

**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**TIP II DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA  
DİYABETİK NEFROPATİ PROGRESYONU İLE  
RENALAZ GEN POLİMORFİZMİNİN VE KAN  
DÜZEYİNİN İLİŞKİSİ**

**Dr. Mürsel KARADAVUT**

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR**

**2017**



**T.C.**  
**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**TIP II DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARDA  
DİYABETİK NEFROPATİ PROGRESYONU İLE  
RENALAZ GEN POLİMORFİZMİNİN VE KAN  
DÜZEYİNİN İLİŞKİSİ**

**Dr. Mürsel KARADAVUT**

**İç Hastalıkları Anabilim Dalı**  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŐMANI**  
**Doç. Dr. Gökhan TEMİZ**

**ESKİŞEHİR**

**2017**

**TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI****T.C.****ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ****TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,**

Dr. Mürsel KARADAVUT' a ait "Tip II Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Diyabetik Nefropati Progresyonu ile Renalaz Gen Polimorfizminin ve Kan Düzeyinin İlişkisi" isimli çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: .. / .. / ....

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Gökhan TEMİZ

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye

Prof. Dr. Timuçin KAŞİFOĞLU

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye

Doç. Dr. Tolga YILDIRIM

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu' nun .....Tarih ve .....Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Alparslan BİRDANE

Rektör Yardımcısı

Dekan Vekili

## TEŐEKKÖR

Eskişehir Osmangazi Üniwersitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı' nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim ve tez çalıőmam süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, değerli fikirleri ile çalışmamıza yön veren, tezimin hazırlanmasında her aőamada yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam ve tez danıőmanım Sayın Doç. Dr. Gökhan TEMİZ'e, katkılarından dolayı Prof. Dr. Timuçin KAŐIFOėLU'na ve Doç. Dr. Tolga YILDIRIM'a, istatistiksel çalıőmalarımnda yardımcı olan Arő. Gör. Muzaffer BİLGİN'e teşekkür ederim.



## ÖZET

**Karadavut, M. Tip II Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Diyabetik Nefropati Progresyonu ile Renalaz Gen Polimorfizminin ve Kan Düzeyinin İlişkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2017.** Diyabetik nefropati son dönem böbrek yetmezliğinin en sık nedenidir ve sıklığı giderek artmaktadır. Renalaz temelde böbrek tarafından üretilen, katekolaminleri metabolize eden hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, kronik böbrek hastalığı başta olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkisi saptanan yeni keşfedilmiş bir FAD bağımlı amin oksidazdır. Çalışmanın amacı; tip 2 diyabetik hastalarda nefropati progresyonu ile renalaz enziminin polimorfizm ve kan düzeyi ile ilişkisini araştırmaktır. Bu amaçla çalışmamızda 3 renalaz gen polimorfizmini (rs2576178, rs10887800 ve rs2296545) ve serum renalaz düzeyini normoalbuminürik olan 74, mikroalbuminürik olan 28 ve makroalbuminurik-aşikâr nefropatik olan 52 hasta olmak üzere toplamda 154 tip 2 diyabet hastasında, 48 diyabeti olmayıp böbrek hastalığı olan hastada ve 50 sağlıklı gönüllüde inceledik. Çalışma sonucunda renalaz gen polimorfizmleri için gruplar arasında genotip dağılımı, alel frekansı ve tahmini rölatif risk açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). Gruplar arasında serum renalaz düzeyi açısından fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Renalaz polimorfizmleri ile sistolik ve diyastolik kan basıncı arasında fark saptanmadı. Serum renalaz düzeyleri ile, serum renalaz düzeyine etki edebilecek klinik ve biyokimyasal faktörler dışlandığında, renalaz polimorfizmleri arasında ilişki saptanmadı. Serum renalaz düzeyleri ile sistolik ve diyastolik kan basıncı da dahil olmak üzere değerlendirilen klinik ve biyokimyasal parametreler arasında ilişki saptanmadı. Sonuç olarak tip 2 diyabetli hastalarda, hastaların tansiyon arteriyel değerleri normotansif iken, diyabetik nefropati progresyonu ile renalaz gen polimorfizmleri ve serum renalaz düzeyi arasında ilişki saptanmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Renalaz, Diyabetik Nefropati, SDBY, polimorfizm

## ABSTRACT

**Karadavut, M. The Relationship Between Renalase Gene Polymorphism and its Blood Levels, and Progression of Diabetic Nephropathy in Patients with Type II Diabetes Mellitus. Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine Medical Specialty Thesis in Department of Internal Medicine, Eskisehir 2017.**

Diabetic nephropathy is the most common cause of end-stage renal failure and its frequency is increasing. Renalase is a newly discovered FAD-dependent amine oxidase that is mainly associated with kidney diseases such as hypertension, cardiovascular diseases, and chronic kidney disease, which metabolise catecholamines. Purpose of the study is to investigate the relationship between nephropathy progression and renalase enzyme polymorphism and blood levels in type II diabetic patients. For this purpose, we studied three renalase gene polymorphisms (rs2576178, rs10887800 and rs2296545) and observed patients with serum renalase levels of normoalbuminuric (74), microalbuminuric (28) and macroalbuminuric-apparent nephropathic (52) with a total of 154 type II diabetic patients, 48 non-diabetic patients with kidney diseases, and 50 healthy volunteers. As a result of the study, no statistically significant differences detected in renalase gene polymorphisms ( $p > 0,05$ ) between the groups in terms of genotype distribution, allele frequency and estimated relative risk. No difference detected between the groups in terms of serum renalase levels ( $p > 0,05$ ). Also, no difference detected between renalase polymorphisms and systolic and diastolic blood pressures. No correlations detected between renalase polymorphisms when serum renalase levels and clinical and biochemical factors affecting serum renalase levels were excluded. There was no correlation between serum renalase levels and clinical and biochemical parameters including systolic and diastolic blood pressures. In conclusion, in patients with type II diabetes, no correlations detected between diabetic nephropathy progression and renalase gene polymorphisms and serum renalase levels when blood pressure arterial values were normotensive.

**Key Words:** Renalase, Diabetic Nephropathy, ESRD, polymorphism

## İÇİNDEKİLER

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI  | iii          |
| TEŞEKKÜR   | iv           |
| ÖZET   | v            |
| ABSTRACT   | vi           |
| İÇİNDEKİLER  | vii          |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ   | x            |
| ŞEKİLLER DİZİNİ  | xiv          |
| TABLOLAR DİZİNİ  | xvi          |
| 1.GİRİŞ  | 1            |
| 2. GENEL BİLGİLER  | 4            |
| 2.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı ve Önemi  | 4            |
| 2.2. Diabetes Mellitus'un Tarihçesi  | 4            |
| 2.3. Diabetes Mellitus'un Epidemiyolojisi  | 6            |
| 2.4. Diabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri  | 7            |
| 2.5. Prediyabet  | 8            |
| 2.6. Diabetes Mellitus'un Semptomları  | 9            |
| 2.7. Diabetes Mellitus'un Risk Faktörleri  | 10           |
| 2.8. Diabetes Mellitus'un Etiyolojik Sınıflaması   | 10           |
| 2.9. Tip 2 Diabetes Mellitus   | 12           |
| 2.9.1. Fizyopatoloji_İnsülin Direnci_Bozulmuş İnsülin Sekresyonu-Artmış Hepatik<br>Glukoz ve Lipid Üretimi | 13           |
| 2.9.2. Klinik ve Özellikleri   | 13           |
| 2.10. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları  | 14           |
| 2.11. Diyabetik Nefropati  | 16           |
| 2.11.1. Diyabetik Nefropatinin Tanımı ve Önemi   | 16           |
| 2.11.2. Diyabetik Nefropatinin Tarihçesi   | 17           |
| 2.11.3. Diyabetik Nefropatinin Epidemiyolojisi   | 17           |
| 2.11.4. Diyabetik Nefropatinin Histopatolojisi   | 18           |



|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| 2.11.5. Diyabetik Nefropatinin Patofizyolojisi  | 20           |
| 2.11.6. Diyabetik Nefropatinin Risk Faktörleri  | 28           |
| 2.11.7. Diyabetik Nefropatinin Kliniği ve Evrelemesi  | 28           |
| 2.11.8. Diyabetik Nefropatide Tanı ve Tarama  | 31           |
| 2.11.9. Diyabetik Nefropatiden Korunma ve Nefropatinin Tedavisi                                 | 34           |
| 2.12. Renalaz Proteini ve Geni  | 36           |
| 2.12.1. Renalazın Enzimatik Özellikleri   | 39           |
| 2.12.2. Renalaz ve Renal Dopaminerjik Sistem  | 39           |
| 2.12.3. Bir Sitokin Olarak Renalazın Enzim Aktivitesinden Bağımsız<br>Fonksiyonları             | 41           |
| 2.12.4. Renalaz Tek Nükleotid Polimorfizmleri İle İlişkilendirilmiş<br>Hastalıklar              | 43           |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM   | 48           |
| 3.1. Etik Kurul Onayı Bilgileri   | 48           |
| 3.2. Klinik Çalışmalar  | 48           |
| 3.2.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması   | 48           |
| 3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması  | 50           |
| 3.3. Laboratuvar Çalışmaları  | 50           |
| 3.3.1. Kandan Genomik DNA İzolasyonu  | 50           |
| 3.3.2. İzole Edilen Genomik DNA'nın Spektrofotometrik Ölçümü                                    | 51           |
| 3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)  | 51           |
| 3.3.4. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizm (RFLP)   | 60           |
| 3.3.5. Enzim-bağlı immunosorbent analiz (ELİSA)   | 61           |
| 3.4. İstatistiksel Değerlendirme  | 64           |
| 4. BULGULAR   | 65           |
| 4.1. PZR Sonuçları  | 65           |
| 4.1.1. <i>RNLS</i> rs2576178 (-451 G/A) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir<br>Reaksiyonu Sonuçları | 65           |

