeveynlerinde diyabet bulunan kişilerde hastalık riski artmıştır. Hem annesinde hem babasında diyabet bulunan bir kişinin hastalığa yakalanma riski % 40 dır. Tip 2 diyabete yatkınlık oluşturan olan gen tam olarak aydınlatılamamıştır (12)..

Tip 2 diyabet kronik seyirlidir, sinsi seyreder. Hastaların hekime ilk başvurma nedenleri polidipsi, poliüri ve polifaji gibi yakınmalardan daha çok görme bozuklukları, el ve ayaklarda uyuşukluk gibi kronik komplikasyonlarla ilgili yakınmalardır. Genellikle 30 yaş üzerinde başlamakla birlikte son on yılda adolesanlarda tip 2 diyabet sıklığının dramatik bir artış gösterdiği gözlenmektedir (19). Tip 2 diyabet hastalarının % 80 i obezdir ancak yaşlı hastalar zayıf olabilir. Santral tip obezite daha sık görülür. Tedaviye ilk aşamalarında insülin ile başlanmaz, diyet, egzersiz, oral antidiyabetikler gibi çeşitli tedavi basamakları vardır. Hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, dislipidemi ve polikistik over sendromu (PCOS) gibi hastalıklar eşlik edebilir (17).

2.7. Diğer Özel Tip Diyabetler

Diğer özel tip diyabetlerin etyolojisinde insülin salınımı ve aktivitesinde bozukluğa neden olan çeşitli genetik bozukluklar, metabolik anormallikler bulunur. Maturity onset diabetes of the young (MODY) otosomal dominant kalıtımla geçen, hipergliseminin erken yaşta ortaya çıktığı (<25 yaş) ve insülin sekresyonunun bozulduğu diyabet çeşididir. İnsulin reseptör mutasyonlarının söz konusu olduğu bir grup hastada ciddi insülin direnci ile seyreden diyabet görülür (12). Diyabet pankreatit, travma, enfeksiyon, pankreas kanseri gibi pankreasın ekzokrin hastalıklarına sekonder pankreas adacık hücrelerinin hasarlanması sonucu gelişebilir. Glukagon, adrenalin, kortizol ve büyüme hormonu (GH) gibi insülin antagonisti hormonların aşırı üretimlerine neden olan glukagonoma, cushing sendromu, feokromasitoma ve akromegali gibi endokrinopatiler DM e sebep olabilir. Down sendromu, Klinefelter sendromu, Turner sendromu gibi çeşitli kromozomal anomaliler de yine diyabet gelişimine yol açabilir (17)

2.8. Gestasyonel Diabetes Mellitus

Normal gebelikte özellikle ikinci ve üçüncü trimesterde insülin direnci artar. Normal kan şekeri düzeyleri insülin sekresyonunun artması ile sağlanır. Gestasyonel diyabet gelişen kadınlarda insülin yarıya artmaz. Gestasyonel diyabet risk faktörleri birinci derece akrabalarında diyabet hastası bulunması, obezite, ileri anne yaşı, glikozüri, önceki gebelikte doğum öncesi ve doğum sırasında sorunlar yaşanmasıdır. Çoğunlukla anne için asemptomatik ve hayati tehlikesinin bulunmamasına rağmen gestasyonel diyabet hipokalsemi, hipoglisemi, ve makrosomiya bağlı artmış neonatal mortalite ve morbidite riski ile ilişkilidir. Maternal hipoglisemi fetusun normalden daha fazla insülin salgılamasına neden olur. Artmış insülin salgısı fetusun aşırı büyümesine ve makrosomiye yol açar. Sezaryan ile doğum, hipertansiyon, artmış diyabet riski maternal komplikasyonlardır (14). Çoğu kadın post- partum dönemde normal glukoz toleransına dönerler fakat ilerki dönemlerde % 30-60 diyabet gelişme riski vardır (12)

2.9. Diabetes Mellitusun Komplikasyonları

Diabetes Mellitus' un komplikasyonları akut ve kronik olarak sınıflandırılır :

A) Akut (metabolik) komplikasyonlar:

- Diyabetik ketoasidoz
- Hiperosmolar non-ketotik koma
- Laktik asidoz koması
- Hipoglisemi koması

B) Kronik (dejeneratif) komplikasyonlar:

1) Makrovasküler komplikasyonlar:

- Kardiyovasküler hastalıklar
- Serebrovasküler hastalıklar
- Periferik damar hastalığı

2) Mikrovasküler komplikasyonlar:

- Diyabetik nefropati
- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nöropati

Diabetes Mellituslu hastaların doku ve organlarında çeşitli metabolik, morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler meydana gelir. Akut komplikasyonlar yaşamı tehdit edecek düzeyde ciddi olabilir. Zamanında müdahale edilmeyen durumlarda stupor, koma, hatta ölüme neden olabilir (17).

Kronik komplikasyonun gelişme riski genellikle hiperglisemi süresine bağlı olarak artmaktadır. Tip 2 DM hastalarının çoğu uzun ve semptomsuz bir hiperglisemi dönemi geçirdikleri için, tanı konduğunda sıklıkla kronik komplikasyonlardan bir veya daha fazlası gelişmiş olabilir (18).

Serum ve doku proteinlerinin glikasyonu ile oluşan İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGEs, Advanced glycation end products), süperoksit oluşumu, vasküler permabilite artışına ve endotel disfonksiyonuna sebep olan sinyal iletim molekülü protein kinaz C nin aktivasyonu, sorbitol birikimine neden olan heksozamin ve poliol yollarının hızlanması, diyabete sıklıkla eşlik eden hipertansiyon ve dislipidemi, arteryal

mikrotrombozlar, vasküler otoregölasyonu bozan hiperglisemi ve hiperinsülineminin proinflamatuvar ve protrombotik etkisi, hipergliseminin immün disfonksiyon etkisi vasküler komplikasyonların gelişimi için ileri sürülen mekanizmalardır (20).

Mikrovasküler komplikasyonlardan biri olan retinopati ile olası görme kaybı, nefropati ile böbrek yetmezliği, periferik nöropati ile ayak ülserleri, amputasyon, Charcot eklemi, otonomik nöropati sonucu gastrointestinal, genitoüriner, kardiyovasküler semptomlar ve seksüel fonksiyon bozuklukları gelişmektedir. (21).

2.10. Makrovasküler Komplikasyonlar

Hiperinsülinemi, ve hiperglisemi dislipidemi, sonucu gelişen büyük damarların aterosklerozu diyabet için karakteristiktir (20). Diyabet hastalarında kardiyovasküler hastalılara bağlı mortalite ve morbidite oranı nondiyabetik hastalara göre belirgin olarak artmıştır (22).

2.11. Mikrovasküler Komplikasyonlar

2.11.1. Diyabetik Retinopati:

Diyabetli hasta grubunda normal kişilere göre körlük gelişme riski 25 kat daha fazladır. Diyabetin süresi ve kan şekeri kontrolü retinopati gelişiminde önemli belirleyicilerdir, hipertansiyon ayrıca önemli bir risk faktörüdür. Nonproliferatif ve proliferatif olmak üzere iki evresi vardır. Nonproliferatif dönem sıklıkla diyabetin ilk on yılın sonunda veya ikinci on yılın başında görülür. Bu dönemde retinal perisit kaybına, retinal vasküler permeabilite artışına ve retinal kan akımında değişikliklerin gelişmesine bağlı olarak retinal mikroanevrizmalar ve retinal iskemi gelişir. Proliferatif dönemde ise retinal hipoksiye cevap olarak neovaskülarizasyon görülmeye başlanır. Yeni oluşan damarlar optik sinir ve makulaya yakın yerlerde oluşur, çok kolay rüptüre olup vitröz kanamaya, fibrozise ve neticesinde retina dekolmanına ilerler. Tüm nonproliferatif evreler proliferatif evreye ilerlemez. Klinik olarak ciddi maküler ödem nonproliferatif fazda gelişir ve floresan anjiyografi ile tespit edilmesi 3 yıl içinde % 25 görme kaybı riskine işaret eder (12, 31).

2.11.2. Diyabetik Nöropati:

Uzun dönem diyabet hastalarının yaklaşık % 50 sinde nöropati gelişir. Mononöropati, polinöropati ve/veya otonomik nöropati şeklinde görülür. Diğer komplikasyonlarda da olduğu gibi diyabetin süresi ve glukoz kontrolü nöropati gelişimi için önemlidir. artmış vücut kitle indeksi (BMI, body mass indeks) ve sigara ek olarak risk faktörleridir. En sık görülen formu distal simetrik polinöropatidir. Sıklıkla distal his kaybı ile ortaya çıkar. Ayaklarda uyuşma, karıncalanma, yanma hissi ile başlar, zamanla proksimale doğru yayılır. İstirahatte ve geceleri şiddetlenen nöropatik ağrıda olabilir. Otonomik nöropati kardiyovasküler, gastrointestinal, genitoüriner ve birçok metabolik sistemi bir arada etkileyebilir (12, 31).

2.11.3 Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati mikroanjiyopati sonucu böbrekte oluşan hasarlanmaya verilen genel isimdir (5) ve diyabete bağlı gelişen morbidite ve mortalitenin başlıca nedenidir (23). Diyabetin yüksek orandaki sıklığına ve diyabetlilerin kardiyovasküler kaynaklı ölüm oranının azalmasına (24, 25) bağlı olarak tüm dünyada son dönem böbrek yetmezliğinin (SDBY) en sık sebebi haline gelmiştir. Renal replasman tedavisine ihtiyaç duyan hastaların % 40 ını da diyabetliler oluşturur (24, 26, 27, 28, 29, 26). Son yıllarda diyabetik nefropati hastalarındaki bu dramatik artış obezite, metabolik sendrom ve tip 2 diyabetteki epidemik artışla paralel gitmektedir. Tip 2 (%90) nin tip1 (%10) e göre prevalansının yüksek olması sebebiyle diyabetik nefropati hastaların çoğunluğu tip 2 diyabet hastasıdır (12). Diyabetik nefropati (DN) gelişimi için risk faktörleri; hiperglisemi, hipertansiyon, dislipidemi, sigara, aile öyküsü, ve renin-anjiyotensin-aldosteron aksını etkileyen gen polimorfizmi gibi genetik faktörlerdir (12). Örneğin diyabet ve hipertansiyonu olan hastalarda SDBY gelişme riski sadece hipertansiyonu olan hastalara göre 5-6 kat daha fazladır (18).

Tip 1 diyabet hastalarında hiperglisemi ilk on yılda ortaya çıktığı ve gürültülü başlangıç nedeniyle hastalık tanısı erken dönemde koyulduğu için hiperglisemi, hastalık gelişiminde tek sorumlu olarak kabul edilirken, tip 2 diyabette hiperglisemi genellikle kırklı yaşlardan sonra başlar ve bu döneme kadar böbrekler yaş (glomeruloskleroz için

başı başına bir nedendir), arteriyel hipertansiyon, obezite, dislipidemi, sigara gibi diğer faktörlere maruz kalmıştır (25)

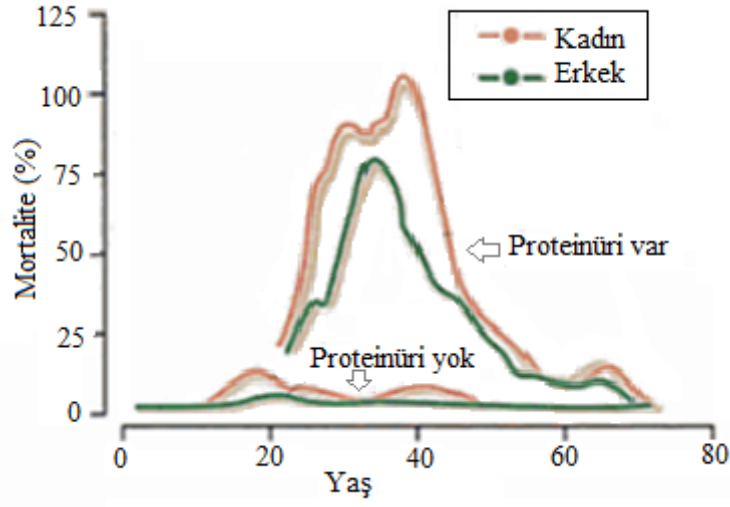
Diyabet hastalarında herhangi başka bir nedene bağlı böbrek hastalığı olmadan 6 aylık dönem içinde idrarda en az iki kere varlığı saptanan kalıcı proteinüri diyabetik nefropati lehine güçlü bir bulgudur. (42). Albumin diyabetik nefropatide idrarda atılan ana proteindir ve idrarda 300 mg/gün (300 mg/g kreatinin) den yüksek olması proteinüri veya makroalbuminüri olarak tanımlanır (12, 31, 32, 33). Erken dönem diyabetik nefropati tanısında ise kalıcı mikroalbuminüri varlığından yararlanılır. Mikroalbuminüri idrar albümin düzeylerinin 30-300 mg/gün (30-300 mg/gr kreatinin) olduğu konsantrasyonlara denir (12, 34, 31). Klinik nefropatinin tanısı idrar tahlilinde dipstick protein varlığı ile koyulabilir. Bu testler albümin konsantrasyonu >300 mg/L olduğunda pozitif sonuç verir. Mikroalbuminüri tayini ise dipstick testlerle yapılamaz, sadece sensitif immunassay yöntemler ile yapılabilir (43). Tedavi edilmediği takdirde mikroalbuminürisi bulunan tip 1 diyabetli hastaların % 80 inde idrar albümin atılımı her sene % 10-20 hızla artarak 10-15 sene içinde aşikar nefropatiye ilerler, tip 2 diyabetli hastaların ise % 20-40'ı diyabetik nefropatiye ilerler (32, 35, 36, 37, 38, 39). Diyabet tanısı alan bir hastanın normoalbuminüriden mikroalbuminüriye, mikroalbuminüriden diyabetik nefropatiye, nefropatiden SDBY liğine yıllık ilerleme hızı sırasıyla % 2.0, % 2.8 ve % 2.3 dür (40). Yapılan bir çalışmada 30 yıldan daha uzun süredir tip 1 diyabeti olan normoalbuminürik hastaların % 24.4 ünde 7 yıllık bir izlem süresi içinde mikroalbuminüri veya proteinüri geliştiği gözlenmiştir (33). Yine bu çalışmada daha önce kabul edilen uzun süreli diyabette mikroalbuminürinin selim bir durum olduğu tezinin aksine çalışmanın başlangıcında mikroalbuminürik olan hastaların % 32 si proteinüriye ilerlemiştir (33). Başka bir çalışmada da mikroalbuminüri ve proteinüri diyabetin süresinden bağımsız olarak herhangi bir döneminde görülebildiği gibi ve tedavisiz vakalarda diabet süresiyle orantılı olarak sıklıkla ortaya çıkabileceği gösterilmiştir (33). Yine 2007 de Chicago da yapılan ADA toplantısında Rause ve arkadaşları 216 sı idrarda albümin atılımı yüksek olan 712 tip 2 diyabetli hasta ile yaptığı çalışmada albüminürinin, diyabet süresi, HbA1C ve nabız basıncı ile korelasyonunun olduğunu belirtmişlerdir (29).