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| 4.1.2. <i>RNLS</i> rs10887800 (A/G) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları                             | 65           |
| 4.1.3. <i>RNLS</i> rs2296545 (+111 C/G) (Glu37Asp) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları              | 66           |
| 4.2. RFLP Sonuçları  | 67           |
| 4.2.1. <i>RNLS</i> rs2576178 Polimorfizminin Belirlenmesi İçin Gerçekleştirilen Restriksiyon Enzim Kesimi Sonuçları  | 67           |
| 4.2.2. <i>RNLS</i> rs10887800 Polimorfizminin Belirlenmesi İçin Gerçekleştirilen Restriksiyon Enzim Kesimi Sonuçları | 68           |
| 4.2.3. <i>RNLS</i> rs2296545 Polimorfizminin Belirlenmesi İçin Gerçekleştirilen Restriksiyon Enzim Kesimi Sonuçları  | 69           |
| 5. TARTIŞMA  | 89           |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER   | 98           |
| KAYNAKLAR  | 100          |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|        |  |
|--------|--|
| ACE    | Anjiotensin Converting Enzim                             |
| ADA    | American Diabetes Association (Amerikan Diyabet Birliği) |
| AGE    | İleri Glikasyon Son Ürünleri                             |
| AKI    | Akut böbrek hasarını                                     |
| Ang II | Anjiotensin II   |
| ARB    | Anjiotensin Reseptör Blokörü                             |
| BGT    | Bozulmuş Glukoz Toleransı                                |
| BAG    | Bozulmuş Açlık Glukozu                                   |
| BUN    | Kan üre azotu  |
| Ca     | Kalsiyum   |
| CRP    | C-reaktif protein  |
| CTGF   | Connective tissue growth factor                          |
| DCCT   | Diabetes Control and Complications Trial                 |
| DGS    | Diyabetik glomerüloskleroz                               |
| DKA    | Diyabetik Ketoasidoz                                     |
| DM     | Diabetes mellitus  |
| DN     | Diyabetik nefropati                                      |
| EASD   | Avrupa Diyabet Çalışma Birliği                           |
| ECM    | Ekstrasellüler Matris                                    |
| eGFR   | Glomerular filtrasyon hızı                               |
| EIA    | Enzim immunoassay  |
| ELİSA  | Enzim-bağlı immunosorbent analiz                         |
| ET-1   | Endotelin 1  |

|       |   |
|-------|---|
| Feo   | Feokromasitoma                          |
| FGF   | Fibroblast growth factor                |
| FS    | Fraksiyonel kısalma                     |
| g     | Gram                                    |
| GDM   | Gestasyonel diabetes mellitus           |
| GFH   | Glomerüler filtrasyon hızı              |
| GN    | Glomerülonefrit                         |
| Hb    | Hemoglobin                              |
| HbA1c | Hemoglobin A1c                          |
| HDL   | Yüksek dansiteli lipoprotein            |
| HHD   | Hiperosmolor Hiperglisemik Durum        |
| HPLC  | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi |
| HT    | Hipertansiyon                           |
| IDF   | Uluslararası Diyabet Federasyonu        |
| IL-1  | İnterlökin-1                            |
| IL-6  | İnterlökin-6                            |
| IL-18 | İnterlökin-18                           |
| KAH   | Koroner arter hastalığı                 |
| KBH   | Kronik Böbrek Hastalığı                 |
| KVH   | Kardiyovasküler hastalık                |
| LA    | Laktik Asidoz                           |
| LDL   | Düşük dansiteli lipoprotein             |
| mg    | Miligram                                |
| mg/dl | Miligram/desilitre                      |
| ml/dk | Mililitre/dakika                        |

|        |  |
|--------|--|
| mmHg   | Milimetre civa                             |
| mm/sa  | Milimetre/saat                             |
| NADP   | Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat      |
| ng/ml  | Nanogram/mililitre                         |
| NYHA   | Newyork kalp cemiyeti                      |
| nmol/L | Nanomol/litre                              |
| MAO    | Monoamin oksidaz                           |
| M.Ö.   | Milattan önce                              |
| NO     | Nitrik oksit                               |
| OGTT   | Oral glukoz tolerans testi                 |
| OSAS   | Obstrüktif uyku apne sendromu              |
| P      | Fosfor                                     |
| PAH    | Periferik arter hastalığı                  |
| PAS    | Period acid-Schiff                         |
| PCR    | Polimerize zincir reaksiyonu               |
| PDGF   | Platelet-derived growth factor             |
| PKBH   | Polikistik böbrek hastalığı                |
| PKC    | Protein kinaz C                            |
| PKOS   | Polikistik Over Sendromu                   |
| PTH    | Parathormon                                |
| RAA    | Renin anjiotensin aldosteron               |
| RAAS   | Renin anjiotensin aldosteron sistemi       |
| RFLP   | Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi |
| Rnls   | Renalaz                                    |
| ROS    | Reaktif oksijen ürünleri                   |

|                |                                    |
|----------------|------------------------------------|
| SDBY           | Son dönem böbrek yetmezliği        |
| SVO            | Serebrovasküler olay               |
| TGF- $\beta$ 1 | Transforming Growth Factor Beta 1  |
| Th1            | T helper-1                         |
| TNF- $\alpha$  | Tümör nekrozis faktör-alfa         |
| TNP            | Tek nükleotid polimorfizmleri      |
| TPR            | Tübüler fosfor reabsorpsiyonu      |
| VA             | Vücut ağırlığı                     |
| VAP-1          | Vasküler adezyon protein 1         |
| VEGF           | Vasküler endotelial büyüme faktörü |
| VKI            | Vücut kitle indeksi                |
| VYA            | Vücut Yüzey Alanı                  |
| WHO            | Dünya Sağlık Örgütü                |
| $\mu$ g        | Mikrogram                          |
| $\mu$ g/mg     | Mikrogram/miligram                 |

## ŞEKİLLER

|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| 2.1. Glukoz Homeostazisi, Diabetes Mellitus Etiyolojik Sınıflaması ve Glisemi Evreleri  | 12           |
| 2.2. Diyabetik Nefropatinin Patogenezinde Metabolik ve Hemodinamik Faktörlerin Etkileşimi   | 21           |
| 2.3. Diyabetik Nefropati Patogenezi   | 27           |
| 2.4. Diyabetik Nefropatinin Zaman İçerisinde Gelişimi   | 29           |
| 2.5. Erişkin Diyabetli Hastalarda Böbrek Hasarının Değerlendirilmesi  | 33           |
| 2.6. Renalaz İzofomları   | 37           |
| 2.7. Renalazın Üç Boyutlu Yapısı  | 38           |
| 2.8. Renalazın Sitokin Olarak Çalışma Modeli  | 41           |
| 3.1. <i>RNLS</i> Geninin Rs2576178 (-451 G/A) Polimorfik Bölgesini İçeren Nükleotit Dizisi  | 53           |
| 3.2. <i>RNLS</i> Geninin Rs10887800 (A/G) Polimorfik Bölgesini İçeren Nükleotit Dizisi  | 55           |
| 3.3. <i>RNLS</i> Geninin Rs2296545 (+111 C/G) Polimorfik Bölgesini İçeren Nükleotit Dizisi  | 57           |
| 4.1. <i>RNLS</i> Geninin 5' UTR'ında -451. Pozisyonundaki Polimorfizmi (G/A) İçeren 525 Bç'lik Bölgenin Amplifikasyon Sonrası Agaroz Jel Görüntüsü                                | 65           |
| 4.2. <i>RNLS</i> Geninin İntron 6 Bölgesine Ait Rs10887800 (A/G) Polimorfizmini İçeren 554 Bç'lik Bölgenin Amplifikasyon Sonrası Agaroz Jel Görüntüsü                             | 66           |
| 4.3. <i>RNLS</i> Geninin 111. Pozisyonunda Yerleşim Gösteren Rs2296545 (+111 C/G) (Glu37Asp) Polimorfizmini İçeren 209 Bç'lik Bölgenin Amplifikasyon Sonrası Agaroz Jel Görüntüsü | 66           |

**Sayfa**

|   |    |
|---|----|
| 4.4. <i>RNLS</i> (-451 G/A) Polimorfizmi <i>Msp I</i> Kesim Sonuçlarının Agaroz Jelde Gösterimi       | 67 |
| 4.5. <i>RNLS</i> Rs10887800 (A/G) Polimorfizmi <i>Pst I</i> Kesim Sonuçlarının Agaroz Jelde Gösterimi | 68 |
| 4.6. <i>RNLS</i> (+ 111 C/G) Polimorfizmi <i>Bbvci</i> Kesim Sonuçlarının Agaroz Jelde Gösterimi      | 69 |





**TABLULAR**

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| 2.1. Diabetes Mellitus ve Glukoz Metabolizmasının Diğer Bozukluklarında Tanı Kriterleri                    | 8            |
| 2.2. Diabetes Mellitus Semptomları   | 9            |
| 2.3. Diabetes Mellitus' un Etiyolojik Sınıflaması  | 11           |
| 2.4. Diyabete Bağlı Komplikasyonlar  | 15           |
| 2.5. Diyabetik Nefropati Patolojik Lezyonları  | 19           |
| 2.6. Diyabetik Nefropati İçin Risk Faktörleri  | 28           |
| 2.7. GFR Hesaplamasında Kullanılan Formüller   | 32           |
| 3.1. Gönüllülerin Araştırmaya Dâhil Edilme Kriterleri  | 49           |
| 3.2. Gönüllülerin Araştırmaya Dâhil Edilmeme Kriterleri  | 49           |
| 3.3. <i>RNLS</i> Geninin Rs2576178 (-451 G/A) Polimorfik Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primerler | 53           |
| 3.4. İlgili Bölgenin Çoğaltımını Gerçekleştirmek Üzere Belirlenen Reaksiyon Bileşen Miktarları             | 54           |
| 3.5. <i>RNLS</i> Geninin Rs10887800 (A/G) Polimorfik Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primerler     | 55           |
| 3.6. İlgili Bölgenin Çoğaltımını Gerçekleştirmek Üzere Belirlenen Reaksiyon Bileşen Miktarları             | 56           |
| 3.7. <i>RNLS</i> Geninin Rs2296545 (+111 C/G) Polimorfik Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primerler | 57           |
| 3.8. İlgili Bölgenin Çoğaltımını Gerçekleştirmek Üzere Belirlenen Reaksiyon Bileşen Miktarları             | 58           |
| 3.9. 20 X TBE Tamponu Ve DNA Yükleme Tamponu Hazırlık Protokolü  | 59           |

|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| 3.10. Kullanılan Restriksiyon Enzimleri ve Özellikleri  | 60           |
| 3.11. RFLP Analizi İçin Hazırlanan Reaksiyon Bileşen Miktarları   | 61           |
| 3.12. Standart Dilüsyonların Hazırlanması   | 62           |
| 3.13. ELİSA İçin Hazırlanan Plate Özellikleri   | 63           |
| 4.1. Çalışmaya Alınan Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri   | 71           |
| 4.2. Çalışmaya Alınan Hastaların Biyokimyasal Parametreleri   | 72           |
| 4.3. Çalışmaya Alınan Hastaların Gruplar Arası Serum Renalaz Düzeyi                                       | 73           |
| 4.4. Rs2576178 Polimorfizminin Gruplar Arası Dağılımı   | 78           |
| 4.5. Rs10887800 Polimorfizminin Gruplar Arası Dağılımı  | 79           |
| 4.6. Rs2296545 Polimorfizminin Gruplar Arası Dağılımı   | 80           |
| 4.7. Serum Renalaz Düzeyi İle Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Kolerasyon Analizi                        | 81           |
| 4.8. Serum Renalaz Düzeyi İle Cinsiyet ve Diyabetik Retinopati İlişkisi                                   | 82           |
| 4.9. Rs2576178 Polimorfizminin Genotiplerine Göre Klinik ve Biyokimyasal Parametreler Arasındaki İlişki   | 83           |
| 4.10. Rs10887800 Polimorfizminin Genotiplerine Göre Klinik ve Biyokimyasal Parametreler Arasındaki İlişki | 85           |
| 4.11. Rs2296545 Polimorfizminin Genotiplerine Göre Klinik ve Biyokimyasal Parametreler Arasındaki İlişki  | 87           |

## 1.GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik bir metabolizma hastalığıdır (1). 2015 verilerine göre dünyada yaklaşık 415 milyon kişide DM olduğu bilinmektedir. 2040'da bu rakamın 642 milyon olması beklenmektedir (2). 1980'de %4,7 olan DM'nin, 18 yaş üstü yetişkinlerdeki dünya prevalansı 2014 yılında %8,5'a çıkmıştır (3). Türkiye'de ise 1999 yılında TURDEP-I'e göre %6,7 olan DM prevalansının TURDEP-II'ye göre Türk erişkin toplumunda %13,7'ye ulaştığı görülmüştür (4). Gerek tüm dünyada gerekse de ülkemizde yapılan prevalans çalışmalarında Tip 2 DM'nin beklenenden çok hızlı arttığı görülmüş ve 2025 yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün öngördüğü rakamlara 20 yıl daha erken ulaşıldığı ve bu durumun pandemi seviyesinde olduğu kararına varılmıştır.