Tip 1 ve 2 diyabette diyabetik nefropatinin gelişimi benzer şekilde olur. Ancak tip 1 diyabet tanısı semptomların çarpıcılığı nedeniyle erken dönemde koyulabilirken ve nefropati açısından izlenebilirken, tip 2 diyabet hastaları yıllarca tanı almadan yaşayabilir ve ilerlemiş diyabetik nefropati ile karşımıza çıkabilir. Nefropatide etkin müdahale stratejileri hastalığın gelişimini yavaşlattığı için sistematik tarama programları geliştirilmiştir. Diyabetik nefropati gelişimi belirli bir süreç içinde olduğu için ve tip 1 DM hastalarında tanı diyabet hastalığı başladığı dönemde koyulduğu için tarama 5 yıllık bir süreden sonra her sene yapılmaya başlanabilir. Prepubertal dönem mikrovasküler komplikasyonların gelişmesi için uygun bir zemin oluşturmaktadır, klinik değerlendirme yapılırken yaklaşım hastanın durumu da göze alınarak yapılmalıdır. Ancak tip 2 diyabette yukarıda belirtildiği gibi hastalığın başlama zamanı belirsiz olduğu için ise taramaya tanı konduğu zaman başlanması, ilk taramada mikroalbüminüri saptanmadığı durumda mikroalbümin testinin her sene tekrarlanması önerilmektedir (12, 32, 39).

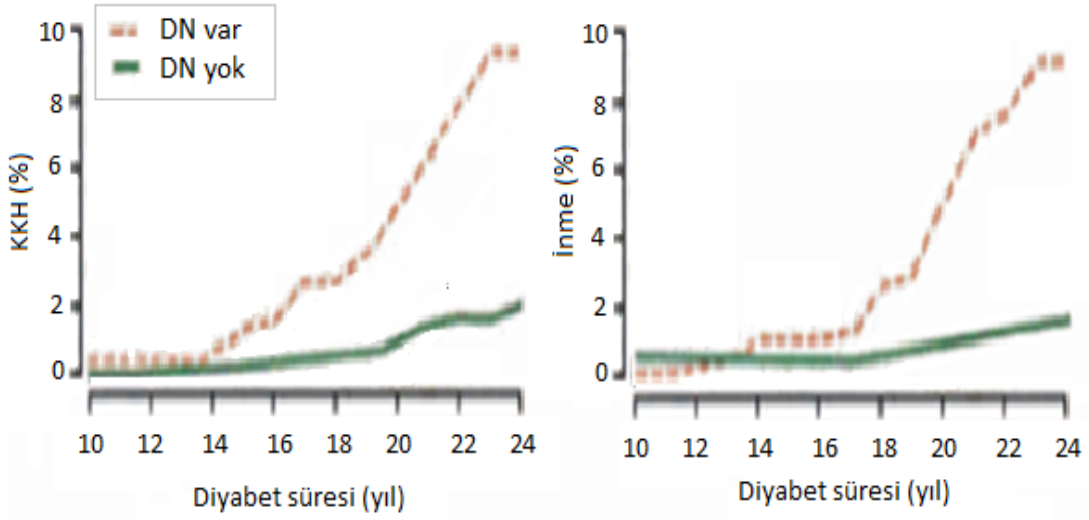
Diyabet hastalarında mikroalbüminüri ve makroalbüminüri sadece SDBY için değil ayrıca kardiyovasküler morbidite ve mortalite açısından da yüksek risk oluşturur (12, 18, 35, 36, 39). Tip 2 diyabetli yaşlı hasta gruplarında önceki yıllarda koroner arter hastalığına bağlı ölüm olasılığı yüksek olduğundan erken safhadaki nefropatilerin SDBY liğine ilerlemesi daha az sıklıkla olmaktadır. Fakat son zamanlarda koroner arter hastalığının tedavi yaklaşımlarındaki ilerleme, tip 2 diyabet hastalarının sağ kalım sürelerinin böbrek yetmezliği gelişecek kadar uzamasını sağlamıştır. (39)

Mikroalbüminüri DM da düşük prediktif değere sahiptir çünkü bu hastalar çoğunlukla yaşlıdır ve mikroalbüminürileri çoğunlukla arteriyel hipertansiyon ve kalp yetmezliğine bağlı gelişmiştir. Bu sebeple diyabetik nefropati gelişme riski yüksek diyabet hastalarında ilave markerlara acilen ihtiyaç vardır. (12)

Diyabetik nefropati kesin tanısı halen renal biyopsi ile koyulmaktadır. Ancak bu invazif yöntemin uygulanmadığı durumlarda makroalbüminüri ile birlikte diyabetik retinopatinin bulunması tanıyı güçlendirmektedir. Tip 1 diyabette diyabetik nefropatiye retinopati % 90 dan fazla oranda, tip 2 diyabetli hastalarda hastaların % 60 ına eşlik eder (26).



Şekil 4: Kalıcı proteinüri bulunan ve bulunmayan, kadın ve erkek diyabet hastalarında mortalite karşılaştırması. Diyabet hastalarında proteinüri varlığı her yaşta yüksek mortaliteye sebep olmaktadır (43).



Şekil 5: 4702 tip 1 diyabetli, nefropatisi (DN) bulunan ve bulunmayan hasta gruplarında yapılan, kümülatif inme ve koroner kalp hastalığı insidansını gösteren çalışma (43).

2.11.3.1 Diyabetik nefropatide klinik evreler

Hastalığın gelişimi beş evrede olur

Evre 1: Diyabetin başlangıcında glomerular hiperfiltrasyon ve hipertrofi bulunur. Her iki belirtide insülin tedavisinin veya metabolik kontrol altında birkaç hafta içinde geri dönüşümü olabilen bulgulardır (5, 32).

Glomerular Hiperfiltrasyon (GHF) : GFR nin 150 mL/dak üzerinde olmasıdır. Beraberinde nefromegali bulunması diyabetik nefropatinin ilk bulgusudur. Tip 1 diyabette her iki bulguda tanı koyulduğunda mevcut bulunur. GHF hiperglisemi ile provoke olur, insülin infüzyonu ile geriler.

Glomerül filtrasyon hızı (GFR, Glomerular filtration rate): Birim zamanda böbrek glomerül kapillerinden Bowman kapsülüne filtre olan sıvı hacmidir. Böbrek fonksiyonel kapasitesini ölçmek için kullanılan bir testtir (14). GFR için normal değerler 80-120 mL/dak dır. Normal yaşın ilerlemesiyle birlikte GFR de azalma görülür. En yüksek olduğu nokta olan ~120 mL/min/1.73 m² den üçüncü dekattan itibaren her yıl yaklaşık 1 mL/min azalarak 70 yaşında yaklaşık 70 mL/min/1.73 m² e düşer. GFR normal değerleri kadınlarda erkeklere göre daha düşüktür. Serum kreatinin konsantrasyonunda hafif bir artış GFR de sıklıkla ciddi bir düşüşe işaret eder (12).

Böbrek hasarının evresi	Tanım	GFR (mL/min/1.73)
	Artmış risk	≥90
1	Böbrek hasarı (Normal veya artmış GFR ile birlikte)	≥90
2	Hafif GFR azalması	60-89
3	Orta düzey GFR azalması	30-59
4	Ağır GFR azalması	15-29
5	Böbrek yetmezliği	<15 (veya diyaliz)

Tablo 1: Glomerül filtrasyon hızına (GFH) göre kronik böbrek hastalığı evrelemesi (The National Kidney Foundation – Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF - K/DOQI) The Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO))

Serum kreatinin konsantrasyonu (S_{Cr}) (mg/dL), yaş, cinsiyet, ırk and vücut ağırlığı kullanılarak tahmini glomerular filtrasyon hızı (eGFR) hesaplama formülleri :

1. Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Çalışmasına göre eGFR

Belirleme Formülü

$$\text{GFR (mL/dk/1.73 m}^2\text{)} = 175 \times (S_{Cr})^{-1.154} \times (\text{Yaş})^{-0.203} \times (0.742 \text{ eğer kadınsa}) \times (1.212 \text{ eğer siyah ırktan ise})$$

2. Cockcroft-Gault formülü

Tahmini kreatinin klerensi (mL/min)

$$= (140 - \text{yaş} \times \text{vücut ağırlığı, kg}) / 72 \times S_{Cr} \text{ (mg/dL)}$$

Tablo 2: GFR hesaplamada kullanılan formüller (45)

Evre 2: Böbrekte yapısal değişiklikler geliştiği halde henüz mikroalbuminüri yoktur, normalbüminüri vardır. Bu dönem diyabetin var olma süresinden bağımsızdır. Kontrolsüz hiperglisemi nefropati gelişimine sebep olur. (5, 32)

Evre 3: Yeni başlayan diyabetik nefropati vardır. Devamlı mikroalbuminüri bu evrenin en karakteristik belirtisidir. Yapısal hasar ilerlemekte fakat GFR değişmeden kalmaktadır. (5, 32)

Evre 4: Aşık nefropati ve persistan proteinüri ile karakterizedir. Serum kreatinini normal veya hafif artmıştır. Tedavi olmadığı durumlarda GFR hızlı bir şekilde düşer. Bu evrede hipertansiyon, GFR düştükçe artış gösterir. Bu nedenle kan basıncının sıkı kontrolü DN nin ilerlemesini önlemekte önemlidir. Aşık nefropati sıklıkla ciddi retinopati, nöropati, ve periferik ve koroner vaskülopati ile birlikte (5, 32)

Klinik düzeyde proteinüri gelişmesini takiben %80 den fazla hastada glomerüler filtrasyon hızı düşer, son dönem böbrek yetmezliğine ilerler Bir kere GFR düşmeye başladığı zaman bu düşüş kişiden kişiye değişiklik gösterir fakat genel anlamda tip 1 ile tip 2 hastalarında ciddi anlamda farklar olmaz. (32, 35, 39).

Evre 5: GFR de belirgin düşüklükle karakterizedir. SDBY gelişir. Proteinürinin başlangıcından itibaren 5 ile 20 sene içinde yaklaşık olarak da 7 sene içinde ortaya çıkar. (5, 32)

2.11.3.2 Diyabetik nefropatide yapısal değişiklikler:

Diyabetik nefropati böbreğin bütün alanlarında, hem glomerüllerde, hem de tübüler interstisyumda bir dizi ultrastrüktürel değişiklikler gelişmesine neden olur (23, 43). Bunlar bazal membran kalınlaşması, glomerüler ve tübüler hipertrofi, mesangiyal genişleme, glomeruloskleroz ve tübülointerstitial fibrozisdir. (35, 23, 18) Diabetes Mellitus başlangıcından itibaren 1-2 yıl içinde böbrekte morfolojik değişiklikler başlamaya başlar (12). Tek başına glomerül bazal membranda (GBM) kalınlaşma ilerlemiş yaşla ya da hipertansiyon ile birlikte de görülebildiğinden yukarıda sayılan diğer karakteristik patoloji bulguları olmadan DN yi tanımlamak zordur (30). Tanı anında kapiller yüzey alanındaki genişlemeye bağlı glomerüller büyümüştür. Daha sonra membranda kalınlaşma ve sıklıkla görülen mesangiyumda genişleme de glomerüllerde büyümeye katkı sağlar. GBM kalınlaşması ekstrasellüler matriks birikimine ve tip IV kollajen, laminin ve fibronektin gibi normal ekstrasellüler komponentlerin çökmesine bağlı olarak gelişir. Negatif yüklü filtrasyon bariyeri oluşturduğu düşünülen heparan sülfat kısmının kaybı ile de glomerül bazal membran kompozisyonu değişir. Genel olarak kabul edilen görüşe göre bu değişim serum proteinlerinin özellikle negatif yüklü olan albüminin idrara filtrasyonunun artması ile sonuçlandığı belirtilir (12). Ancak bu görüşün aksini iddia eden son dönemde yapılan çeşitli fizikokimyasal çalışmalarda albüminin heparan sülfat bölgelerinden geçişinin yüke bağlı değil büyüklüğe bağlı olduğu iddia edilmektedir. (47, 48).

Diyabet erken dönemde filtrasyon alanındaki artışa bağlı olarak GFR de artış olur fakat zaman içinde mezangiyel genişleme glomerüler kapillerleri sınırlar ve yapılarında bozulmaya neden olur buna paralel olarak GFR düşmeye başlar ve sonunda glomerüler oklüzyon gelişir (49). Artmış mezangiyum boyutları ile süperfisiyel kapiller yoğunluk arasında ters bir ilişki (orantı) vardır, bu nedenle mezangiyum büyüdükçe

glomerül filtrasyon yüzeyi küçülür. Mezangiyal büyüme Tip IV kollajen ve fibronektin gibi ekstrasellüler matriks proteinlerinin birikimi ile başlayıp hücrel büyüme ile devam eder. (5, 50). Mesangiumdaki genişleme zamanla mesangiyal sklerozize ilerler. Bazı vakalarda ayrıca nodüler glomerüloskleroz veya Kimmelstiel-Wilson nodülleri olarak isimlendirilen ezinofilik PAS(+) nodüller gelişebilir. İmmünfloresan mikroskopi ile sıklıkla nonspesifik lineer IgG birikimi veya immün deposit olmadan komplemanların beneklenme şeklinde birikimi görülür. (30, 12).

Hyalen ve hipertansif arterioskleroz ile birlikte belirgin vasküler değişiklikler de görülür. Kronik glomeruloskleroz ve tübülointerstitial değişikliklerle ilişkili olarak gelişir. Tip 1 ve 2 den alınan renal biyopsi örnekleri büyük ölçüde farksızdır. (12)

Glomerular kapiller basıncın artmasının (intraglomerular/glomerüler hipertansiyon) böbrek yapısı ve fonksiyonunda tübüler lümene protein filtrasyonuna neden olan değişikliklerde önemli rolünün olduğu birçok kanıtla ifade edilmektedir. Glomerüler hipertansiyon endotel, mezangiyal, podosit hasarına yol açarak tübüler lümene protein filtrasyonunu arttırır, tübülointersitisyel inflamasyon ve fibrozise yol açar (23, 44, 65). Sürekli hipertansiyonun mesangiyel hücrelerde mekanik gerginliğe yol açarak aşırı ekstrasellüler matriks üretimine GBM filtrasyon bariyerlerinde bozulmaya dolayısıyla proteinüri ve glomeruloskleroz gelişmesine neden olduğu varsayılmaktadır (5, 12, 50). Fonksiyonel nefron kaybı gelişir, bu olay glomerüler kapiller basıncını daha da arttırır, kısır döngü oluşur (23). Atrofik tübüllerden sodyum reabsorbsiyonunun azalması da tübülo-glomerüler feedback etkisiyle GFR de azalmaya neden olur (23).

Bütün dikkatler glomerüler değişikliklere yoğunlaşmışken, son zamanlarda tübülointersitisyel hasarın diyabetik nefropati patogenezinde önemli rol oynadığı, renal disfonksiyonunun önemli bir göstergesi olduğu ileri sürülmektedir. (23, 44, 51, 52, 53, 56, 76). Mikroalbuminüri tip 2 diyabet hastalarının 1/3 ünde karakteristik glomerülopati bulunurken 1/3 ünde normal böbrek yapısı bulunur. Kalan 1/3 lük hasta grubunda ise glomerüler değişiklikler bulunmazken ciddi tübülointerstisyel lezyonların bulunması tübüler hasarın DN de rol oynadığını destekleyen çalışmalardır. (52, 54). Renal fonksiyonlar tübülointerstitial değişikliklerle glomerular değişikliklerden daha

fazla ilişkilidir. Proksimal tübül diyabetik böbrek hastalığında önemli rol oynar, çünkü diyabet ile ilişkili çeşitli metabolik ve hemodinamik faktörlere özellikle hiperglisemiye çok duyarlıdır (23, 52). Proksimal tübüllere glukoz girişi insulinden bağımsız olarak gerçekleşir, bu da tübül hücrelerini kronik hipergliseminin zararlı etkilerine karşı daha hassas hale getirir. Hiperglisemide glukoz glomerüllerde filtrasyonuna uğrar, proksimal tübüllerde de insülin bağımsız sodyum-glukoz kotransporter aracılığı ile hücre içine girer (23). Kotransporter aracılığıyla glukoz ile birlikte absorbe edilen sodyumun renal tübüler hipertrofi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (24, 55). Proksimal tübüler sodyum ile birlikte sıvı reabsorpsiyonu glomerüler filtrasyonda tübüler kontrolün temelini oluşturur (55). Hiperglisemi epidermal growth faktör reseptör aktivasyonu ile de proksimal tübüler hücre proliferasyonunu tetikler (23). Glukoza maruziyet tübül hücrelerinden anjiyotensin gibi vazoaaktif hormonların, TGF- β (transforming growth factor β 1) ve matriks proteinlerinin (fibronektin, tip IV kollajen, hyalüronik asit) (24, 53, 55) salınmasına, AGE lerin oluşmasına neden olur. Glukoz bağımlı metabolik yollar ve vazoaaktif hormonlar tübüler ve interstitial hücreleri etkileyerek glomerülden bağımsız renal disfonksiyona neden olurlar (52). Tübüler hipertrofi, ve azalmış organik iyon transportu gibi değişiklikler proteinüri ortaya çıkmadan gelişir (56). Tübüler dokuda büyüme total böbrek hacim artışına katkıda bulunur. Tübüler bazal membranda kalınlaşma, tubuler hipertrofi ve hiperplazi, interstisyel fibroz, ve arteriyoskleroz tübüler patolojik değişikliklerdir (24, 31, 53, 55, 56).

Proksimal tübüllerin diyabetteki etkisi hakkındaki yeni çalışmalarda albüminin normal şartlarda glomerüllerden süzülmediği, tübüllerden ise geri emildiğini iddia edilmektedir (47, 51, 78). Glomerüler süzme kapasitesini ölçmek için floresanla boyanmış albüminin iki fotonlu mikroskopi kullanılarak glomerüllerden geçişi belirlenmeye çalışılmıştır. 69 kD floresan dekstran tracer için glomerular süzme sabiti 0.025 , floresan Alexa568 bağlı sıçan albümini için ise 0.034 iken bu değerler şimdiye kadar albümin için kabul edilmiş glomerüllerin süzme sabiti olan 0.0006 değerinden yaklaşık 50 kat daha fazladır. Comper ve arkadaşları bu durumu albüminin böbrek fizyolojisi ve patofizyolojisi için uzun zamandır kabul edilen dogmanın aksine normal şartlarda glomerüllerde filtre olup tübüllerden reabsorbe olduğu şeklinde açıklamaktadır. Sağlıklı sıçan böbreklerinde glomerüllerden filtre olan floresan ile işaretli albümin hızlı bir şekilde proksimal tübüllerden reabsorbe olurken proteinürik

sıçanlarda tübüllerden geri alım mekanizmasının bozulduğunu iddia etmişlerdir. Glukoz kontrolü diabetik sıçanlarda proksimal tübülüslerden geri alım yolunu koruyarak albüminüriden koruduğu belirtilmiştir (47, 51).

İmmunoreaktif ve immunreaktif olmayan albümin idrarda çıkar, immunreaktif olmayan albümin proksimal tübül hücrelerinde lizozomal enzimatik yıkılıma uğramışlardır. 2007 de Chicago da yapılan ADA toplantısında sunumu yapılan çalışmada Rosolowsky ve arkadaşları 144 tip 1 diyabetli hastanın idrarında immünoreaktif ve total albümin atılımını ölçmüşler, bu çalışmanın sonuçlarıyla da diyabetik nefropati patogeneğinde glomerul ve tübüllerinde birlikte rol oynadıklarını öne sürmüşlerdir (32).

2.11.3.3 Diyabetik nefropatide patofizyolojik değişiklikler:

Diyabetik nefropatinin çeşitli gelişim evreleri vardır. Fonksiyonel değişiklikler nefronda glomerüler seviyede, glomerüler hiperfiltrasyon ve hiperperfüzyon şeklinde klinik bulgular ortaya çıkmadan önce görülür. Bunu takiben yapısal olarak daha öncede bahsedildiği gibi glomerüler bazal membranda kalınlaşma, glomerüler hipertrofi, ve mezangiyel genişleme olur. (35)

Erken diyabetik böbrek yetmezliğinde iki fenotip kanıtlanmıştır; hemodinamik fenotip ve growth fenotip. Hemodinamik fenotip glomerüler hiperfiltrasyon ile karakterizedir. Diğer bir fenotip de diyabet erken döneminde hipertrofi ve hiperplaziyle böbrek boyutlarının büyümesidir. Bu büyümede proksimal tübülüs en büyük paya sahiptir (5, 23, 28). Böbrek boyutlarındaki büyüme ile hiperfiltrasyon gelişmesi arasındaki zamanlamayı ölçmek mümkün değildir. Bundan dolayı eğer GFR ile böbreğin büyümesi arasında bir neden sonuç ilişkisi varsa hangisinin neden hangisinin sonuç olduğunu belirsizdir (23).

2.11.3.3.1 Hemodinamik değişiklikler

Hemodinamik değişiklikler olan hiperfiltrasyon, hiperperfüzyon DN gelişiminde anahtar rol oynar ve patolojik proseste glisemik kontrolün zayıf olduğu erken dönemde görülür (5, 31). Tam anlaşılammış olmasına rağmen hiperfiltrasyon tuz fazlalığına bağlı gelişmez. Ekstraselüler hacim azalmasına aldırış etmeden GFR devamlı bir artış gösterir ki bu da glomerüler ve pre-glomerüler damar anormalliklerine bağlanmıştır. Afferent arteriollerde efferentlere göre daha belirgin şekilde görülen vazodilatasyon intraglomerular basınç artışına (glomerular hipertansiyona) neden olur (31, 35, 57). Bu olaydan sorumlu bir çok vazoaaktif faktör vardır. Bunlar prostanoidler, nitrik oksit (NO), vasküler endotelial growth faktör (VEGF), TGF- β 1, Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS) özellikle anjiyotensin II, endotelindir (34, 35, 53, 57). Bu erken hemodinamik değişiklikler albüminin glomerül kapillerinden süzülmesine, aşırı mesangiyel matriks üretimine neden olur bunun yanında glomerüler podositlerin hasarlanmasını ve bazal membran kalınlaşmasını kolaylaştırır. Hemodinamik değişikliklerle oluşan mekanik zorlanma çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımına sebep olabilir (31, 35). Mikroalbuminürinin mekanizmasında, aşırı filtrasyona sebep olan glomerüler endotel bariyerde anormallikler ve tübüler hücrelerde albümin degradasyonunun ve reabsorpsiyonunun azalması olduğu varsayılmaktadır. (29).

Diyette protein kısıtlaması, insülin ile glisemik kontrol, Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEi) kullanımı gibi direk glomerüler basıncı düşürmeye yönelik terapötik yaklaşımlar bir sonraki evrede gelişebilecek glomeruloskleroz, ve artmış idrar albümin atılımını düzeltir. (31). Renal ve karotid arter stenozu bulunan hastaların diyabetik nefropati ve retinopatiye karşı stenozun olduğu tarafta korundukları gözlenmiştir (31, 58).

Hemodinamik değişiklikler renin-anjiyotensin-aldosteron, endotelin gibi çeşitli vazoaaktif sistemin aktivasyonu ile olur. TGF- β 1 gibi profibrotik sitokinlerin cevap olarak salınımı artar, sistemik ve intraglomerular basınç artar. Metabolik yolda nonenzimatik glikasyon, protein kinaz C aktivitesinin artışı ve anormal poliol metabolizması vardır. Çeşitli araştırmaların sonuçları sitokinler, growth faktörler ve

metalloproteinler gibi inflamatuvar moleküllerin sekresyonunun artması ile diyabetik nefropati gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Oksidatif stress de ayrıca önemli rol oynar (35)

Hemodinamik etkilerinin yanında anjiyotensin II büyüme faktörü gibi davranarak proksimal tübüllerde ve renal interstitiyal fibroblastlarda TGF- β stimülasyonu yapar (35, 53). Renin-anjiyotensin blokerleri anjiyotensin II nin profibrotik etkilerini TGF- β 1 stimülasyonunu zayıflatarak antagonize eder. Diyabetik nefropatinin zemininde bulunan bu profibrotik etki hayvansal deneylerle de gösterilmiştir. Renin-anjiyotensin sisteminin prediyabetik sıçanlarda geçici bir süre (7 hafta) bloke edilmesi proteinüriyi azaltmış, glomerüler yapıyı düzeltmiştir. Ek olarak ACEi verilen nefropatili tip 1 diyabet hastalarında TGF- β 1 konsantrasyonları düştüğü gözlenmiştir. serumda ve idrarda düşük TGF- β 1 seviyeleri ile renal korunma birbiriyle korelasyon içindedir ve zaman içinde değişim gösteren glomerular filtrasyon hızı ile tanımlanır (35). AGE oluşumunun ve aktivitesinin, oksidatif stresin, PKC nin baskılanması diyabetik nefropati gelişimine karşı koruyucu olduğu deneysel nefropati ile hayvan deneylerinde ve diyabetli hastalarda gösterilmiştir (31)

2.11.3.3.2 Hiperglisemi

Diyabetik nefropati gelişmesi için glomeruler ve mezangiyel hücelere etkisinden dolayı hiperglisemi önemli bir faktördür fakat tek başına yeterli değildir. Mezangiyal hücelere glomerüller kapiller yapıyı korumanın yanında düz kas aktivitesi ile de glomerüler filtrasyonu düzenler. Mezangiyal hücre genişlemesi kısmen hücre içi glukoz konsantrasyonunun artmasına bağlıdır. Bu etki normal kan glukoz düzeylerinin sağlandığı koşullarda GLUT 1 ve GLUT 4 gibi glukoz taşıyıcılarının ekspresyonunu artırılarak hücre içine fazla glukoz girişinin olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. (35).