Tip 2 DM, pankreastan insülin sekresyonundaki azalma ve hücre reseptör defekti nedeniyle, insülinin insan vücudunda efektif şekilde kullanılamamasına bağlı olarak ortaya çıkan DM tipidir. Tip 2 DM, dünyadaki diyabet vakalarının %90'ını oluşturmaktadır (5).

DM'deki temelde kronik hipergliseminin neden olduğu metabolik düzensizlik birçok organ sisteminde patofizyolojik değişikliklere neden olarak fonksiyon kaybı ile sonuçlanan yıkıcı etkilere neden olur. DM'nin kronik komplikasyonları vasküler ve non-vasküler komplikasyonlar olarak ayrılabilir. Vasküler komplikasyonlar da mikrovasküler (nefropati, retinopati, nöropati) ve makrovasküler [(koroner arter hastalığı (KAH), periferik vasküler hastalık (PAH), serebrovasküler hastalık(SVO)] olarak ayrılmaktadır (6).

Tip 2 DM prevalansındaki artış, beraberinde diyabetin mikro ve makrovasküler komplikasyonlarındaki artışı da getirmiştir. Bu mikrovasküler komplikasyonlar içerisinde diyabetik nefropati ise retinopati ve nöropatiye göre diyabetik hastanın yaşam kalitesini bozduğu ve daha önemlisi yaşam süresini kısalttığı için diğerlerinden daha fazla çekinilen bir komplikasyondur.

Diyabetik nefropati, çoğunlukla intraglomerüler arteriollerin hasarına bağlı olarak progresif böbrek fonksiyonlarının bozulması ile ortaya çıkan klinik tablodur. (7). Diyabetik nefropati patogenezinde hemodinamik, genetik, metabolik faktörler ve fibrozis gelişimi ile ilişkili çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin rolü ileri sürülmüştür (8).

DM'li hastaların yaklaşık %40'ında Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) gelişmektedir (9). Diyabetik nefropati, dünyada ve ülkemizde son dönem böbrek yetersizliği (SDBY) nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır. ABD'de düzenli diyaliz tedavisine giren hastaların %37,9'unu DM'ye bağlı SDBY oluşturmaktadır ve yeni gelişen böbrek yetmezliği olgularının %44,9'u DM'ye bağlıdır (10). Ülkemizde de KBH sıklığı %15,7 ve KBH olgularında diyabet sıklığı %32,4 olarak saptanmış olup (11), diyaliz hastaları arasında DM %33,83 ile SDBY nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır. Yeni hemodiyalize girmeye başlayan hastalarda da altta yatan etyolojik nedenlere göre dağılımda DM %36,45 ile en sık nedendir (12).

Tip 2 DM'li hastalarda tanıdan 20 yıl sonra diyabetik nefropati görülme insidansı %25 oranında olmaktadır. Diyabetik nefropatiye sahip hastaların %20 kadarı da 10 yıl içinde progresif renal yetmezliğe sahip olup, son dönem böbrek yetmezliğine ilerlemektedir (13). Türkiye'de yaklaşık 7.5 milyon KBH vakası mevcut olup; bunların 60.000 kadarı SDBY'ye sahiptir (11).

Renalaz, ilk defa 2005 yılında Yale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı'nda görevli Xu ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olan, esas olarak böbrek tarafından ve daha az düzeylerde ise kalp, iskelet kası ve ince barsaklardan salgılanan bir enzimdir (14, 15). Sekresyonu temel olarak renal fonksiyonlar, renal perfüzyon ve katekolamin düzeyleri ile düzenlenmektedir. İnaktif olarak sentezlenerek dolaşıma verilen renalaz, katekolaminleri metabolize ederek kan basıncını ve kalbin fonksiyonunu düzenler. Bu nedenle de kardiyovasküler hastalıklar ve kronik böbrek hastalıkları ile yakından ilişkilidir (16).

Yapılan çalışmalar sonucunda renalaz tek nükleotid polimorfizmleri (rs2576178 ve rs2296545) ile esansiyel hipertansiyon (HT), koroner hastalıklar, kardiyak fonksiyonlar, kardiyak iskemi, sol ventrikül kitle ve fonksiyonları arasında (17-19); tek nükleotid polimorfizmi (rs10887800) ile inme riski arasında (19); serum

renalaz düzeyleri ile sistolik ve diyastolik kan basıncı, serum BUN ve kreatinin düzeyleri, eGFR, insülin rezistansı, serum katekolamin düzeyleri, serum ürik asit düzeyleri, KBH evresi arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. (17, 19, 20).

Tip 2 DM'ye sahip hastalarda renalaz gen polimorfizmi ve kan düzeyi ile nefropati progresyonu arasındaki ilişkiyi irdeleyen herhangi bir yayın rapor edilmemiştir. Bazı Tip 2 DM'li hastalarda nefropati progresyonu hızlı olmakta iken, bazılarında progresyon yavaştır. Biz Tip 2 DM'li hastalarda renalazın serum katekolamin düzeyleri, sistemik kan basıncı, kardiyak fonksiyonları da etkileyerek nefropati progresyonunda rol oynayabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda literatür taramalarından elde edilen bilgiye göre, renalaz geninin fonksiyonel bölgelerinde yer aldığı varsayılan tek nükleotid polimorfizmleri (rs2576178, rs2296545, rs10887800) ve renalaz kan düzeyini, diyabetik hastalarda ve kontrol gruplarında inceleyerek; önemli bir morbidite, mortalite ve yüksek sağlık gideri sebebi olan diyabetik nefropatide, nefropati progresyonu ile renalaz enziminin polimorfizmi ve kan düzeyi ile ilişkisinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diabetes Mellitus'un Tanımı ve Önemi

Diabetes mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülin etkisindeki defektler nedeniyle organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik bir metabolizma hastalığıdır (1).

DM'de ki temelde kronik hipergliseminin neden olduğu metabolik düzensizlik, birçok organ sisteminde patofizyolojik değişikliklere neden olarak fonksiyon kaybı ile sonuçlanan yıkıcı etkilere neden olur (6).

DM, dünya çapında artan insidansı, akut ve kronik komplikasyonları (retinal, renal, nöral, kardiyak ve vasküler) ile ciddi morbidite ve mortalite nedenidir. DM, bir yandan yüksek mortalite ve morbidite hızı, diğer yandan yüksek tedavi harcamaları ve ortaya çıkardığı iş gücü kaybı nedeni ile hem hastaya hem de topluma büyük yük getirmesinden dolayı önemli bir sağlık sorunudur (21).

Artan insidansı ile muhtemelen gelecekte de en önemli morbitide ve mortalite nedeni olmaya devam edecektir (6).

### 2.2. Diabetes Mellitus'un Tarihçesi

Çok eski zamanlardan beri diyabetik semptomları olan 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). Diabet dia- yani "ayrı" ya da "boydan boya" ön eki ve bainein yani "yürümek" ya da "ayakta durmak" fiilinin birleştirilmesiyle oluşturulmuş eski Yunanca (diabaínein) kelimesinden türetilmiştir. Diabētēs kelimesi ise "bacaklarını ayırarak yürüyen" ya da daha spesifik olarak kullanıldığında "pergel gibi ya da sifon" anlamlarına gelmektedir. Kapodokyalı Areteaus çok idrar yapan ve kilo kaybeden insanları sifonlu fiçıya benzeterek hastalığa 'Diabetes' adını vermiştir (22).

1675 yılında Thomas Willis idrardaki şekerli tada atıf yaparak “diabetes” sözcüğüne latince bal anlamına gelen “mellitus” sözcüğünü eklemiştir (23). İdrarın tatlı olması, Eski Yunan, Çin, Mısır, Hint ve Pers uygarlıkları tarafından da farkedilmiştir. Dünya literatüründe Eber Papirüsü M.Ö.1500’de yazıldığı ortaya çıkan diyabet semptomlarının tanımlandığı ilk örneklerden en iyisi olarak belirtilmiştir (24).

Hintli bir doktor olan Sushruta (M.Ö. 6.yy) diyabete “tatlı idrarlı hastalık” anlamına gelen “medhumeha” ismini vermiş, diyabeti şişmanlık ve hareketsiz yaşam biçimi (sedanter) ile ilişkilendirmiş ve hastalarına tedavi için egzersiz yapmalarını önermiştir (25).

İbn-i Sina (980-1037) El-Kanun fi’-Tıbb adlı eserinde, diyabette oldukça ayrıntılı şekilde bahsetmiş ve hastalığı aşırı iştah artışı ve cinsel işlevlerin azalması şeklinde tanımlamış ve idrarın tatlı olmasından da bahsetmiştir. Ondan önceki Aretaeus gibi, İbn-i Sina’da birincil ve ikincil diyabetleri tanımlamıştır. Ayrıca ilk kez diyabetik gangreni tanımlamıştır. İbn-i Sina diyabeti idrardaki glukoz miktarını belirgin şekilde azaltan ve hala bazı hekimlerce kullanılması önerilmekte olan acı bakla, çemen otu ve bir tür zerdeçal tohumunun karışımı ile tedavi etmiştir (26).

1776 yılında, Matthew Dobson idrarın tatlı olmasının diyabet hastalarının kanlarındaki ya da idrarlarındaki bir tür aşırı şeker yüzünden oluştuğunu kanıtlamıştır (27). 1815’de Chevreul, idrardaki bu şekerin “glukoz” olduğunu açıklamış, 19. yüzyılda Claude-Bernard da karaciğerde glikojen olarak depolandığını tespit etmiştir.

Her ne kadar diyabet Antik Çağ’dan bu yana biliniyor ve hastalığın tedavisi için yararlı olan çeşitli yöntemler Orta Çağ’dan bu yana kullanılıyor olsa da, hastalığın patogenezi ancak 1900’lü yıllarda, deneysel olarak anlaşılabilmiştir (28).

1889 yılında, Joseph von Mehring ve Oskar Minkowski, pankreasını çıkarttıkları köpeğin diyabetik hastalarda görülen semptomların aynısını göstermesi ile pankreas- diyabet ilişkisini ilk ortaya koyan araştırmacılar olmuştur (29).

1910 yılında, Sir Edward Albert Sharpey-Schafer diyabet hastalarında normalde pankreasın ürettiği tek bir kimyasal maddenin eksik olduğunu ileri sürmüştür.

ve bu maddeye Latince “ada” anlamına gelen “insula” kelimesinden türeterek insülin adını vermiştir (28).

İnsülinin gerçekten var olduğu ilk kez 1921 yılında, Frederick Grant Banting ve Charles Herbert Best tarafından keşfedilmiştir. Aynı araştırmacılar sadece bir yıl sonra Toronto Üniversitesindeki çalışma arkadaşlarının da yardımı ile domuz pankreasından insülin hormonunu saflaştırmayı başarmışlar ve tedavi için insülin kullanımı ve ilk hasta tedavisi ilk kez 1922 yılında gerçekleştirilmiştir (30).