Hiperglisemi ile upregule olan VEGF glomerüler podositlerden eksprese edilir. Vasküler permeabiliteyi artırır (18, 35). VEGF reseptörleri özellikle glomerüler endotel hücreleri üzerinde bulunur ve endotel hücrelerinden anti-apoptotik proteinlerin salınımına yol açar. Obez tip 2 diyabet modelinde de VEGF inhibisyonu sonucunda

glomerüler hipertrofinin de önlendiği görülmüştür (18).

Hiperglisemi tek başına DN gelişiminden sorumlu değildir. Diyabetik olmayan donörlerden alınan ve diyabeti ve nefropatisi gelişmiş hastalara transplante edilen böbrekte glukoz kontrolünden bağımsız olarak DN geliştiği gösterilmiştir (35).

Hipergliseminin doku hasarına sebep olmasını açıklayan üç mekanizma kabul edilmektedir; proteinlerin non-enzimatik glikasyonu ile oluşan ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE), protein kinaz C aktivitesi, aldoz redüktaz yolunun hızlandırılmasıdır. Oksidatif stres her üç yolda da merkezi bir yol oynar. Hipergliseminin stimülasyonu ile mitokondriyel elektron transport zincirinde aşırı reaktif oksidatif stres molekülü üretimi diğer yolarıda uyararak merkezi bir rol oynar (33, 18).

2.11.3.3 İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGEs)

Hiperglisemi, yaşlanma prosesinde ve vasküler komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynayan, irrevesibl olarak intraselüler ve ekstraselüler proteinlerin serbest amin kalıntılarına glukoz bağlanması ile gerçekleşen glikasyon mekanizması ile AGE lerin oluşumuna neden olur. Bu nonenzimatik proses glomeruler bazal membran ve diğer matriks komponenlerini etkiler başlangıçta reverzibl erken glikasyon son ürünlerinin oluşumuna, daha ileriki dönemde reverzibl olmayan AGE oluşumuna neden olur (27, 35). Kollajen, laminin gibi yapısal proteinler irreversibl AGE lere dönüşmeye başlarlar. AGE ler hücrel proteinlerle direk temasın yanında vasküler hücre biyolojisinde değişikliklere neden olabilecek intraselüler sinyalizasyonda da anormalliğe neden olur. AGE lere spesifik reseptörler (RAGE- receptor for AGE) retina, periferal sinirler, damarlar gibi diyabetik komplikasyonlara açık dokularda bulunmaktadır. Böbreklerde AGE lerin bağlandığı reseptörler mezengiyal ve proksimal tübül hücresi kültürlerinde gösterilmiştir (31). AGE lerin etki mekanizması üç şekilde görülür.

1. Yapısal proteinlerin glikasyonu disülfit çapraz bağ sayısını artırır. Bu da matrix oluşumunu, makromoleküllere geçirgenliği etkiler, degradasyon ve turnover bozulur (31).
2. Reseptöre bağlanarak diyabetik böbrek etyolojisinde etkin role sahip çeşitli sitokinleri (TGF- β 1, interlökin 1, tümör nekroz faktör, VEGF) aktive eder. Dolaşan AGE ler ayrıca osteonektin (SPARC), vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1) ve platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi diğer sitokinlere bağlanır, yanı sıra doğrudan okside LDL kolesterolü de arttırlar (31).
3. NO nun vazodilatör ve antiproliferatif etkisini inhibe ederler (31).

Yapılan bir çalışmada diyabetik olmayan farelere yapılan AGE enjeksiyonu diyabette görülene benzer glomerulopati gelişimine yol açmıştır (31).

2.11.3.3.4 Polioll Yolu

Diyabetik hastaların damar yapıları incelendiğinde aldoz redüktaz metabolik ürünlerinin birikimi gösterilmiştir. Böbrekte bulunan aldoz redüktaz enzimi D-glukozu NADPH harcayarak metabolik olarak inert bir alkol olan sorbitale katalize eder. Dolaşımda glikozun artması bu enzimin upregüle olmasına, böylece dokularda sorbitol birikmesine neden olur. Bu durum hiperglisemi durumlarında görülür çünkü aldoz redüktazın glukoz için K_m i büyüktür (70 mM). (59) Sorbitol hücre membranını geçemez, birikim olduğunda hücre içinde osmotik stres oluşturur, hücre içine su çeker bu olay özellikle insülin bağımsız dokularda görülür. (59) NADPH in aşırı tüketimi de nitrik oksit azalmasına NADH/NAD⁺ seviyelerinin artmasına bağlı oksidatif strese ve Na-K ATPase aktivitesinin azalmasına neden olur (31). Aldoz redüktaz inhibitörlerinin kullanıldığı çeşitli hayvan deneylerinde, mikrovasküler patolojik değişikliklerden korudukları gösterilmiş olmasına rağmen uzun dönemde diyabetli köpeklerde diyabetik retinopati ve nefropatide bir iyileşme göstermemişlerdir. Ayrıca insanlarda koruma ve tedavi edici etkileri bulunamamıştır. (31, 41,35). Bunun nedeni de polyol yolunun patogenezde etkili mekanizmalardan sadece bir tanesi olması olabilir (18).

2.11.3.3.5 Protein Kinaz C

Sitokinler ve hormonların uyarılması için gerekli intraselüler sinyal iletim sisteminde görevli kinaz ailesine ait bir enzimdir.. PKC- β , diyabette sürekli aktif olan DAG ve kalsiyuma duyarlı olan izoformdur (31). Yüksek glukoz konsantrasyonları özellikle retina ve glomerüllerde intraselüler protein kinaz C aktivitesini arttırlar (18, 31, 35). Hiperglisemi ile aşırı aktiflenen diaçilgliserol (DAG) protein kinaz C yi uyarır. Sitokinlerin, büyüme faktörlerinin artışı yine PKC aktive olmasına neden olur. AGE lerin reseptör uyarısı ve oksidatif stres PKC uyarılmasına neden olan diğer etkenlerdir. PKC nin yapısal ve hemodinamik etkileri nitrik oksit yapımının inhibisyonu ve vazoaaktif ve büyüme faktörlerinin gen ekspresyonunun değiştirilmesiyle ortaya çıkar (31). PKC ekstrasellüler matriks yapımına, hücre büyümesine, anjiyogenesise, vasküler permeabilite ve hücre kontraktilite artışına sebep olur. Vazodilatatör prostanoidlerin (prostaglandin E2, prostasiklin) salınımını arttırarak glomerüler hiperfiltrasyona katkıda bulunur (31). TGF- β 1 aktivasyonu ile mesangiyal hücrelerin ekstrasellüler matriks yapımını arttırır (18, 31, 35).

2.11.3.3.6 Oksidatif Stres

Nefron içindeki metabolizmadan kaynaklı yüksek miktarda (ROS) oluşur. Bunlar normal şartlarda antioksidan enzimler, serbest radikal süpürme sistemleri ile bir denge halindedir. Fakat bu durum hiperglisemide ROS lehine değişir (35). Reaktif oksijen türleri hücre zarı lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, renal vasokonstriksiyon ve DNA hasarı meydana getirirler (34, 35). Diyabet olmayan kişilerde daha az görülmeyle birlikte böbrek biyopsi örneklerinde mesangiyal matriks ve glomerülde glikooksidasyon ve lipooksidasyon ürünleri gözlenmiştir (35).

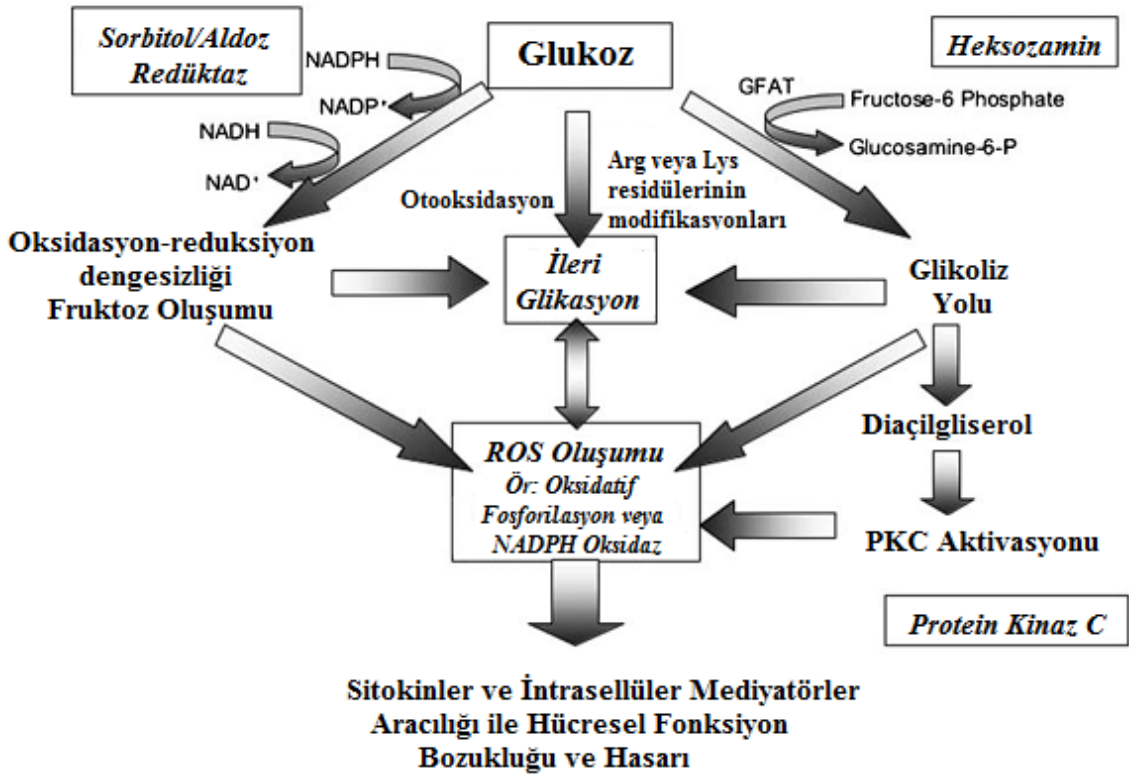
2.11.3.3.7 Sitokinler, Büyüme Faktörleri

TGF- β 1 ve CTGF (konnektif doku büyüme faktörü) mesangiyum (glomerül) ve interstisyumda fibrotik değişikliklere neden olurlar (24, 33). TGF- β izoformlarını ve reseptörlerini kodlayan mRNA lar tüm glomerüler hücre tiplerinde ve proksimal tübülüsde bulunur. İn vivo ortamda glomerül endotelial ve mesangiyal hücrelerinden ekstrasellüler matriks yapımını uyarır (31).

GH ve IGF-1 (insulin like growth factor-1) glomerüler hiperfiltrasyon ve hipertrofi ile ilişkilidirler. VEGF (Vascular endothelial growth factor) için glomerül filtrasyon bariyerinde protein permeabilisini arttırdığını gösteren bazı bulgular olsa da ağır/ciddi/şiddetli skleroze glomerül gelişmiş diyabetli hastalarda düşük düzeylerde bulunmuştur (31, 35). İn vivo çalışmalarda VEGF blokasyonunun deneysel diyabette glomerüler hipertrofidan koruduğu ve mikroalbuminüride iyileşme sağladığı gözlenmiştir (35). Anjiyotensin II proteinler için glomerular kapiller permeabiliteyi artırır, büyüme faktörü etkisi ile de mesangiyel hücre proliferasyonuna ve matriks birikimine yol açar (32, 33, 35).

2.11.3.3.8 Heksozamin yolu

Glikoliz esnasında heksokinaz glukozu glukoz-6-fosfata çevirir, glukoz-6-fosfat ise fruktoz-6-fosfata çevrilir. Glutamin fruktoz-6-fosfat amidotransferaz ise glutamini amino donörü olarak kullanarak glukozamin-6-fosfat meydana getirir. Glukoz ile bu enzimin aşırı ekspresyonu PKC aktivasyonuna ve TGF- β 1 ekspresyonuna yol açar (31).



Şekil 6: Diyabetik nefropatide etkili metabolik yollar

2.12 Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)(Lipocalin2)

Lipocalin protein ailesine ait 25 kD ağırlığında 8β heliks yapısında bir proteindir. Bazı bakteriler ekstrasellüler ortamdaki demiri yakalamak için demir bağlayan sideroforlar üretir, NGAL bu sideroforlara bağlanarak bakteriyel büyümeyi bloke eder (38, 41, 46). Büyük oranda nötrofillerde ayrıca böbrek, kolon, karaciğer, ve akciğer epitel hücrelerde üretilir (60, 61, 62).

Antioksidan fonksiyonu vardır. Sideroforlara bağlanarak demirin hedef organlara taşınmasını sağlar böylece oksijen radikalleri üreterek oksidatif strese ve doku hasarına neden olan serbest reaktif demirin ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlar (46).

Plazmada bulunan NGAL glomerüllerden serbestçe filtre olur, büyük kısmı proksimal tübüllerden reabsorbe olur. İdrarda NGAL varlığı beraberinde gelen NGAL reabsorbsiyonunun engellenmesine neden olan proksimal renal tübül hasarına ve/veya artmış de novo NGAL sentezine bağlıdır. Akut böbrek hasarında hızlı masif NGAL

mRNA upregulasyonunun distal nefronda, çıkan kalın henle kulpu ve toplayıcı kanallarda arttığını göstermiştir (63, 64).

NGAL tübüllerde aktif hasar göstergesidir, atrofiye olmamış nefronlardan tübüler strese cevap olarak salgılanır (46, 61). NGAL in böbreğin diyabete adaptasyon mekanizmasında büyük olasılıkla da tübüler hasarlanmayı hafifletmek açısından önemli rolü olduğu iddia edilmektedir (65).