1942 yılında, oral antidiyabetik sülfonilüreler bulunmuş ve insülin korkusu olan hastalar için bir tedavi seçeneği olmuştur. 1950’lerin sonlarında biguanidler tip 2 diyabet tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. 1980’li yıllarda; biguanid, alfa-glikozidaz inhibitörleri yaygın kullanılmaya başlanmıştır. 1990’lı yıllarda tiazolidindionlar, 2005’li yıllarda ise GLP-1 analogları ve DPP-IV inhibitörleri tanıtılmıştır (28, 31).

### **2.3. Diabetes Mellitus’un Epidemiyolojisi**

Tüm dünyada son 20 yılda diyabet prevalansı dramatik bir şekilde artmıştır. 1985’te 30 milyon olan diyabetik hasta sayısı, 2013’te 382 milyona ulaşmıştır (6). 2015 yılı verilerine göre dünyada yaklaşık 415 milyon kişide DM, 318 milyon kişide bozulmuş glukoz toleransı olduğu bilinmektedir. 2040 yılında bu rakamın %55 oranında artarak 642 milyon olması beklenmektedir, ki bu da her 10 erişkinden 1’inin DM hastası olması demektir (2). 1980’de %4,7 olan DM’nin 18 yaş üstü yetişkinlerde dünya prevalansı, 2014 yılında %8,5’a çıkmıştır (3). Türkiye’de ise 1999 yılında TURDEP-1’e göre % 6,7 olan DM prevalansının, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Sağlık Bakanlığı’nın saha işbirliği ile 2010 yılında gerçekleştirilen ‘Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-II’ye (TURDEP-II) göre Türk erişkin toplumunda %13.7’ye ulaştığı, son 12 yılda %90 arttığı saptanmıştır (4). Gerek tüm dünyada gerek ülkemizde yapılan prevalans çalışmalarında tip 2 DM’nin beklenenden çok hızlı arttığı görülmüş ve 2025 yılında Dünya Sağlık Örgütü’nün öngördüğü rakamlara 20 yıl daha önceden ulaşıldığı ve bu durumun pandemi seviyesinde olduğu kararına varılmıştır. Hem tip 1 hem de tip 2 diyabet dünya çapında artış göstermekle birlikte, özellikle tip 2 diyabet



prevalansı daha hızlı artmaktadır. Bu artışın başlıca nedenleri nüfusun yaşlanması, kentleşmenin neden olduğu yaşam tarzı değişimi sonucu obezite ve fiziksel inaktivitenin artmasıdır (6).

#### **2.4. Diabetes Mellitus'un Tanı Kriterleri**

Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarının tanı ve sınıflamasında son 10 yılda değişiklikler yapılmıştır. Önce 1997 yılında, Amerikan Diyabet Birliği (ADA) yeni tanı ve sınıflama kriterlerini yayınlamış ve hemen ardından 1999'da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu kriterleri küçük revizyonlarla kabul etmiştir. Daha sonra 2003 yılında, bozulmuş açlık glukozu (IFG) tanısı için ADA tarafından küçük bir revizyon yapılmıştır. WHO ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından 2006 yılı sonlarında yayınlanan raporda ise, 1999 kriterlerinin korunması benimsenmiştir. Buna karşılık, ADA ve Avrupa Diyabet Çalışma Birliği (EASD) 2007 yılında yayınlanan son konsensus raporlarında ise, 2003 yılındaki düzenlemenin değişmemesi gerektiğini savunmaktadır. Diyabet ve glukoz metabolizmasının diğer bozuklukları için 2003 ve 2010 yılı revizyonlarını da kapsayan yeni tanı kriterleri Tablo 2.1'de görülmektedir (1).

**Tablo 2.1.** Diabetes Mellitus ve Glukoz Metabolizmasının Diğer Bozukluklarında Tanı Kriterleri (1)

|                            | Aşıkâr DM                        | İzole IFG <sup>(**)</sup> | İzole IGT     | IFG + IGT     | DM Riski Yüksek           |
|----------------------------|----------------------------------|---------------------------|---------------|---------------|---------------------------|
| APG (≥8 st açlıkta)        | ≥126 mg/dl                       | 100-125 mg/dl             | <100 mg/dl    | 100-125 mg/dl | -                         |
| OGTT 2.st PG (75 g glukoz) | ≥200 mg/dl                       | <140 mg/dl                | 140-199 mg/dl | 140-199 mg/dl | -                         |
| Rastgele PG                | ≥200 mg/dl + Diyabet semptomları | -                         | -             | -             | -                         |
| A1C <sup>(***)</sup>       | ≥%6.5 (≥48 mmol/mol)             | -                         | -             | -             | %5.7-6.4 (39-46 mmol/mol) |

[\*]Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçülür. 'Aşıkâr DM' tanısı için dört tanı kriterinden herhangi birisi yeterli iken 'İzole IFG', 'İzole IGT' ve 'IFG + IGT' için her iki kriterin bulunması şarttır. <sup>(\*\*)</sup>2006 yılı WHO/IDF Raporunda normal APG kesim noktasının 110 mg/dl ve IFG 110-125 mg/dl olarak korunması benimsenmiştir. <sup>(\*\*\*)</sup>Standardize metotlarla ölçülmelidir.

DM: Diabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, 2.st PG: 2. saat plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, A1C: Glikozillenmiş hemoglobin A<sub>1c</sub>, IFG: Bozulmuş açlık glukozu (impaired fasting glucose), IGT: Bozulmuş glukoz toleransı (impaired glucose tolerance), WHO: Dünya Sağlık Örgütü, IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu.

Diyabet tanısı dört yöntemden herhangi birisi ile konulabilir. Gözden geçirilmiş DM güncel tanı kriterleri, asemptomatik bireylerde DM tanısı için APG'yi en uygun ve güvenilir test olarak önermektedir (32). Çok ağır diyabet semptomlarının varlığı dışında, tanının daha sonra tercihen aynı (veya farklı bir) yöntemle doğrulanması gerekir. Başlangıçta iki farklı test yapılmış ve test sonuçları uyumsuz ise sonucu eşik değerin üstünde çıkan test tekrarlanmalı ve sonuç yine diyagnostik ise diyabet tanısı konulmalıdır (1). DM tanısı kişiler için tıbbi ve maddi açıdan önemli anlam taşır. Bu nedenle DM tanısı konulmadan önce bu kriterlerin tam olarak karşılanması gerekir (6).

## 2.5. Prediyabet

Normal glukoz toleransı ile aşıkâr diyabet arasındaki anormal glukoz homeostazisi 'prediyabet' olarak adlandırılır (33). Bazıları ise artmış diyabet riski veya intermediate hiperglisemi (WHO) tanımlamalarını kullanır (6). Bu süreç, normal kan glukoz değerleri ile diyabetik değerler arasında gri bölge olarak ifade edilebilir (33).

Prediyabet klinik parametrelerle ifade edildiğinde,

- Bozulmuş Açlık Glukozu (BAG): Açlık plazma glukoz seviyesinin 100-125 mg/dl saptanması
- Bozulmuş Glukoz Toleransı (BGT): 75 gr oral glukoz tolerans testi sonucu 2. saat plazma glukoz seviyesinin 140-199 mg/dl saptanması
- HbA1c'nin %5,7- 6.4 (39-46 mmol/mol) olması olarak tanımlanır.

Her üç grup da Tip 2 DM'ye progresyon açısından ve kardiyovasküler hastalık açısından artmış riske sahiptir. Bu sebeple diyabet önleme çalışmalarına öncelikli olarak dahil edilmelidir (1).

Prediyabete sahip hastalarda yıllık diyabet insidansı, izole bozulmuş glukoz toleransında %4-6, izole bozulmuş açlık glikozunda %6-9 ve her ikisinin birlikteliği durumunda %15-19 olarak saptanmıştır (34).

## 2.6. Diabetes Mellitus'un Semptomları

İnsülin salınımı, insülin etkisi veya bu faktörlerin her ikisinde de bozukluk olması sonucunda ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalık olan DM (7) , klasik ve daha az görülen birtakım semptomlara sahiptir. (Tablo 2.2) (1)

**Tablo 2.2.** Diabetes Mellitus Semptomları

| Klasik Semptomlar   | Daha Az Görülen Semptomlar  |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Poliüri</li> <li>• Polidipsi</li> <li>• Polifaji veya iştahsızlık</li> <li>• Halsizlik, çabuk yorulma</li> <li>• Ağız kuruluğu</li> <li>• Noktüri</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bulanık görme</li> <li>• Açıklanamayan kilo kaybı</li> <li>• İnatçı infeksiyonlar</li> <li>• Tekrarlayan mantar infeksiyonları</li> <li>• Kaşıntı</li> </ul> |

## 2.7. Diabetes Mellitus'un Risk Faktörleri

Aşağıda belirtilen risk faktörlerinden bir ya da birkaçı bulunan kişilerin diyabet açısından risk taşıdıkları bildirilmiştir (33).

- Aile öyküsü (1. derece akrabalarda)
- Kardiyovasküler hastalık (KVH) öyküsü
- Fazla kilo (Beden Kitle İndeksi (BKİ)  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>)
- Sedanter yaşam tarzı
- Daha önceden tanımlanmış BGT, BAG varlığı ve/veya HbA1c nin %5,7-6.4 olması
- Hipertansiyon ( $\geq 140/90$  mmHg veya hipertansiyon tedavisi)
- Trigliserid yüksekliği ( $\geq 250$  mg/dl) ve/veya HDL kolesterol düşüklüğü ( $\leq 35$  mg/dl)
- Gestasyonel diyabet öyküsü
- 4 kg ve üzerinde doğum yapanlar
- Polikistik Over Sendromu (PKOS)
- Etnik köken

## 2.8. Diabetes Mellitus'un Etiyolojik Sınıflaması

Tablo 2.3'de özetlenen diyabet sınıflamasında dört klinik tip yer almaktadır. Bunlardan üçü (tip 1 diyabet, tip 2 diyabet ve Gestasyonel diabetes mellitus) primer, diğeri (spesifik diyabet tipleri) ise sekonder diyabet formları olarak bilinmektedir.

**Tablo 2.3.** Diabetes Mellitus' un Etiyolojik Sınıflaması (1)

|   |   |   |
|---|---|---|
| 1. Tip 1 Diyabet (Genellik ile mutlak insülin noksanlığına sebep olan $\beta$ hücre yıkımı vardır.<br>A. İmmün aracılıklı (%90)<br>B. İdyopatik (%10)   |   |   |
| 2. Tip 2 diyabet (İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir)  |   |   |
| 3. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM)<br>Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet   |   |   |
| 4. Diğer spesifik diyabet tipleri   |   |   |
| A. $\beta$ -hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)<br>¥ 20. Kromozom, HNF-4a (MODY1)<br>¥ 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2)<br>¥ 12. Kromozom, HNF-1a (MODY3)<br>¥ 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4)<br>¥ 17. Kromozom, HNF-1b (MODY5)<br>¥ 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6)<br>¥ 2. Kromozom, KLF11 (MODY7)<br>¥ 9. Kromozom, CEL (MODY8)<br>¥ 7. Kromozom, PAX4 (MODY9)<br>¥ 11. Kromozom, INS (MODY10)<br>¥ 8. Kromozom, BLK (MODY11)<br>¥ Mitokondriyal DNA<br>¥ 11. Kromozom, Neonatal DM (Kir6.2, ABCC8, KCNJ11 mutasyonu)<br>¥ Diğerleri<br>B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler<br>¥ Leprechaunism<br>¥ Lipoatrofik diyabet<br>¥ Rabson-Mendenhall sendromu<br>¥ Tip A insülin direnci<br>¥ Diğerleri<br>C.Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları<br>¥ Fibrokalkülöz pankreatopati<br>¥ Hemokromatoz<br>¥ Kistik fibroz<br>¥ Neoplazi<br>¥ Pankreatit<br>¥ Travma/pankreatektomi<br>¥ Diğerleri | D.Endokrinopatiler<br>¥ Akromegali<br>¥ Aldosteronoma<br>¥ Cushing sendromu<br>¥ Feokromositoma<br>¥ Glukagonoma<br>¥ Hipertiroidi<br>¥ Somatostatinoma<br>¥ Diğerleri<br>E. İlaç veya kimyasal ajanlar<br>¥ Atipik anti-psikotikler<br>¥ Anti-viral ilaçlar<br>¥ b-adrenerjik agonistler<br>¥ Diazoksid<br>¥ Fenitoin<br>¥ Glukokortikoidler<br>¥ $\alpha$ -İnterferon<br>¥ Nikotinik asit<br>¥ Pentamidin<br>¥ Proteaz inhibitörleri<br>¥ Tiyazid grubu diüretikler<br>¥ Tiroid hormonu<br>¥ Vacor<br>¥ Statinler<br>¥ Diğerleri (Transplant rejeksiyonunu önlemek için kullanılan ilaçlar)<br>F. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları<br>¥ Anti insülin-reseptör antikorları<br>¥ "Stiff-man" sendromu<br>¥ Diğerleri | G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar<br>¥ Alström sendromu<br>¥ Down sendromu<br>¥ Friedreich tipi ataksi<br>¥ Huntington korea<br>¥ Klinefelter sendromu<br>¥ Laurence-Moon-Biedl sendromu<br>¥ Miyotonik distrofi<br>¥ Porfiria<br>¥ Prader-Willi sendromu<br>¥ Turner sendromu<br>¥ Wolfram (DIDMOAD) sendromu<br>¥ Diğerleri<br>H. Enfeksiyonlar<br>¥ Konjenital rubella<br>¥ Sitomegalovirus<br>¥ Koksaki B<br>¥ Diğerleri (adenovirus, kabakulak) |

[HNF-1a: Hepatosit nükleer faktör-1a, MODY1-10: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları 1-10 (maturity onset diabetes of the young 1-10), HNF-4a: Hepatosit nükleer faktör-4a, IPF-1: İnsülin promotör faktör-1, HNF-1b: Hepatosit nükleer faktör-1b, NeuroD1: Nörojenik diferansiyasyon 1, DNA: Deoksi-ribonükleik asit, HIV: İnsan immün eksiklik virusu, DIDMOAD sendr.: Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve sağırılık (deafness) ile seyreden sendrom (Wolfram sendromu), KLF11: Kruppel like factor 11, CEL: Carboxyl ester lipase (bile salt-dependent lipase), PAX4: Paired box4, ABCC8: ATP-binding cassette C8, KCNJ11: Potassium inwardly rectifying channel J11, INS: İnsülin]

DM, hastalığın başlama yaşı ve tedavi tipi gibi eski kriterlerin aksine, hiperglisemiye yol açan patojenik sürecin temeline dayanılarak sınıflandırılır. DM'nin iki büyük sınıfı tip 1 ve tip 2 diyabet olarak adlandırılır. Tip 1 DM otoimmün (%90) ya da non otoimmün (%10) beta hücre yıkımı sonucu gelişen tam ya da tama yakın insülin eksikliğinin sonucudur. Tip 2 DM, çeşitli derecelerde insülin direnci, bozulmuş insülin sekresyonu ve artmış glukoz üretimi ile karakterizedir. 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 (6).

Glukoz homeostazisi, DM etyolojik sınıflaması ve glisemi evreleri Şekil 2.1'de belirtilmiştir (35).

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

**Şekil 2.1.** Glukoz Homeostazisi, Diabetes Mellitus Etiyolojik Sınıflaması ve Glisemi Evreleri

## 2.9. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 DM, diyabetin en sık görülen formudur ve dünyadaki diyabet vakalarının %90'ını oluşturmaktadır (5). Tüm dünyada toplumun %5-10'u tip 2

diyabetlidir (36). Genetik, çevresel faktörler ve yaşam tarzı değişikliklerinin kompleks etkileşimi ile ortaya çıkar. Bozulmuş insülin sekresyonu, Artmış periferik insülin direnci, artmış hepatik glukoz üretimi ve anormal yağ – kas metabolizması ile karakterizedir (6).

### **2.9.1. Fiziopatoloji**

#### **İnsülin Direnci**

Tip 2 DM'nin başlıca patofizyolojik özelliği olan insülin direnci, insülinin normal konsantrasyonda olmasına rağmen, yeterli biyolojik yanıt oluşturamaması olarak tanımlanır (37) Hücre-reseptör defektine (post-reseptör düzeyde) bağlı olarak organizmanın ürettiği insülinin kullanımında ortaya çıkan sorunlar nedeniyle glukoz hücre içine absorbe edilip enerji olarak kullanılamaz (hücre içi hipoglisemi vardır). Periferik dokularda (özellikle kas ve yağ dokusunda) insülinin etkisi yetersizdir. Kas ve yağ hücresinde glukoz tutulumu (uptake) azalmıştır (1).

#### **Bozulmuş İnsülin Sekresyonu-Artmış Hepatik Glukoz ve Lipid Üretimi**

Pankreas, kan glukoz düzeyine yanıt olarak yeteri kadar insülin salgılayamaz. Karaciğerde glukoz yapımı aşırı derecede artmıştır. Hepatik glukoz yapımı artışından insülin sekresyon defekti ve sabaha karşı daha aktif olan kontr-insüliner sistem hormonları (kortizol, büyüme hormonu ve adrenalin; Dawn fenomeni) sorumludur. Genellikle insülin direnci tip 2 diyabetin öncesinden başlayarak uzun yıllar tabloya hâkim olmakta, insülin sekresyonunda ciddi azalma ise diyabetin ileri dönemlerinde veya araya giren hastalıklar sırasında ön plana geçmektedir (1).

### **2.9.2. Klinik ve Özellikleri**

Tip 2 diyabette güçlü bir genetik yatkınlık söz konusudur. Klasik mendeliyan kalıtım göstermeyerek ailesel belirgin yatkınlık gösterir. 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 genler henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ailede genetik yoğunluk arttıkça, sonraki nesillerde diyabet riski artar ve hastalık daha erken yaşlarda görülmeye başlar.

Çoğunlukla 30 yaş sonrası ortaya çıkar, ancak obezite artışının sonucu olarak özellikle son 10-15 yılda çocukluk veya adolesan çağlarında ortaya çıkan tip 2 diyabet vakaları artmaya başlamıştır.

Hastalarda endojen insülin sekresyon kapasitesi bir miktar vardır. Ancak insülin seviyeleri çevresel glukoz konsantrasyonu ve insülin direncine göre yeterli seviyede değildir. Bundan dolayı hastalık genellikle sinsi başlangıçlıdır. Hipergliseminin kademeli olarak ortaya çıkmasından dolayı tip 2 diyabet uzun yıllar klinik olarak bulgu vermez ve genellikle yıllarca teşhis edilemez. Pek çok hastada başlangıçta hiçbir semptom yoktur. Tanı sıklıkla rutin laboratuvar çalışmalarında hiperglisemi ve glikozüri saptanması ile koyulur. Hastaların hekime ilk başvurma nedenleri polidipsi, poliüri ve polifaji gibi yakınmalardan daha çok görme bozuklukları, el ve ayaklarda uyuşukluk gibi kronik komplikasyonlarla ilgili yakınmalardır. Hastalar sıklıkla obez veya kiloludur [Vücut kitle indeksi (VKİ) >25 kg/m<sup>2</sup>]. Başlangıçta diyabetik ketoasidoza (DKA) yatkın değildir. Ancak uzun süreli hiperglisemik seyirde veya b-hücre rezervinin azaldığı ileri dönemlerde DKA görülebilir (1, 6, 38).

## **2.10. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları**

DM komplikasyonları akut ve kronik olarak sınıflandırılmaktadır.

### **1. Akut komplikasyonlar**

- Diyabetik Ketoasidoz (DKA),
- Hiperosmolar Hiperglisemik Durum (HHD),
- Laktik Asidoz (LA),
- Hipoglisemi olarak sıralanabilir.



## 2. Kronik komplikasyonlar

DM’de temelde kronik hipergliseminin neden olduğu metabolik düzensizlik birçok organ sisteminde patofizyolojik değişikliklere neden olarak fonksiyon kaybı ile sonuçlanan yıkıcı etkilere neden olur. Hastalıkta kronik komplikasyonlar diyabetle ilişkili morbidite ve mortalitenin çoğundan sorumludur. DM’ nin kronik komplikasyonları vasküler ve non-vasküler komplikasyonlar olarak ayrılabilir ve Tablo 2.4’te özetlenmiştir.

**Tablo 2.4.** Diyabete Bağlı Komplikasyonlar (6)

| Genel Komplikasyon Sınıfı  | Komplikasyonlar   |
|--|---|
| Mikrovaskular  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Göz hastalıkları               <ul style="list-style-type: none"> <li>Retinopati (nonproliferatif/proliferatif)</li> <li>Maküler ödem</li> </ul> </li> <li>- Nöropati               <ul style="list-style-type: none"> <li>Duyusal ve motor (mono ve polinöropati)</li> <li>Otonomik</li> </ul> </li> <li>- Nefropati (albüminuri ve azalmış renal fonksiyon)</li> </ul> |
| Makrovaskular  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Koroner kalp hastalığı</li> <li>Periferel arteriyel hastalıklar</li> <li>Serebrovasküler hastalıklar</li> </ul>  |
| Diğerleri  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Gastrointestinal (gastroparesis, diyare)</li> <li>Genitaüriner (üropati, seksüel disfonksiyon)</li> <li>Dermatolojik</li> <li>Enfeksiyon</li> <li>Katarakt</li> <li>Charcot artropatisi*</li> <li>Periodental hastalıklar</li> <li>Duyuma kaybı</li> </ul>   |
| <p>Diyabetle ilişkili diğer komorbid koşullar (hiperglisemi ile ilişkisi belirsizdir): depresyon, obstruktif uyku apnesi, yağlı karaciğer hastalığı, kalça kırığı, osteoporoz (tip 1 diyabet), bilişsel bozukluk ya da demans, erkeklerde testosteron düşüklüğü. *incelmiş deri, eklem mobilitesinde azalma.</p> |   |

Kronik komplikasyon riski, hiperglisemi süresine bağlı olarak artar; genellikle hipergliseminin 2. dekadında ortaya çıkar. Tip 2 DM'de uzun bir asemptomatik hiperglisemi dönemi olabileceğinden, tanı sırasında komplikasyonlar olabilir.