NGAL akut böbrek hasarının erken dönemde gösterilmesinden dolayı umut vaad eden biyomarkırlardan biri olarak kabul görülmektedir (60, 63, 66, 46). Akut böbrek hasarı (AKI, akut kidney injury) durumunda idrarda NGAL atılımı serum kreatinin yükselmeden veya idrar çıkışı azalmaya başlamadan önce devamlı bir artış gösterir (66). Serum kreatininde yükselme idrarda NGAL'in yükselmesinden en az 24 saat sonra başlar (46). Erişkin ve çocukta kardiyak cerrahi takiben serum kreatinin düzeyleri ile akut böbrek hasarı tanısını koymak için 1-3 gün beklemek gerekirken, serum ve idrar NGAL düzeyleri bir kaç saat içinde yükselerek tanıyı sağlarlar. (46, 67). Kardiyak cerrahi sonrası NGAL için prediktif değer AKI tanımlamasının kreatinine bağlı olarak kesin olarak yapıldığı durumda çok daha yüksektir, AKI şiddetinin progresif olarak arttığı durumlarda daha progresyonla orantılı olarak daha da yükselir (46).

53 kişilik bir renal transplantasyon hasta grubunda yapılan bir çalışmada idrar NGAL düzeylerinde her 100 ng/ml lik bir artışın, gecikmiş greft fonksiyonu (68, 63). gelişme olasılığında %20 lik bir artışa neden olduğu görülmüştür (66). Yapılan bir başka çalışmada da idrar NGAL düzeylerinin böbrek transplantasyonu sonrası ilk bir hafta içinde gelişecek diyaliz ihtiyacını ve 3 aylık dönem içinde greftteki düzelmeyi gösteren erken, noninvazif, doğru bir markır olduğu gösterilmiştir (69).

Otoimmün hastalıklara (78, 79), glomerüler hastalıklara (80, 81) bağlı gelişen kronik böbrek hastalıklarında da altta yatan aktif hasarı yansıttığı düşünülmektedir. Özellikle otozomal dominant polikistik böbrek hastalığında kist formasyonunda NGAL in önemli role sahip olabileceği ifade edilmektedir (82).

2.13 Kidney injury molecule-1(KIM -1)

KIM-1 (TIM-1- T cell İmmunoglobulin and mucin containing molecule) hasarlanmış böbrekte proksimal tübül apikal membrandan salınır. Glomerüllerde, peritübüler interstisyel hücrelerde veya medüller hücrelerde sentezlenmez.(70, 71).

KIM-1 sağlıklı böbreklerde eksprese edilmez (46, 70). İskemik hasarda, nefrotoksik ilaçlara maruziyette ve akut/kronik böbrek transplant fonksiyon bozukluğunda, polikistik böbrek hastalığında artan bir transmembran proteinidir (61, 46, 73, 74, 83, 84, 85, 86). Son dönemde yapılan çalışmalarda akut böbrek hasarını izleyen ilk 24 saat içinde idrarda artan bir markır olduğu iddia edilmektedir (70, 46, 73). Akut tübüler nekrozda daha belirgin olarak yüksek bulunmaktadır (73, 75). Tübüler hücre hasarının patogenezinde ve tamirinde rol oynadığı düşünülmektedir (87).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta ve kontrol gurupları:

Çalışmamız 2011 yılında Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Endokrinoloji polikliniğinde takip edilen hastalar ile yapılmıştır. 31 normoalbuminürik (≤ 30 mg/gr kreatinin) tip 2 diyabet hastası, 18 mikroalbuminürik (30-300 mg/gr kreatinin) tip 2 diyabet hastası ve 22 sağlıklı kişi kontrol grubu olmak üzere toplam 71 hasta ile çalışma gerçekleştirildi.

Tip 2 Diabetes Mellitus tanı kriteri olarak, ADA kriterleri göz önüne alındı. Hasta ve sağlıklı kontrollerin anamnezleri alındı ve fizik muayeneleri yapıldı. Hastaların en az 15 dakikalık istirahat sonrası, oturur pozisyonda kan basınçları ölçüldü.

Ölçümler:

Serum örneklerinde glukoz ve kreatinin, tam kanda HbA1C, idrarda albumin, kreatinin, NGAL, KIM-1 çalışıldı. Kan örnekleri 8-12 saatlik gece açlığından sonra sabah erken saatlerde alındı. Serumda glukoz ile kreatinin, tam kanda HbA1C, idrarda albumin testleri örnekler bekletilmeden çalışıldı. NGAL, KIM-1, ve kreatinin analizleri için idrar alındıktan sonra 1370xg de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı -70°C de çalışma gününe kadar saklandı.

Glukoz tayini Glucose HK Gen.3 kiti kullanılarak heksokinaz yöntemi ile, kreatinin Creatinin Jaffe Gen.2 kiti kullanılarak Jaffe yöntemi ile Roche Integra 400 cihazında ölçüldü. HbA1c ölçümleri ise yine Roche Integra 400 cihazında Tina-quant Hemoglobin A1c Gen.2 kiti kullanılarak immünotürbidimetrik yöntem ile tayin edildi. İdrar albumin konsantrasyonu immünonefelometrik yöntemle BN ProSpec System cihazında N Antiserum to human albumin (DB) kiti ile sabah spot idrar örneklerinden çalışıldı. Sabah randomize toplanan spot idrarlarda gün içi değişimi en aza indirmek için sonuçlar albumin miktarı kreatinin miktarına oranlanarak “albumin/kreatinin” değerleri kullanıldı. Bunun için idrar kreatinin konsantrasyonları serumla aynı yöntemle Roche Integra 400 cihazında Creatinin Jaffe Gen.2 kiti kullanılarak Jaffe yöntemi ile ölçüldü.

İdrarda NGAL ölçümü BioVendor' a ait Human Lipocalin-2 / NGAL ELISA kiti ile ELISA yöntemi ile, KIM-1 ölçümü Quantikine R&D ye ait TIM-1 / KIM-1 / HAVCR kiti ile ELISA yöntemi ile çalışıldı.

Glomerül filtrasyon hızı dört değişkenin (serum kreatinin, yaş, cinsiyet ve etnik grup) kullanıldığı The Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) formülü ile hesaplandı. MDRD: $GFR (mL/dk/1.73 m^2) = 175 \times \text{Plazma kreatinin (mg/dL)}^{-1.154} \times \text{Yaş}^{-0.203} \times 0.762$ (kadın için) $\times 1.212$ (siyah ırk için).

İSTATİKSEL ANALİZ

Çalışmada elde edilen tüm veriler SPSS 19 (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanılarak değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama, standart sapma, ortanca, en büyük ve en küçük değerler hesaplandı. Normal dağılım gösteren veriler Kolmogorov-Smimov test ile belirlenerek, Ortalama±Standart sapma (mean±SD) şeklinde, normal dağılım göstermeyen veriler ise Ortanca, en küçük değer-en büyük değer (median, min-max value) şeklinde belirtilmiştir. Normal dağılım gösteren gruplar kendi aralarında parametrik bir test olan ANOVA ile karşılaştırıldı. Grupların ikili karşılaştırmalarında ise tukey-test kullanıldı. Nonparametrik grupların kendi aralarındaki karşılaştırmaları Kruskal-Wallis ile, ikili karşılaştırmaları Mann-Whitney U ile yapıldı. Parametreler arasındaki ilişkinin incelenmesinde ise Pearson-korelasyon testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

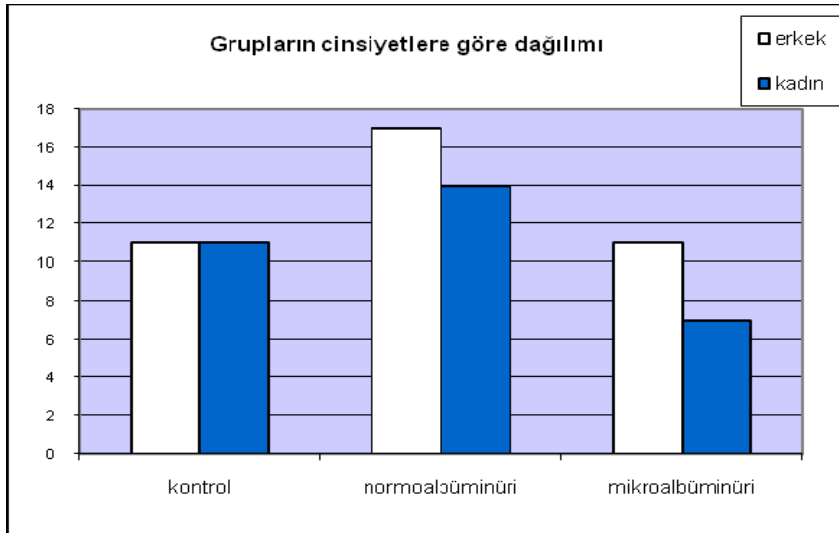
Çalışmaya normoalbuminürik ve mikroalbuminürik tip 2 DM li hasta grupları ile sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam 71 kişi katıldı.

Kontrol grubu (n = 22)

Normoalbuminürik Diyabetli (n = 31)

Mikroalbuminürik Diyabetli (n = 18)

Grupların yaş ortalamaları (ortalama \pm SD) kontrol grubu, normoalbuminüri ve mikroalbuminüri için sırasıyla; 50 ± 10 , 56 ± 11 , 55 ± 12 olarak tespit edildi. Her üç grubun cinsiyet sayıları yine aynı sıralama ile E/K olarak 11/11, 17/14, 11/7 idi



Şekil 7: Grupların cinsiyetlere göre dağılımları

Çalışmamızda kullanılan gruplara ait çeşitli klinik veriler Tablo 3 de verilmiştir. Her üç grubunda eGFR'leri değerlendirildiğinde, diyabetli grupların da normal sınırlarda glomerül filtrasyon hızına sahip oldukları görüldü.

İdrarda NGAL düzeyleri sırasıyla kontrol gurubu için 9.42 ug/gcr ($1.74-41.54$), normoalbuminürik gurup için 4.62 ug/gcr ($1.42-53.84$) ve mikroalbuminüri grubu için

3.42 ug/gcr (0.829-29.5) dir. (Tablo 2) Gruplar arasında ortanca değerler karşılaştırıldığında NGAL'in en yüksek değerlere sahip olduğu grup kontrol grubu, en düşük değerlere sahip olduğu grup ise mikroalbuminüri grubudur. Kontrol grubu ile mikroalbuminürik hastalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

KIM-1 (ug/gcr) konsantrasyonlarının ortalamaları kontrol, normoalbuminüri ve mikroalbuminüri grupları için sırasıyla 1068 ± 484 , 1373 ± 1040 , 1747 ± 647 dur (Tablo 4) ve gruplar arasındaki değerler karşılaştırıldığında KIM-1 değerlerinin kontrol grubundan mikroalbuminüri grubuna doğru arttığı görülmektedir. Kontrol ve mikroalbuminüri grupları arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p<0.05$).

Çalışmaya katılan tüm vakalar için NGAL (ug/gcr) sonuçları kadınlar ve erkekler şeklinde karşılaştırıldığında kadınlarda (15.94 ± 12.95) erkeklerden (5.88 ± 5.71) daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$).

Tüm vakalar temel alınarak çeşitli parametreler arasındaki ilişkiler incelediğinde; KIM-1 (ug/gcr) ile albumin (alb/cr) değerleri arasında ($R = 0.258$, $p<0.05$) ve KIM-1 (ug/gcr) ile HbA1C arasında zayıf pozitif bir korelasyon bulunmuştur ($R = 0.379$, $p<0.01$).

	Kontrol Grubu	Normoalbuminüri	Mikroalbuminüri
Sayı	22	31	18
Yaş	50±10	56±11	55±12
Cinsiyet (erkek/kadın)	11/11	17/14	11/7
Diyabet Süresi	–	5±3	7±4
Sistolik Kan Basıncı, mmHg	120±13	134±14	133±19
Diastolik Kan Basıncı, mmHg	79±10	81±6	79±10
HbA1c, %	5.6±0.27	7.1±1.34	7.9±2.1
Serum Açlık Glukozu, mg/dl	95±5	143±38	155±63
Serum Kreatinin, mg/dl	0.73±0.12	0.79±0.2	0.79±0.17
GFR, mL/dk/1.73 m ²	98±14	95±25	95±20
Albuminüri mg/g kreatinin	8.62±4.3	14.4±6.9	94±74

Tablo 3: Kesitsel randomize çalışma; kontrol grubu ve albuminüri seviyelerine göre listelenmiş tip 2 diyabet hasta grubunun klinik verileri.

	Kontrol Grubu	Normoalbuminüri	Mikroalbuminüri
NGAL, ug/ gr kreatinin	9.42(1.74-41.54)	4.62(1.42-53.84)	3.42(0.829-29.5) ^a
KIM-1, ng/gr kr	068±484	1373±1040	1747±647 ^a

Tablo 4: Kesitsel randomize çalışma; kontrol grubu ve albuminüri seviyelerine göre listelenmiş tip 2 diyabet hasta grubunun tübüler marker düzeyleri.

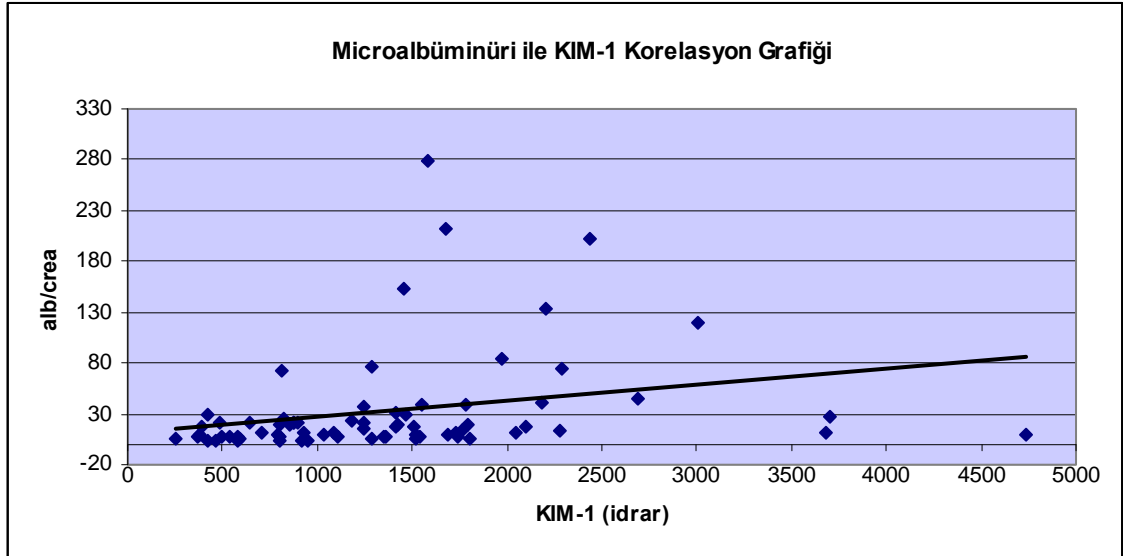
İstatistiksel karşılaştırma: ^a p < 0.05 vs. kontrols

Tek değişkenli korelasyon katsayısı

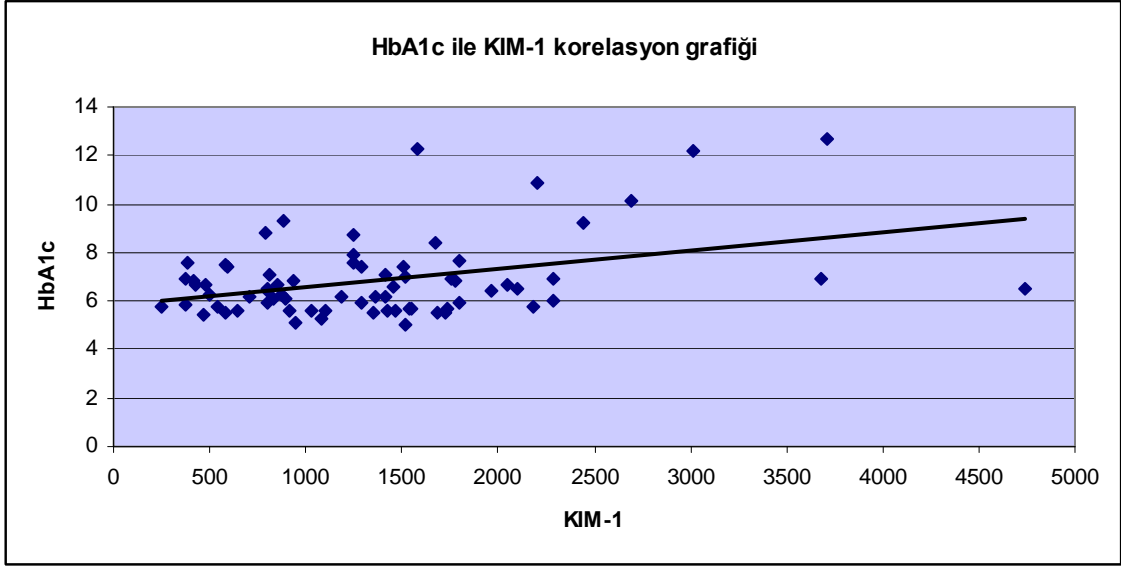
Değişkenler	NGAL	KIM-1
eGFR	0.159	1.0 ^c
alb/crea	-0.222	0.258 ^a
Serum kreatinin	-0.389 ^b	-0.795
NGAL	-	0.085
KIM-1	0.085	-

^a p < 0.05, ^b p < 0.01, ^c p < 0.001.

Tablo 5: Tip 2 diyabette tübüler markırların korelasyonu



Şekil 8: Mikroalbuminüri ile KIM-1 korelasyon grafiği



Şekil 9: HbA1c ve KIM-1 korelasyon grafiği

5. TARTIŞMA

Diyabetik nefropati diyabetin en sık görülen mikrovasküler komplikasyonlarından biridir ve son dönem böbrek yetmezliğine yol açan nedenlerin başında gelmektedir (5, 24, 25). Diyabetin sıklığında son 10 yılda görülen hızlı artış, diyaliz tedavisine ve böbrek transplantasyonuna ihtiyaç duyan hastaların sayısının da her geçen gün artacağını göstermektedir. Bu nedenle diyabetik nefropatinin gelişiminin mümkün olan en erken dönemde tanınması ve gerekli tedavilerle hastalığın önlenmesi ya da en azından gelişiminin yavaşlatılması son derece önemlidir. Nefropati gelişiminde her iki temel diabet tipi ortak bir patogeneze sahip olsa da, tip 2 diabet hastalarının uzun süre tanı almadan kalabilecekleri ve tanı konduğunda nefropati gelişiminin çoktan başlamış olma olasılığı, bu hastalarda erken tanının önemini daha da arttırmaktadır (12, 32, 39).

Diyabetik nefropatinin tanısı için altın standart böbrek biyopsisidir. Ancak bu invazif yöntemin bir tarama testi olarak kullanılmayacağı ve sık tekrarlanamayacağı açıktır (26). Bu durumda idrarda mikroalbuminüri saptanması elimizde en değerli seçenek olarak kalmaktadır. Ancak bazı hastalarda nefropati gelişimine paralel olarak mikroalbumin düzeyinde bir atılımın olmaması ve idrar albumin düzeyleri ile GFR değerleri arasında sıkı bir ilişkinin kurulamaması bu testin yeterince sensitif bir gösterge olmadığını ortaya koymaktadır (88). Ayrıca yaşlı ve hipertansiyonlu hastalarda testin spesifitesi oldukça düşüktür. (12) Yine bazı hastalarda nefropatinin ilerlemesine rağmen hastaların mikroalbuminüriden makroalbuminüriye ilerlememeleri, hatta normoalbumüriye geri dönmeleri nefropati gelişiminin izlenmesinde de testin yetersiz kaldığını göstermektedir (89).

Öte yandan idrar albumin ölçümü glomerüler hasarın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Ancak son yıllarda diyabetik nefropati gelişimde tübüler hasarın da en az glomerüler hasar kadar hatta ondan önce ve daha etkili olduğuna dair çalışmalar vardır. (90, 91). Glukozun tübülüsler için insulinden bağımsız olarak girişi dolayısıyla tubulusların kronik hiperglisemiden daha fazla etkilendiği ve yüksek glukozu cevap olarak salınan sitokinler gibi çeşitli bileşiklerin burada yapısal değişikliklere ve fonksiyon

bozukluklarına neden olduğu gösterilmiştir (18, 35). Albuminürisi olan diabetlilerin üçte birinde buna neden olabilecek bir glomerul hasarının gösterilememesi de bu tezi desteklemektedir (52, 54). Bu durum son yıllarda diyabetik nefropati belirlenmesi için daha sensitif ve spesifik markırların bulunması yönündeki çabaları arttırmıştır.

NGAL lipokalinler ailesinin üyesi olan 25 kD luk bir proteindir ve matriks metalloproteinaz-9 ile kovalent bağlı olarak bulunur (38, 41, 46). En yüksek oranda nötrofillerin spesifik granüllerinde bulunmasına rağmen, böbrek, trakea, akciğerler, mide ve kolonda da düşük seviyelerde eksprese edilir (60, 61, 62). NGAL'ın böbrekteki fizyolojik rolünün mezenkimal hücrelerin proksimal tübüler epitel hücrelerine dönüşümünü sağlayarak tamir mekanizmalarına katkıda bulunmak olduğu, birikiminin ise böbrek hasarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (92). NGAL mRNA ekspresyonunun obez diyabetik farelerde ve obez insanlarda yüksek bulunması bu proteinin insulin resistansı ve hiperglisemi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (93). KIM-1 ise bir transmembran proteindir. Özellikle böbrek proksimal tübülüslerinde bulunur ve tübüler hücre hasarının patogenezinde ve tamirinde rol oynadığı düşünülmektedir. (94, 83, 84, 85, 86)

Son yıllarda yapılan çok sayıda deneysel ve klinik çalışmada NGAL ve KIM-1'in iskemi-reperfüzyon, kontrast madde uygulaması ve kardiopulmoner bypass sonrası gelişen akut böbrek hasarını serum kreatinininden daha önce saptamaları umut verici bulunmuştur (83, 84, 85, 86). Akut hasarlarındaki bu yararlarından sonra bu markırların diyabet gibi kronik bir süreçte de böbrek hasarını albumin ve GFR gibi parametrelerden daha erken ve spesifik olarak gösterip gösteremeyeceği farklı tip ve yaş guruplarını içeren bazı çalışmalarda incelenmiştir.

Öncü sayılabilecek bu çalışmalardan ortak bir kanıya sahip olmak mümkün olmadığı ve konunun daha fazla araştırmaya gerek duyması nedeniyle bizde NGAL ve KIM düzeylerini normoalbuminurik ve mikroalbuminurik diabetlilerle sağlıklı kontrollerde inceledik. Öncelikle mikroalbuminüriden daha önceki dönemde bir artış olup olmadığını belirlemek için normoalbuminurik grubumuzu daha fazla sayıda kişiden (n=31) oluşturduk, mikroalbuminürisi olan 18 ve sağlıklı kontrol olarak 22 kişiyi çalışmaya kattık.

Çalışmamızda ilginç olarak NGAL'ı kontrol grubunda normoalbuminüri ve mikroalbuminüri grubuna göre daha yüksek bulduk. Bu fark kontrol ve mikroalbuminüri arasında istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). Bizim sonuçlarımız bu konuda daha önce yapılan benzer çalışmalardan Bolignano ve ark. (65) ile Nielsen ve ark.'nın (60) çalışmaları ile uyumlu değildi. Her iki araştırmacıda NGAL değerlerinin diabet hastalarında kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ve diabetli gruplar arasında normoalbuminüri grubundan makroalbuminüri grubuna doğru istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığını söylemektedir. Bizim çalışmamızla bu çalışmaların sonuçları arasındaki farklılığın nedenlerini araştırdığımızda, Bolignano'nun çalışmasında tüm hastaların (her ne kadar makroalbuminüri grubu dışında GFR'leri iyi korunmuş olsa bile) tedavide insülin kullanımına kadar ilerlemiş diabetliler oldukları görülmektedir. Bizim çalışmamızda ise bu derecede kan şekeri regülasyonu bozulmuş ve insülin kullanan hasta yoktur. Bu çalışmanın bir diğer önemli farkı ise çalışmaya alınan hastaların ortalama diabet sürelerinin, normoalbuminüri grubundan makroalbuminüri grubuna doğru uzamak üzere genellikle 12-18 yıl arasında olmasıdır. Bizim çalışmamızda bu süre 5-7 yıl arasındadır. Nielsen ve arkadaşları ise çalışmalarını tip 1 diabetiklerde yapmıştır. Bu hastalarda diabet süresi ortalama 34-37 yıl arasındadır ve GFR değerleri ortalama 70 civarlarındadır. Bizim hastalarımızda ise GFR ortalaması 90'ın üzerindedir.

Literatürdeki bir başka çalışmada ise Yi-Hua Yang ve arkadaşları (76) kontrol grubu kullanmadan hastalık süreleri yukarıda söz edilen diğer çalışmalara göre -bizim çalışmamıza daha benzer olarak- nispeten daha kısa olan (normoalbuminürik grup ortalama 9 yıl; mikro ve makroalbuminürik grup 11-12 yıl) tip 2 diabetli hastalarda çalışmışlar ve makroalbuminüri grubu ile normoalbuminüri ve mikroalbuminüri grupları arasında fark bulmalarına rağmen, normoalbuminüri grubu ile mikroalbuminüri grubu arasında anlamlı fark bulmamışlardır. Bu çalışmada da Nielsen'in çalışmasına benzer şekilde, özellikle yüksek NGAL değerleri elde edilen makroalbuminüri grubunda GFR değerleri oldukça düşüktür (ortalama 53.5) ve NGAL ile GRF arasında güçlü ($p<0,001$) bir negatif korelasyon vardır. Bu çalışmada diyabet süresi diğer çalışmalara göre nispeten daha kısadır (8-11 yıl).