Tip 1 ve tip 2 DM'nin her ikisinde de mikrovasküler komplikasyonlar kronik hipergliseminin sonucu olarak gelişir. Yapılan çalışmalarda hiperglisemideki düzelmenin retinopati, nöropati ve nefropatiyi önlediği gösterilmiştir. Diğer tam olarak belirlenmemiş bazı faktörler de komplikasyon gelişimini etkileyebilir. Örnek olarak uzun hastalık süresine ve glisemik kontrolün mikrovasküler komplikasyon gelişenlerden farklı olmamasına rağmen, bazı hastalarda hiçbir zaman nefropati veya retinopati gelişmemektedir. Bu durum da komplikasyonların gelişmesinde kısmen genetik yatkınlığın da söz konusu olabileceğini düşündürmektedir (6).

## **2.11. Diyabetik Nefropati**

### **2.11.1. Diyabetik Nefropatinin Tanımı ve Önemi**

Diyabetik nefropati, çoğunlukla intraglomerüler arteriollerin hasarına bağlı olarak progresif böbrek fonksiyonlarının bozulması ile ortaya çıkan klinik tablodur (7). Mikroanjiopati sonucu böbrekte oluşan hasarlanmaya verilen genel isimdir (39). Persistan mikroalbuminüri, erken kan basıncı yükselmesi, azalmış glomerular filtrasyon hızı (GFH), yüksek kardiyovasküler morbidite ve mortalite riski ile karakterizedir (40).

DM'nin kronik komplikasyonlarının kontrol altına alınmasında önemli gelişmeler kaydedilmesine rağmen vasküler komplikasyonlar, en önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Diyabetik nefropati, dünyada ve ülkemizde son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır. Diyabete bağlı gelişen mortalite ve morbiditenin temel sebebidir (41).

Diyabetik hastalarda SDBY sıklığı giderek artmaktadır. Bunun nedenleri arasında diyabetin epidemik bir şekilde gün geçtikçe artış göstermesi, DM

tedavisinde yeni ilaçların kullanıma girmesi ile diyabetik hastaların yaşam süresinin uzaması ve diyabetin artık daha erken yaşlarda görülmesi bulunmaktadır. DN diyabetin yüksek orandaki sıklığına ve diyabetlilerin kardiyovasküler kaynaklı ölüm oranının azalmasına bağlı olarak tüm dünyada son dönem böbrek yetmezliğinin (SDBY) en sık sebebi haline gelmiştir. Son yıllarda diyabetik nefropati hastalarındaki bu dramatik artış obezite, metabolik sendrom ve tip 2 diyabetteki epidemik artışla paralel gitmektedir (42, 43).

Diyabet hastalarında mikroalbuminüri ve makroalbuminüri, sadece SDBY için değil, ayrıca kardiyovasküler morbidite ve mortalite açısından da yüksek risk oluşturur (6). Buna neden olarak mikroalbuminürinin aterosklerozun erken evresinde sistemik vasküler permeabilite artışına neden olması gösterilmektedir (44).

Tip 2 diyabetli yaşlı hasta gruplarında önceki yıllarda koroner arter hastalığına bağlı ölüm olasılığı yüksek olduğundan erken safhadaki nefropatilerin SDBY'ye 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 (45).

### **2.11.2. Diyabetik Nefropatinin Tarihçesi**

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 edilmiştir. 1942'de Bell diffüz glomeruloskerozu tanımlayarak, diyabetik nefropati patogenezinde arteriolar lezyonların önemine işaret etmiştir. Lunbaeck, nefropatisi ve retinopatisi olan diyabet vakalarında küçük damarlarda lezyonları gözlemlemiş ve ilk defa "diyabetik mikroanjyopati" terimini kullanmıştır (46-48).

### **2.11.3. Diyabetik Nefropatinin Epidemiyolojisi**

DM'li hastaların yaklaşık %40'ında Kronik Böbrek Hastalığı (KBH) gelişmektedir (9). ABD'de düzenli diyaliz tedavisine giren hastaların %37,9'unu DM'ye bağlı SDBY oluşturmaktadır ve yeni gelişen böbrek yetmezliği olgularının

%44,9'u DM'ye bağlıdır (10). Ülkemizde de KBH sıklığı %15,7 ve KBH olgularında diyabet sıklığı %32,4 olarak saptanmış olup (11), diyaliz hastaları arasında DM %33,83 ile SDBY nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır. Yeni hemodiyalize girmeye başlayan hastalarda da altta yatan etiyolojik nedenlere göre dağılımda DM %36,45 ile en sık nedendir (12). Tip 2 diyabetin (%90) tip 1 diyabete (%10) göre prevalansının yüksek olması sebebiyle diyabetik nefropati hastalarının çoğunluğu tip 2 diyabet hastasıdır (6). Diyabetik nefropatiye sahip hastaların %50-60'ını tip 2 diabetes mellituslular oluşturmaktadır (49).

Tip 2 DM'li hastalarda tanıdan 20 yıl sonra diyabetik nefropati görülme insidansı %25 oranında olmaktadır. Diyabetik nefropatiye sahip hastaların %20 kadarı da 10 yıl içinde progresif renal yetmezliğe sahip olup, SDBY'ye ilerlemektedir (13).

Tip 1 diyabetik hastaların yaklaşık olarak %30-40'ında tanıdan ortalama 20 yıl sonra nefropati ortaya çıkmakta ve nefropati geliştikten sonraki 10 yıl içerisinde de böbrek yetmezliği gelişmektedir (49). Gelişmiş ülkelerde, daha iyi glisemik kontrol ve hipertansiyonun daha aktif ve agresif tedavisi nedeniyle, tip 1 diyabete bağlı böbrek yetmezliği insidansının azalmakta olduğunu bildiren çalışmalar vardır (50).

Tip 1 DM için prevalansın %6 ile %27 arasında ve tip 2 DM için %5 ile %32,9 arasında değiştiği görülmektedir (51). Türkiye'de yaklaşık 7,5 milyon KBH vakası mevcut olup; bunların 60.000 kadarı SDBY'ye sahiptir (11).

#### **2.11.4. Diyabetik Nefropatinin Histopatolojisi**

Diyabet, böbrek yapısında kendine özgün değişikliklere yol acar. Tip 1 ve tip 2 DM'de böbrekte izlenen patolojik lezyonlar benzer olmakla birlikte (52), tip 2 diyabetli mikro-makroalbuminürik hastalarda tip 1 diyabetik hastalara kıyasla yapısal heterojenite daha fazladır (53).

Makroskopik olarak; GFR'nin %20 ile %50 oranında artışına bağlı, nefropatinin erken döneminde böbreklerin hem hipertrofi hem de hiperplazi nedeniyle büyümesi, değişmeyen bir bulgudur. Zamanla nefropati progrese olup,

diyabetik glomerülosklerozun (DGS) ilerlemesi ile fibrozis ve nefron kaybı sonucu böbreklerin boyutlarında küçülme gözlenir (54, 55).

Böbrekteki patolojik değişiklikler mikroalbüminüri başlamadan ortaya çıkmaktadır. İlk görülen ve hastalık süresiyle de kolere olan değişiklik glomerüler bazal membrandaki kalınlaşmadır (56). Genel olarak DN'de gözlenen patolojik lezyonlar; diyabetik glomerüloskleroz, diyabetik ekstraplomerüler mikroanjiopati, diyabetik tübülointerstisyel değişiklikler ve diğer lezyonlar olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır [Tablo 2.5]. Diyabetik glomerüloskleroz tanımlayıcı lezyon olup, genellikle nodüler lezyon, diffüz lezyon ve eksudatif lezyon olmak üzere 3 patolojik tipe ayrılır (57).

**Tablo 2.5.** Diyabetik Nefropati Patolojik Lezyonları

|   |
|---|
| <p><b>1-</b> Diyabetik glomerülosklerozis</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nodüler lezyon</li> <li>• Diffüz lezyon</li> <li>• Eksudatif lezyon</li> </ul> <p><b>2-</b> Diyabetik ekstraplomerüler mikroanjiopati</p> <p><b>3-</b> Diyabetik interstisyel değişiklikler</p> <p><b>4-</b> Diğer</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Papiller nekroz</li> <li>• Piyelonefrit</li> </ul> |
|---|

Diyabetik nefropatinin en karakteristik özelliği glomerülosklerozdur. En sık gözlenen glomerüler lezyon diffüz glomerülosklerozdur. İlk kez 1943 yılında Spühler ve Zollinger tarafından tanımlanmış olup, mezangiyal alanda eozinofilik, Period acid-Schiff (PAS) pozitif ve argirofilik özellikte mezangiyal matriksin diffüz olarak artmasına bağlıdır. Diffüz mezangiyal matriks artışı ve glomerül kapiller bazal membranlarında üniform kalınlaşma tipik bulguları arasındadır. Diffüz glomerüloskleroz diyabete özgü değildir. 1936 yılında Kimmelstiel ve Wilson tarafından tanımlanan nodüler glomerüloskleroz ise %20-40 oranında görülür ve

patologların çoğu tarafından diyabetik nefropatinin en karakteristik lezyonu olarak kabul edilmiştir. Diyabetin genelde geç dönemlerinde ortaya çıkan, eozinofilik, PAS ile pozitif boyanan, mezangiyumda ya da interkapiller alanda eozinofilik homojen bir materyalin nodüler birikmesi şeklinde görülen lezyonlardır (47, 58).

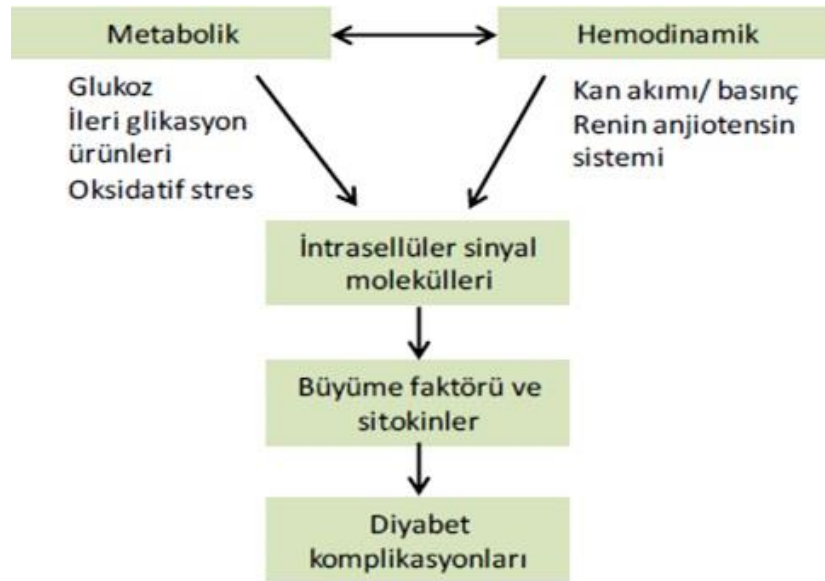
Diyabette vasküler lezyonlar da sık gelişir ve arteriyosklerotik-arteriyosklerotik değişiklikler daima görülür. Arterlerde değişik derecelerde intimal kalınlaşma, duvarlarında belirgin hiyalen madde birikimi izlenir. Hem afferent hem de efferent arteriollerde hiyalinöz değişiklikler gözlenir. Afferent arteriyolde hiyalinoz değişiklikler primer glomerulonefritlerde ve özellikle hipertansif nefrosklerozisde sıklıkla gözlenmekte iken, efferent arteriyollerde hiyalinizasyon diyabet için spesifik olup, özellikle hipertansif nefropatiden ayıran önemli morfolojik özelliştir (59).