Bizim ve yukarıda sözü edilen çalışmaların sonuçları ile çalışılan grupların diğer klinik özellikleri birlikte değerlendirildiğinde mikroalbuminüri gelişmeden önceki dönemde idrarda NGAL artışı için en önemli faktörlerin, diabet süresinin uzunluğu, hastalığın ciddiyeti (insulin kullanımına ihtiyaç duyup duymaması vs), GFR değerlerinin düşüklüğü olduğu şeklinde bir varsayımda bulunulabilir. Çünkü bizim çalışmamıza nispeten benzer ve belirtilen faktörler açısından daha ılımlı hastalarla yapılan çalışmalarda NGAL düzeylerinde gruplar arasındaki farklar daha azdır veya yoktur. Oysa daha uzun süreli ve kan şekeri düzeyleri daha zor düzenlenebilen ve mikroalbuminüri gelişsin veya gelişmesin GFR düzeylerine göre böbrek hasarları belirgin olan gruplarda farklar büyüktür. Bu durum NGAL'ın yüksek düzeylere çıkması için tubulus hücrelerinin hiperglisemiye daha uzun süre maruz kalması gerektiğini düşündürmektedir. Ancak tartışmanın başında söylendiği gibi bazı hastalarda GFR bozulduğu halde mikroalbuminürinin gelişmemesi ve bazı hastalarda ise normoalbuminüriye geri dönmesi, NGAL in özellikle bu tip hastalarda yararlı bir marker olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Bizim NGAL sonuçlarımızda iki önemli durum dikkatimizi çekmiştir. Bunlardan birincisi idrardaki NGAL konsantrasyonların bireyler arasında oldukça geniş dağılımı göstermesidir. Yukarıda söz edilen çalışmalarda (bazılarında sonuçlar kreatinin başına verilmemesine rağmen) ise bu kadar yüksek düzeyde bir dağılım görülmemektedir. Geniş dağılım nedeniyle tesadüfen dikkatimizi çeken ikinci özellik ise kadınlara ait örneklerde daha yüksek değerlerin saptanmasıdır. Kadınlarla erkekler arasındaki bu farklılığın nedenleri anlamak için literatürde araştırma yaptığımızda, Kathryn ve arkadaşlarının (72) 122 tip 1 diabetli ile 55 sağlıklı kontrolü karşılaştırdıkları çalışmalarında kreatinin başına elde edilen sonuçların, dağılım genişliği ve kadın düzeylerinin yüksekliği açısından bizim çalışmamıza benzer olduğunu gördük. Bu bilgi ışığında çalışmamızdaki NGAL sonuçlarını kadın ve erkek olarak gruplandırıp, tekrar analiz ettiğimizde aralarında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark olduğunu gördük ($<0,001$). Ayrıca sadece kadınlar ve sadece erkekler olarak gruplarımızı karşılaştırdığımızda kontrol grubu ile mikroalbumin grubu arasında bulduğumuz, diğer çalışmaların tersi yönündeki fark ortadan kalktı. Bu da bize grup içi kadın erkek dağılımlarının eşit olmamasının bu sonucu doğurduğunu düşündürdü. (kontrol grubunda kadın erkek eşit olmasına rağmen diğer gruplarda erkekler daha fazladır). Kathryn ve

arkadaşları da idrar NGAL düzeylerini tüm diabetlilerde kontrol grubuna göre yüksek bulunmasına rağmen normoalbuminüri ve makroalbuminüri hastalar arasında bir fark bulamamıştır. Bu çalışmada da hastaların diabet süreleri, gruplar arasında daha belirgin farklar bulan çalışmalara göre nispeten kısadır (ort 9,7 yıl). Yine bu çalışmada idrar NGAL düzeyleri ile hastaların HbA1c ve açlık kan glukozları arasında pozitif korelasyon bulunması ve idrar NGAL'inin diabet süresi uzun hastalarda daha yüksek düzeyde olması yukarıda belirttiğimiz gibi hipergliseminin derecesinin ve diabet süresinin NGAL düzeylerindeki artış için önemli olduğu varsayımımızı desteklemektedir

Nefropati de idrar da NGAL atılımı için ileri sürülen mekanizmalar çeşitlidir. tübülüslerden salınım (96), hasarlanmış tübülüslerden geri emilimin azalması (97), ve kan şekeri yüksekliğine ve proinflamatuvar durumuna bağlı olarak böbrek dışı nedenlerle serumda artışı ve bunun idrara yansması (65, 98). Son iki mekanizmanın göstergesi olabilecek hastada idrarla birlikte serum NGAL'ının ölçümünü içeren çalışmalarda elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Bazı araştırmacılar serum NGAL'ını idrar NGAL'ı ve idrar albumini ile (mikroalbuminüri ve makroalbuminüri düzeyinde) korele bulurken (65), bazıları aksine normoalbuminüri grubundan mikroalbumin grubuna doğru hızlı bir azalma bulmuşlar ve bu sonuca göre erken diabetik nefropati döneminde serum NGAL'nin idrar NGAL'inden daha yararlı olduğunu söylemişlerdir (99). Bu çalışmada da diabet süresinin önceki çalışmaya göre oldukça kısa olması (<5 yıl) ve diabet açısından daha ılımlı hastalar olması dikkat çekicidir. Bu araştırmacının sonucu ayrıca idrar NGAL'ının kaynağının basitçe serumdaki artışın filtre olması olmadığı gerçeğini de ortaya koymaktadır.

Bizim çalışmamızda KIM-1 değerleri normoalbuminüri grubunda kontrol grubundan, mikroalbuminüri grubunda normoalbuminüri grubundan yüksektir. Ancak istatistiksel olarak sadece kontrol grubu ile mikroalbuminüri grubu arasında anlamlı fark vardır. Bizim normoalbuminüri grubumuzun kan şekeri regülasyonunun nispeten iyi ve diabet sürelerinin kısa olması belki bu artışın sadece nefropati gösteren gruba kısıtlı kalmasına neden olmuş olabilir. Nielsen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise KIM-1 değerleri diabetiklerde kontrol grubuna karşı istatistiksel olarak yüksek bulunmasına rağmen, diabetik gruplar arasında fark bulunamamıştır. Vaida ve

arkadaşlarının yaptıkları (95) iki yıllık bir izleme çalışmasında ise albuminürüde görülen gerilemeye KIM'in de düşüşle eşlik ettiği gösterilmiştir.

Wen-Jin Fu ve arkadaşları (100) yukarıda bahsedildiği gibi diyabet süresi beş yıldan az hastalarda yaptıkları çalışmada NGAL'ı kontrol grubuna göre yüksek bulmalarına rağmen KIM-1 de fark bulamamışlar ve bunu NGAL'in hem glomerular hasara bağlı olarak azalmış klirensine hem de hasarlı tübülüslerden salınımına, oysa KIM'in daha yüksek molekül ağırlığına bağlı olarak sadece hasarlı tübüllerden salınımına bağlamışlardır.

Çalışmamızda NGAL ve KIM-1 ile hastalara ait çeşitli klinik diabet parametreleri arasında ilişkilere baktığımızda KIM-1 ile idrar albumini ve Hb A1c (<0,05) düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu görülmektedir.

Sonuçlarımızı diğer çalışmalarla birlikte irdelediğimizde özellikle kısa süreli ve nispeten ılımlı düzeyde diabeti olan hastalarda KIM-1 in bir erken nefropati göstergesi olarak daha umut verici bir parametre olduğu, NGAL'in ise daha ileri düzey hastalarda daha erken bir tanı aracı olarak değerlendirilebileceği ön görüşünde bulunulabilir. Ancak bu öngörü yoruma çok açıktır. Çünkü çalışmamızın ilk planda gruptaki (özellikle kadın ve erkekleri ayrı ayrı değerlendirmek istediğimizdeki) hasta sayılarının azlığı olmak üzere pek çok kısıtlamaları vardır.

Sonuç olarak önceden söylendiği gibi şu anda literatürdeki bu konudaki tüm çalışmalar farklı diabet tiplerinde, hastalık evresinde ve hastalık sürelerindeki gruplarda yapılan öncü çalışmalardır. Elimizdeki veriler bu markırlardan birinin rutin klinik kullanımını desteklemek yeterlilikte değildir. Bir taraftan geniş hasta gruplarında içeren çok merkezli yeni çalışmalarla, diğer taraftan aynı hastalarda, hastalık gelişimi ile bu parametrelerdeki değişimleri izlemeye olanak sağlayan uzun süreli çalışmalarla bir sonuca varmak mümkün olabilir. Ancak diabetik nefropatinin erken tanısı son derece önemli olduğundan, geniş kapsamlı ve uzun süreli bu çalışmaların sonuçları elde edilene kadar NGAL ve KIM'in ve bu konuda araştırılmakta olan diğer parametrelerin albuminle birlikte bir panel halinde çalışılması ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi yararlı olacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care volume 33 supplement 1. january 2010
2. Yavuz İşçen. Peribacası Kapodokya Kültür ve Tanıtım Dergisi, mayıs 2010.
3. <http://www.news-medical.net/health/History-of-Diabetes.aspx>
4. <http://www.diabetescareplan.net/the-history-and-origins-of-diabetes-mellitus.html/>
5. Ana M. Blazquez-Medela, Jose M. Lopez-Novoa, Carlos Martinez-Salgado. Mechanisms Involved in the Genesis of Diabetic Nephropathy. Current Diabetes Reviews. Volume 6, Issue 2, pp.68-87 (20), March 2010.
6. Oskar Minkowski (1858-1931) Designers of experimental diabetes. Jama 169: 754, 1967.
7. Minkowski O. Die Lehre vom pancreas- Diabetes in ihrer geschichtlichen Entwicklung. Munch Med Wschr 1929; 76: 311-5
8. Von Mehring J, Minkowski O. Diabetes mellitus nach pancreas extirpation. Arch Exp Pathol Pharmacol 1890; 26: 371-87
9. Banting FC, Best CH. The internal secretion of the pancreas. Indian J Med Res 2007; 125(3): 251-66
10. Kimmelstiel P, Wilson C. Intercapillary lesions in the glomeruli of the kidney. Am Pathol 1936; 12(1): 83-98
11. Bell HJ, Best CH, Hairst RE. The effect of partial pancreatectomy on the concentration of insulin in the pancreatic remnant. J Physiol 1942; 101(1): 11-6
12. Fauci, Braunwald, Kasper, Hauser, Longo, Jameson, Loscalzo (editors-in chief). Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th Edition. Mc Graw Hall, 2008
13. Prof. Dr. İlhan Satman (Çalışma grubu adına) Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-II (TURDEP-II Çalışması). 13 Ekim 2010

14. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, David E. Bruns (editors). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry
15. ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, volume 34, supplement 1, january 2011
16. WHO. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its complications. Report of a WHO Consultation Geneva. 1999
17. DeFronzo R. A., Ferrannini E., Keen H., Zimmet P. (editors-in chief). International Textbook of Diabetes Mellitus. 3rd Edition. Vol. 1. John Wiley and Sons, Ltd., England 2005.
18. Hsueh WA, Moore L, Bryer-Ash M. Contemporary diagnosis and management of type 2 diabetes. 2nd Edition. Handbooks in Health Care Co., Pennsylvania, 2005.
19. ADA. Standarts of medical care in diabetes. Diabetes Care, volume 30, supplement 1, january 2007
20. http://www.merckmanuals.com/professional/endocrine_and_metabolic_disorders/diabetes_mellitus_and_disorders_of_carbohydrate_metabolism/diabetes_mellitus_dm.html
21. The expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, volume 25, supplement 1, january 2002
22. Donaghue KC, Chiarelli F, Trotta D, Allgrove J, Dahl-Jorgensen K. Microvascular and macrovascular complications associated with diabetes in children and adolescents. Pediatric Diabetes 10 (Suppl. 12): 195–203: 2009.
23. Caroline Jane Magri, Stephen Fava. The role of tubular injury in diabetic nephropathy. European Journal of Internal Medicine (20): pp. 551–555, 2009.
24. A.O. Phillips and R. Steadman. Diabetic nephropathy: The central role of renal proximal tubular cells in tubulointerstitial injury. Histology and Histopathology, 17: 247-252, 2002.
25. Piero Ruggenti and Giuseppe Remuzzi. Nephropathy of type 1 and type 2 diabetes: diverse pathophysiology, same treatment? Nephrology Dialysis Transplantation, 15(12): 1900-1902, 2000.

26. Barry M. Brenner. Brenner Rector's the Kidney. 7th Edition. Vol 2. Saunders, 2004.
27. M. Daroux, G. Prévost, H. Maillard-Lefebvre, C. Gaxatte, V. D. D' Agati, A. M. Schmidt, É. Boulanger. Advanced glycation end-products: Implications for diabetic and non-diabetic nephropathies. *Diabetes & Metabolism*, 36: pp. 1-10, 2010.
28. Scott C. Thomson, Volker Vallon and Roland C. Blantz. Kidney function in early diabetes: the tubular hypothesis of glomerular filtration. *Am J Physiol Renal Physiol*. vol. 286: pp. F8–F15, January 2004.
29. Zachary T. Bloomgarden, MD. Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care*, (vol. 31 – no. 4): pp. 823-827, April 2008.
30. Thijs W. Cohen Tervaert, Antien L. Mooyaart, Kerstin Amann, Arthur H. Cohen, H. Terence Cook, Cinthia B. Drachenberg, Franco Ferrario, Agnes B. Fogo, Mark Haas, Emile de Heer, Kensuke Joh, Laure H. Noël, Jai Radhakrishnan, Surya V. Seshan, __ Ingeborg M. Bajema, and Jan A. Bruijn, on behalf of the Renal Pathology Society. Pathologic Classification of Diabetic Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21: 556-563, 2010.
31. Defronzo R. A., Ferrannini E., Keen H., Zimmet P. (editors-in chief). *International Textbook of Diabetes Mellitus*. 3rd Edition. Vol. 2. John Wiley and Sons, Ltd., England 2005.
32. Pedro Romero-Aroca, Isabel Mendez-Marin, Marc Baget-Bernaldiz, Juan Fernandez-Ballart, Ester Santos-Blanco. Review of the Relationship between Renal and Retinal Microangiopathy in Diabetes Mellitus Patients. *Current Diabetes Reviews*, Volume 6, Issue 2, pp.88-101 (14), March 2010.
33. Enyioma N. Obineche and Abdu Adem. Update in Diabetic Nephropathy. *International Journal of Diabetes & Metabolism*, 13: 1-9, 2005.
34. Bancha Satirapoj MD. Review on Pathophysiology and Treatment of Diabetic Kidney Disease. *Journal of The Medical Association of Thailand*, 93 (Suppl. 6): pp. S228-S241, 2010.