Tübülointerstisyel değişiklikler DM'de sık gelişir. İnterstisyel fibrozis, ödem, peritübüler kapillerlerde dilatasyon, tübüler bazal membranda kalınlaşma, tübüler atrofi, Armani-Ebstein lezyonu en sık görülen tübülointerstisyel değişikliklerdir. Daha çok kötü kontrollü DM'lilerde ağır glikozüriye bağlı gözükken, DM'ye özgün tübüler lezyon olan Armani-Ebstein lezyonu; toplayıcı kanallar ve henle loopunun epitelyal hücrelerinde, glikojen depolanmasına bağlı vakuolizasyon ile kendini gösteren lezyondur (57).

#### **2.11.5. Diyabetik Nefropatinin Patofizyolojisi**

Tip 1 ve tip 2 DM'de nefropati patofizyolojik mekanizmaları ve renal lezyonların morfolojisi benzerdir (40).Diğer mikrovasküler komplikasyonlar gibi diyabetik nefropatinin patogenezi de kronik hiperglisemi ile ilişkilidir. Tam olarak tanımlanmasa da diyabetik nefropati patogenezinde hipergliseminin tetiklediği hemodinamik, genetik, metabolik faktörler ve çeşitli fibrozis gelişimi ile ilişkili sitokin ve büyüme faktörlerinin rolü olduğu ileri sürülmüştür (8).

Şekil 2.2'de diyabetik nefropatinin patogenezinde metabolik ve hemodinamik faktörlerin etkileşimi gösterilmiştir.



**Şekil 2.2.** Diyabetik Nefropatinin Patogenezinde Metabolik ve Hemodinamik Faktörlerin Etkileşimi (60)

### Genetik

Nefropatinin bazı iyi glisemik kontrollü vakalarda gözlenmesi, yine uzun süre kontrolsüz seyreden bazı vakalarda ise nefropatinin izlenmemesi glisemi dışında ek faktörlerin de nefropati gelişiminde etkisi olduğunu düşündürmüştür. Yapılan çalışmalarda tip 1 ve tip 2 diyabetin her iki formunda da diyabetik nefropatinin ailesel kümelenme gösterdiği ortaya konmuştur (40, 61). Ailevi yatkınlık, genetik bir bozukluğun varlığını düşündürmekle birlikte, DN gelişimiyle ilişkilendirilebilecek bir gen açıkça gösterilememiştir. En çok incelenen genler anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) ve anjiotensin II reseptör gen bölgelerinin polimorfizmleridir. ACE geninin delesyon/insersiyon (D/I) polimorfizmi tanımlanmıştır ve homozigot delesyon polimorfizmi olan olgularda (DD genotip) daha yüksek sistemik ve lokal anjiotensin II düzeyleri olduğu gösterilmiştir. Bunlar dışında ayrıca endotelial nitrik oksit sentetaz, apolipoprotein E, TGF- $\beta$  polimorfizmleri de çalışılmış; ancak kesin bir ilişki henüz gösterilememiştir (8). Nefropatinin çevresel faktörleri de içeren multifaktöriyel kalıtım özelliğine sahip olduğu ve birden fazla genin hastalık etiolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir.

## **Hemodinamik Değişiklikler**

### **Hemodinamik Değişiklikler ve Glomerül İçi Basınç Artışı**

Diyabete bağlı renal hasarın gelişimi ve ilerlemesiyle ilgili en erken bulgu hiperfiltrasyon ve intraglomerüler basınç artışına neden olan hemodinamik değişimlerdir. Hemodinamik değişimler, diyabete bağlı renal hasarın gelişimi ve ilerlemesinde anahtar role sahiptir (62). Afferent arteriollerde efferentlere göre daha belirgin şekilde görülen vazodilatasyon intraglomerüler basınç artışına neden olur (63). Bu olaydan sorumlu birçok vazoaktif faktör vardır. Bunlar prostanoidler, nitrik oksit (NO), vasküler endotelial growth faktör (VEGF), TGF- $\beta$ 1, Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS), özellikle anjiyotensin II ve endotelindir. Bu erken hemodinamik değişiklikler albuminin glomerül kapillerinden süzülmesine, aşırı mesangiyel matriks üretimine neden olur, bunun yanında glomerüler podositlerin hasarlanmasını ve bazal membran kalınlaşmasını kolaylaştırır (64, 65). Glomerüler hemodinamikler ve hipertansiyona bağlı gelişen stres ve mekanik zorlanma; glomerüloskleroz ve interstisyel fibrozisin oluşumunda önemli bir rol oynayan, sitokin ve büyüme faktörlerinin otokrin/parakrin salınımına neden olur. Bu hemodinamik değişiklikler artmış proteinüri ve hızlanmış glomerüloskleroz ile birliktelik gösterir (62).

### **Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi**

Anjiotensinojen, renin ve katepsin G, tonin ve kimaz gibi bazı enzimler tarafından daha küçük bir molekül olan anjiotensin I'e (AT-I) ve ACE tarafından da anjiotensin II'ye (AT-II) dönüştürülmektedir. AT-II, AT1 reseptörü aracılığı ile vazokonstriksiyon yapar, hücre proliferasyonunu, sodyum ve su tutulmasını artırır ve sempatik sistemi aktive eder. Hemodinamik etkilerinin yanında anjiyotensin II büyüme faktörü gibi davranarak proksimal tübüllerde ve renal interstisyel fibroblastlarda TGF- $\beta$  stimülasyonu yapar (65).

Hemodinamik değişiklikler renin-anjiyotensin-aldosteron, endotelin gibi çeşitli vazoaktif sistemin aktivasyonu ile olur. İntrarenal renin anjiyotensin sistemi



(RAS), DN fizyopatolojisinde önemli rol oynamaktadır. Hiperglisemi intrarenal anjiyotensinojen ve anjiyotensin II sentezini uyarır, efferent arteriyoler vazo konstrüksiyon ve intraglomerüler basınç artışı olur, renal kan akımı azalır ve feedback ile sistemik renin salınımı azalır. Hiperglisemi ile artan doku anjiyotensin II düzeyleri, oksidatif stres ürünlerinin oluşumuna ve endotel hasarına neden olur ve bu süreç vazokonstriksiyon, tromboz, inflamasyon, vasküler yeniden yapılanma, TGF- $\beta$ 1 aracılıklı hücre dışı matriks birikimi ile sonuçlanır (66).

Anjiyotensin II, hemodinamik etkilerinin yanı sıra, renal hücreler üzerinde trofik, inflamatuvar ve profibrinojenik etkiler de yapmaktadır. Büyüme faktörü gibi davranarak proksimal tübüllerde ve renal interstisyel fibroblastlarda TGF- $\beta$  aktivitesini de uyarmaktadır (65). Bu nedenlerle diyabetik hastalarda RAAS aktivasyonunun baskılanarak intraglomeruler basıncı azaltmada, DN progresyon hızının yavaşlatılarak organ korunmasında ACE-I çok etkili olmaktadır (64).

### **Hiperglisemi ve Metabolik Değişiklikler**

DM'de kronik hiperglisemi sonucu glikozun aracılık ettiği metabolik değişiklikler komplikasyonların gelişmesinde ana hazırlayıcıdır. Diyabetik nefropati gelişiminde bu metabolik olayların birbirleriyle etkileşim içinde olduğu anlaşılmıştır. Hipergliseminin reaktif oksijen ürünlerinin artmasına; nikotinamid dinükleotid(fosfat) formunun NAD(P)H azalmasına; diaçilgliserolün de novo sentezine yol açan polioll yolunun aktivasyonuna; artmış protein kinaz C aktivitesine (PKC); heksoamine yolunda değişikliğe ve nonenzimatik protein glikolizasyonuna (advanced glycation end-products: AGEs-ileri glikolizasyon son ürünleri) yol açarak diğer mikrovasküler komplikasyonlar gibi diyabetik nefropatinin gelişmesinde esas rolü oynadığı ileri sürülmektedir (67).

Hipergliseminin etkili olduğu metabolik yollar aşağıda sunulmuştur.

### **Glukozun Direk Toksik Etkisi**

Glukoz, hücelere doğrudan toksik etkide bulunur. Glukozun direkt toksik etkileri arasında hücre çoğalması, kollajen, fibronektin, laminin, TGF  $\beta$ -1 sentez

artışına bağlı gelişen ECM birikimi ve mezangial hücrelerde azalmış heparan sülfat sentezine bağlı proteinüri bulunmaktadır (68). Hiperglisemi TGF beta sentezinin artırarak mezangiyal hücre hipertrofisini indükler ve gen ekspresyonunu artırır, ekstrasellüler matriks deposizyonunu değiştirir (69).

### **Polyol Yolu Aktivasyonu**

Polyol aktivasyonu sonucu glukoz, aldoz redüktaz enzimi ile glutatyon rejenerasyonu için önemli bir substrat olan NADPH kullanılarak sorbitole ve sorbitol de sorbitol dehidrojenaz enzimi ile fruktoza dönüşmektedir. Fruktozdan da non-enzimatik glikozillenmeyle, ileri glikozilasyon son ürünleri (AGE) oluşur ve doku hasarına neden olur. Hücre içi glukoz artışı ile bu yolak aktive olur ve dönüşümün artarak dokularda sorbitol birikmesine neden olur (68).

Bu yolak ile özellikle glikozun hücre içine girişinin insülden bağımsız olduğu böbrekler, lens ve retina gibi dokularda sorbitol konsantrasyonu artar. Sorbitol hücre membranını geçemez, hücre içi osmolariteyi artırır ve böylece hücresel ozmoregülasyonda bozukluk yaparak diyabetik komplikasyonlara katkı yapar (67).

NADPH, nitrik oksit sentezi ve serbest radikallerin uzaklaştırılmasında rol alan glutatyon yapımında kullanılır. Ayrıca bu yolda tüketime bağlı NADPH ve glutatyon azalmasıyla nitrik oksit (NO) yapımı azalır, serbest radikallere bağlı oksidatif stres artar ve vasküler hasar gelişir (68).

### **Nonenzimatik Glikozillenme ve İleri Glikolizasyon Son Ürünleri (AGEs)**

Hiperglisemi hücre içi aminoasit ve proteinleri nonenzimatik glikolizasyona uğratar. Hem dolaşan hem de doku veya membran proteinleri glikozillenebilir. Proteinler dışında lipidler ve nükleik asitler de glikozillenebilir. Önce glukoz non-enzimatik olarak amino guruplarına bağlanır ve Schiff bazları oluşur. Daha sonra daha stabil ancak hala reversibl olan Amadori ürünlerine dönüşür. Amadori cisimleri de hipergliseminin düzeyine bağlı olarak geri dönüşümsüz AGEs (pentosidine, pyralline, karboksimetil-lisin)'e dönüşürler (70, 71). Oluşan AGEs, tubulus, glomerul

ve podositlerde bulunan AGE reseptörlere bağlanır hücre hipertrofisi, nitrik oksit sentez inhibisyonu ve ekstraselüler matriks artışına neden olur. Kollajen gibi yapısal proteinlere geri dönüşümsüz şekilde bağlanarak glomerüler bazal membran ve matriks bileşenlerini bozarak vasküler geçirgenliği artırır (72, 73).