35. Gábor L. Kovács. Diabetic Nephropathy. *The Journal of The International Federation of Clinical Chemistry And Laboratory Medicine*. eJIFCC 20/01 2009.
36. Enyu Imai, Hideaki Nakajima, and Jun-Ya Kaimori. Albumin turns on a vicious spiral of oxidative stress in renal proximal tubules. *Kidney International*, vol. 66: pp. 2085–2087, 2004.
37. 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.*, 25(8):1581, Aug 2010.
38. Kai M. Schmidt-Ott, Kiyoshi Mori, Jau Yi Li, Avtandil Kalandadze, David J. Cohen, Prasad Devarajan, and Jonathan Barasch. Dual Action of Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin. *Journal of the American Society of Nephrology* (18): 407–413, 2007.
39. ADA. Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care*, Vol 25, Supp 1, January 2002.
40. Amanda I. Adler, Richard J. Stevens, Sue E. Manley, Rudy W. Bilous, Carole A. Cull and Rury R. Holman on behalf of the UKPDS GROUP, Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney International*, vol. 63: pp. 225–232, 2003
41. Bao G, Clifton M, Hoette TM, Mori K, Deng SX, Qiu A, Viltard M, Williams D, Paragas N, Leete T, Kulkarni R, Li X, Lee B, Kalandadze A, Ratner AJ, Pizarro JC, Schmidt-Ott KM, Landry DW, Raymond KN, Strong RK, Barasch J. Iron traffics in circulation bound to a siderocalin (Ngal)-catechol complex. *Nat Chem Biol.* 6(8):602-9, 2010.
42. Mary A. Williamson, L. Michael Snyder (editors). *Wallach's Interpretation of Diagnostic Tests*. 9th edition. Wolter Kluwer Health, Lippincott Williams Wilkins, 2011
43. Williams G, Pickup JC (editors). *Handbook of diabetes*. 3rd edition. Blackwell Publishing, 2004
44. Nauta FL, Boertien WE, Bakker SJL, Goor HV, Oeveren WV, Jong PE, Bilo H, Gansevoort RT. Glomerular and Tubular Damage Markers Are Elevated in Patients With Diabetes care vol. 34 no. 4 975-98, 2011.

45. AS Levey et al; Am J Kidney Dis 39 (Suppl 1): S1, 2002
46. E. Moore, R. Bellomo, A. Nichol. Biomarkers of acute kidney injury in anesthesia, intensive care and major surgery: from the bench to clinical research to clinical practice. *Minerva Anestesiologica*, (vol. 76 – no. 6): pp. 425-440, June 2010.
47. Comper WD, Hilliard LM, Nikolic-Paterson DJ, Russo LM. Disease-dependent mechanisms of albuminuria. *Am J Renal Physiol* 295: F1589-F1600, 2008.
48. Osicka TM, Forbes JM, Thallas V, Brammar GC, Jerums G, Comper WD. Ramipril prevents microtubular changes in proximal tubules from streptozotocin diabetic rats. *Nephrology (Carlton)* 8(4):205-11, 2003.
49. Russo LM, Sandoval RM, Campos SB, Molitoris BA, Comper WD, Brown D. Impaired tubular uptake explains albuminuria in early diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 20(3):489-94, 2009.
50. *Diabetes* 48:595–602, 1999 Stretch-Induced Overproduction of Fibronectin in Mesangial Cells Is Mediated by the Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase Takeshi Ishida, Masakazu Haneda, Shiro Maeda, Daisuke Koya, and Ryuichi Kikkaw
51. Jarad G, Miner JH. Albuminuria, wherefore art thou? *J Am Soc Nephrol.* 20(3):455-7, 2009.
52. Michael Morcos, Ahmed A.R. Sayed, Angelika Bierhaus, Benito Yard, Rüdiger Waldherr, Wolfgang Merz, Ingrid Kloeting, Erwin Schleicher, Stefani Mentz, Randa F. Abd el Baki, Hans Tritschler, Michael Kasper, Vedat Schwenger, Andreas Hamann, Klaus A. Dugi, Anne-Marie Schmidt, David Stern, Reinhard Ziegler, Hans U. Haering, Martin Andrassy, Fokko van der Woude, and Peter P. Nawroth. Activation of Tubular Epithelial Cells in Diabetic Nephropathy. *Diabetes*, vol. 51: 3532–44, December 2002.
53. Richard E. Gilbert and Mark E. Cooper, The tubulointestitium in progressive diabetic kidney disease: More than an aftermath of glomerular injury ?. *Kidney International*, vol. 56 (1999), pp. 1627-1637.
54. Dalla Vestra M, Saller A, Bortoloso E, Mauer M, Fioretto P. Structural involvement in type 1 and type 2 diabetic nephropathy. *Diabetes Metab.* 26 Suppl 4:8-14 2000 Jul.

55. Vallon V. The proximal tubule in the pathophysiology of the diabetic kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 300(5):R1009-22, 2011.
56. Thomas MC, Burns WC, Cooper ME. Tubular changes in early diabetic nephropathy *Advances in Chronic Kidney Disease*, 12(2): pp. 177-86, Apr. 2005.
57. J. M. Forbes , K. Fukami , M. E. Cooper. Diabetic Nephropathy: Where Hemodynamics Meets Metabolism. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*; 00: pp. 1 – 16, 2007.
58. R. W. Schrier and H. Holzgreve. Übersicht Hemodynamic factors in the pathogenesis of diabetic nephropathy *Journal of Molecular Medicine* Volume 66, Number 8, 1988.
59. http://www2.warwick.ac.uk/fac/med/research/csri/proteindamage/researchinterest/diabeticcomplications/polyol_activation/
60. Nielsen SE, Schjoedt KJ, Astrup AS, Tarnow L, Lajer M, Hansen PR, Parving HH and Rossing P. Original Article: Complications 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. *Diabetic Medicine*, (27): pp. 1144–1150, 2010.
61. 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 International*, 79(10): pp. 1113-8, 2011.
62. Jaya Mishra, Qing Ma, Anne Prada, Mark Mitsnefes, Kamyar Zahedi, Jun Yang, Jonathan Barasch, and Prasad Devarajan. Identification of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Novel Early Urinary Biomarker for Ischemic Renal Injury. *J Am Soc Nephrol.* 14: 2534–2543, 2003.
63. Prasad Devarajan. Review: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: A troponin-like biomarker for human acute kidney injury. *Nephrology*, 15: pp. 419–428, 2010.
64. Neal Paragas, Andong Qiu, Qingyin Zhang, Benjamin Samstein, Shi-Xian Deng, Kai M. Schmidt-Ott, Melanie Viltard, Wenqiang Yu, Catherine S. Forster, Gangli Gong, Yidong Liu, Ritwij Kulkarni, Kiyoshi Mori, Avtandil Kalandadze, Adam J. Ratner, Prasad Devarajan, Donald W. Landry, Vivette D’Agati, Chyuan-Sheng Lin, and Jonathan Barasch. The Ngal Reporter Mouse Detects

the Response of the Kidney to Injury in Real Time. *Nature Medicine (Nat Med.)*: 17(2): 216–222, Febr. 2011.

65. 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.*, 32(2): pp. 91-98, 2009.
66. Ha Na Yang Chang Soo Boo Myung-Gyu Kim Sang-Kyung Jo Won Yong Cho Hyoung-Kyu Kim. Urine Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin: An Independent Predictor of Adverse Outcomes in Acute Kidney Injury. *American Journal of Nephrology*, 31: pp. 501–509, 2010.
67. Prabhu A, Sujatha DI, Ninan B, Vijayalakshmi MA. Neutrophil gelatinase associated lipocalin as a biomarker for acute kidney injury in patients undergoing coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Ann Vasc Surg.* 24(4):525-31, 2010.
68. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet* 13-19;364(9447):1814-27, 2004.
69. Isaac E. Hall, Sri G. Yarlagadda, Steven G. Coca, Zhu Wang, Mona Doshi, Prasad Devarajan, Won K. Han, Richard J. Marcus, and Chirag R. Parikh. IL-18 and Urinary NGAL Predict Dialysis and Graft Recovery after Kidney Transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol.*, (vol. 21): pp. 189–197, 2010.
70. Wenqian Huo, Keqin Zhang, Zhilin Nie, Qiansheng Li, Fengshuo Jin. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel kidney-specific injury molecule playing potential double-edged functions in kidney injury. *Transplantation Reviews*, 24: pp. 143–146, 2010.
71. Valérie Pennemans, Liesbeth M. De Winter, Christel Faes, Emmy Van Kerkhove, Carmen Reynders, Jean-Michel Rigo, Quirine Swennen, Joris Penders. Effect of pH on the stability of kidney injury molecule 1 (KIM-1) and on the accuracy of its measurement in human urine. *Clinica Chimica Acta* 411: pp. 2083–2086, 2010.
72. Kathryn M. Thrailkill, Cynthia S. Moreau, and Gael E. Cockrell. Disease and gender-specific dysregulation of NGAL and MMP-9 in type 1 diabetes mellitus. *Endocrine* 37(2): 336–343, 2010.

73. Huang Y, Don-Wauchope AC. The clinical utility of kidney injury molecule-1 in the prediction, diagnosis and prognosis of acute kidney injury: a systematic review. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 10(4): pp. 260-71, Aug. 2011.
74. Femke Waanders, Mirjan M van Timmeren, Coen A. Stegeman, Stephan JL Bakker and Harry van Goor. Kidney injury molecule-1 in renal disease. *Journal of Pathology*, 220: pp. 7–16, 2010.
75. Won K. Han, Veronique Bailly, Rekha Abichandani, Ravi Thadhani, and Joseph V. Bonventre. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney International*, vol. 62, pp. 237–244, 2002.
76. Yi-Hua Yang, Xiao-Jie He, Shen-Ren Chen, Ling Wang, En-Min Li and Li-Yan Xu. Changes of serum and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in type-2 diabetic patients with nephropathy: one year observational follow-up study. *Endocr*. 36: 45-51, 2009.
77. Birn H, Christensen EI. Renal albumin absorption in physiology and pathology. *Kidney Int.*, 69: 440–449, 2006.
78. Mitsnefes MM, Kathman TS, Mishra J, et al: Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 22: 101–108, 2007.
79. Suzuki M, Wiers KM, Klein-Gitelman MS, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of disease activity in pediatric lupus nephritis. *Pediatr Nephrol* 23: 403–412, 2008.
80. Ding H, He Y, Li K, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an early biomarker for renal tubulointerstitial injury in IgA nephropath. *Clin Immunol*, 123: 227–234, 2007.
81. Bolignano D, Coppolino G, Campo S, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is associated with severity of renal disease in proteinuric patients. *Nephrol Dial Transplant* 23: 414–416, 2008.
82. Bolignano D, Coppolino G, Campo S, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Am J Nephrol* 27: 373–378, 2007.

83. T. Ichimura, J.V. Bonventre, V. Bailly et al.. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule Endocrine containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J. Biol. Chem.* 273, 4135–4142 (1998)
84. T. Ichimura, C.C. Hung, S.A. Yang et al.. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 286, F552–F563, 2004.
85. E.W. Kuehn, K.M. Park, S. Somlo et al.. Kidney injury molecule-1 expression in murine polycystic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 283, F1326–F1336, 2002.
86. V.S. Vaidya, V. Ramirez, T. Ichimura et al.. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 290(2), F517–F529, 2006.
87. F. Waanders, M.M. van Timmeren, C.A. Stegeman et al.. Kidney injury molecule-1 in renal disease. *J. Pathol.* 220, 7–16, 2010.
88. G. Jerums, S. Panagiotopoulos, E. Premaratne et al., Integrating albuminuria and GFR in the assessment of diabetic nephropathy. *Nat. Rev. Nephrol.* 5, 397–406, 2009.
89. V.S. Vaidya, M.A. Niewczas, L.H. Ficociello et al., Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes is associated with lower levels of urinary tubular injury biomarkers, kidney injury molecule-1 and N-acetyl-b-D-glucosaminidase. *Kidney Int.* 79, 464–470, 2011.
90. Parving H-H, Mauer M, Ritz E. Diabetic nephropathy. In: Brenner BM, ed. *Brenner & Rector's The Kidney*. 8th edition. Boston: WB Saunders, 1265–1298, 2008.
91. Gilbert RE, Cooper ME. The tubulointerstitium in progressive diabetic kidney disease: more than an aftermath of glomerular injury? *Kidney Int.*, 56: 1627–1637, 1999.
92. J. Yang, D. Goetz, J.-Y. Li et al.. An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol. Cell* 10: 1045-1056, 2002.

93. Y. Wang, K.S.L. Lam, E.W. Kraegen et al.. Lipocalin-2 Is an Inflammatory Marker Closely Associated with Obesity, Insulin Resistance, and Hyperglycemia in Humans. *Clin. Chem.* 53 (1): 34-41, 2007.
94. F. Waanders, M.M. van Timmeren, C.A. Stegeman et al., Kidney injury molecule-1 in renal disease. *J. Pathol.* 220, 7–16, 2010.
95. Vaidya VS, Niewczas M, Ficociello LH, Collings FB, Walker W, Harram JH et al. Markers of tubular injury, NAG and KIM-1, are predictors for remission and progression of microalbuminuria in type 1 diabetes. *American Society of Nephrology* 2008.
96. Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Barasch J, Devarajan P. Neutrophil gelatinase- associated lipocalin: a novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity. *Am J Nephrol* 2004; 24: 307–315.
97. Kuwabara T, Mori K, Mukoyama M, Kasahara M, Yokoi H, Saito Y et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. *Kidney Int* 75: 285–294, 2009.
98. Elneihoum AM, Falke P, Hedblad B, Lindgarde F, Ohlsson K. Leukocyte activation in atherosclerosis: correlation with risk factors. *Atherosclerosis* 131: 79–84, 1997.
99. G. Jerums, S. Panagiotopoulos, E. Premaratne et al., Integrating albuminuria and GFR in the assessment of diabetic nephropathy. *Nat. Rev. Nephrol.* 5, 397–406, 2009
100. Wen-jin Fu, Shi-long Xiong, Yao-gao Fang, Shu Wen, Mei-lian Chen, Rentang Deng, Lei Zheng, Shao-bo Wang, Lan-fen Pen, Qian Wang. Urinary tubular biomarkers in short-term type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study. *Endocrine* DOI: 10.1007/s12020-011-9509-7, 2011.