AGE'ler hücresel proteinlerle direkt temasın yanında vasküler hücre biyolojisinde değişikliklere neden olabilecek intrasellüler sinyalizasyonda da anormalliğe neden olur. AGE'lere spesifik reseptörler (RAGE-receptor for AGE) retina, periferel sinirler, damarlar gibi diyabetik komplikasyonlara açık dokularda bulunmaktadır. Böbreklerde AGE'lerin bağlandığı reseptörler mezengiyal ve proksimal tübül hücresi kültürlerinde gösterilmiştir (64).

### **Hekzosamin Yolu**

Glikoliz esnasında heksokinaz, glukozu glukoz-6-fosfat'a çevirir. Glukoz-6-fosfat ise fruktoz-6-fosfat'a çevrilir. Fruktoz-6-fosfat, glutamin fruktoz-6-fosfat amidotransferaz (GFAT) aracılığıyla glikozamin-6-fosfat'a dönüştürülür. Glukoz ile bu enzimin aşırı ekspresyonu protein kinaz C aktivasyonuna ve TGF- $\beta$ 1 ekspresyonuna yol açar (64).

### **Protein Kinaz C (PKC)**

Protein kinaz C, sitokinler ve hormonların uyarılması için gerekli intrasellüler sinyal iletim sisteminde görevli kinaz ailesine ait bir enzimdir (64). Serin treonin kinaz grubu olarak bilinen PKC hiperglisemide aktive olarak böbrek hücrelerinde fibronektin, tip IV kollajen, TGF- $\beta$ 1 sentezini artırır (74). Böylece hücre çoğalmasını, kan akımını ve damar geçirgenliğini içeren bir dizi işlemi etkiler. Aktive PKC glomerüler hiperfiltrasyona neden olan vazodilatör prostanoidlerin salınımını arttırmaktadır. TGF- $\beta$ 1 in aktive olması ile PKC mezengial hücrelerde hücre dışı matriks oluşumunu arttırabilmekte ve glomerüloskleroza neden olabilmektedir (75). Ayrıca protein kinaz C aktivasyonu, podositlerde permeabilite artırıcı faktör olan VEGF sentezini arttırarak glomerüler geçirgenlik artışına neden olmaktadır (76).

### **Sitokinler ve Büyüme Faktörleri**

Yapılan çalışmalarda diyabetik nefropatinin gelişmesinde ve ilerlemesinde çok sayıdaki sitokin, hormon ve hücre içi sinyal yollarının, bilhassa TGF- $\beta$ , konnektif doku büyüme faktörü, anjotensin II, VEGF, endotelin, prostaglandinler ve nitrik oksitin rolü olduğu gösterilmiştir (67, 77).

TGF- $\beta$ , DN'deki fonksiyonel ve yapısal değişikliklerin oluşmasındaki direkt etkilerinin yanı sıra indirekt etkileri ile birden çok fonksiyona sahip bir sitokindir (78). TGF- $\beta$ , doku onarımı ile ilgili fizyolojik işlevleri düzenler, hücrelerdeki matriks protein sentezini uyarır, hücre farklılaşması ve çoğalmasını etkiler. Üç izoform halde bulunur TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3 ve bunlardan TGF- $\beta$ 1 en iyi karakterize olan ve büyük oranda böbrekte bulunan izoformdur. Glomerül ve proximal tübül hücreleri TGF- $\beta$ 1 üretirler (79, 80). Hiperglisemi TGF $\beta$ -1 sentezini uyararak kollajen yapımını artırır (81), erken evrelerde glomerüler hipertrofiye, kronik fazda ise mezangiyal matriks birikimine neden olur (82).

VEGF, anjiogenez ve mikrovasküler geçirgenliği arttıran güçlü bir sitokindir. VEGF artışı ile hiperfiltrasyon, proteinüri ve glomerüler hipertrofi ilişkili bulunmuştur (83).

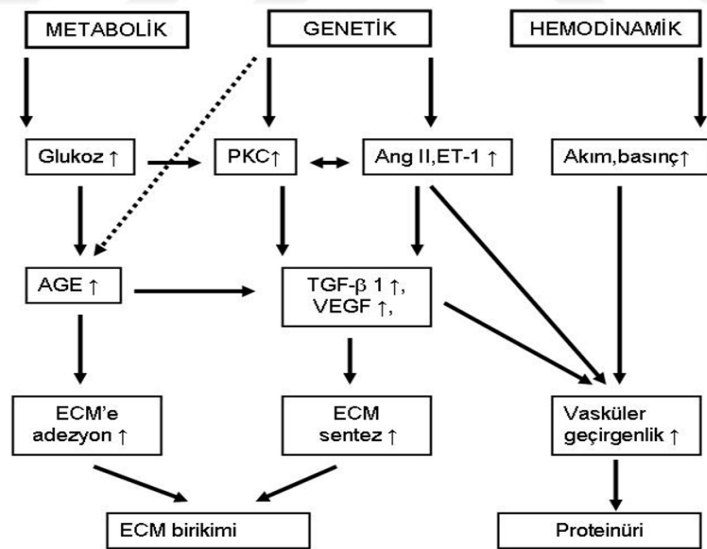
Konnektif doku büyüme faktörü (CTGF) birçok sklerotik durumda fazlaca bulunan yeni bir sitokindir (84). CTGF normal böbrekte minimal seviyede iken, insan ve deneysel diyabetik nefropatide mesangiumda önemli ölçüde indüklenir (85, 86) . Mezengial matriks genişlemesi ve glomerüloskleroz patogenezinin önemli bir faktörüdür (87).

İnterlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6), interlökin-18 (IL-18) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi sitokinlerin diyabetik nefropati gelişiminde rolü olduğu gösterilmiştir (88). Ayrıca deneysel diyabet modellerinde platelet-derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factor (FGF) (89), CTGF (90) gibi diğer sitokinler de diyabetik nefropati patogenezi ile ilişkili bulunmuştur.

## Oksidatif Stres

Hücre hasarına yol açan reaktif oksijen ürünleri (ROS) ile hasarı önleyici antioksidan savunma sistemi (glutasyon, askorbik asit, E vitamini, katalaz, süperoksid dismutaz) arasındaki dengenin bozulmasının, diyabet ve komplikasyonlarının oluşumunda anahtar rol oynadığı düşünülmektedir (91). Hiperglisemi ile artan ROS; hücre zarı lipid peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, renal vazokonstriksiyona ve DNA hasarına neden olur (65, 92). Lipid peroksidasyonu ile oluşan prostaglandinler, renal vazokonstriksiyon ve nefronda hemodinamik değişikliğe yol açmaktadır (93).

Hipergliseminin doku hasarına sebep olmasını açıklayan mekanizmalarda mitokondriyel elektron transport zincirinde aşırı üretilen oksidatif stres ürünleri diğer yolları da uyararak merkezi bir rol oynar ve DN patofizyolojisindeki temel basamaktır (94). Bu değişiklikler diyabetin tüm mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarından sorumludur (95). Şekil 2.3'te Diyabetik nefropati patogenezi şematik olarak gösterilmiştir.



**Şekil 2.3.** Diyabetik nefropati patogenezi (96). PKC: Protein kinaz C, Ang II:

Anjiotensin II, ET-1: Endotelin 1, AGE: İleri glikozilasyon son ürünleri,

ECM: Ekstrasellüler Matiks, TGF-β1: Transforming Growth Factor Beta

1, VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü

### 2.11.6. Diyabetik Nefropatinin Risk Faktörleri

Diyabetik nefropati gelişiminde en önemlisi hastalığın süresi olmak üzere birçok risk faktörü tanımlanmıştır (97). Diyabetik nefropati açısından risk faktörleri Tablo 2.6'da gösterilmiştir.

**Tablo 2.6.** Diyabetik Nefropati İçin Risk Faktörleri (98)

|                               |
|-------------------------------|
| • Albüminüri                  |
| • Genetik yatkınlık           |
| • Tanı yaşı ve diyabet süresi |
| • Glisemik kontrol            |
| • Kan basıncı kontrolü        |
| • Dislipidemi                 |
| • Sigara                      |
| • Diyetteki protein miktarı   |

Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) çalışmasında, hipergliseminin diyabetik nefropatinin gelişmesinde anahtar rolü oynadığı kanıtlanmıştır (99). Diyabetik nefropati gelişimi için kontrolsüz ve kronik hiperglisemi, diğer mikrovasküler komplikasyonlarda olduğu gibi, mikroanjipati gelişimi ile temel neden olmaktadır (6). Nefropati başladıktan sonra tablonun ilerlemesine yol açan en önemli risk faktörü ise hipertansiyondur (100). Obezite, insülin rezistansı, hiperlipidemi, diyetle yüksek protein alımı, albüminüri varlığı ise prognozu kötüleştirir (101)

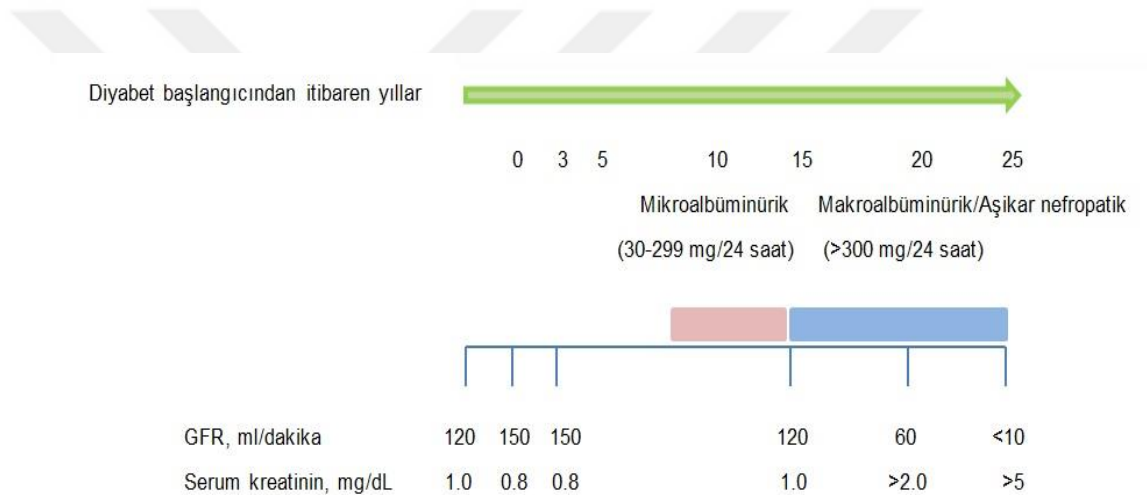
### 2.11.7. Diyabetik Nefropatinin Kliniği ve Evrelemesi

Diyabetik nefropati kliniği temel olarak hipertansiyon, ödem, proteinüri ve böbrek yetersizliği ile karakterizedir (1). Diyabetik nefropatinin en erken klinik göstergesi mikroalbuminüri olup, genel olarak tanıdan 5-15 yıl sonra gözlenir (59). Zamanla proteinüri artar, daha az selektif hale gelir ve nefrotik düzeye erişir. Bu evre glomerüler filtrasyon hızında azalma ile birlikte. Mikroalbuminüri / proteinüri

geliştiği zaman renal fonksiyonlar progresif olarak azalır ve zamanla böbrek yetmezliği ortaya çıkar.

Diyabetik nefropatinin gelişim süreci gayet iyi öngörülebilir olaylarla karakterizedir. Diyabetik nefropati gelişimi, tip 1 DM' de ortaya konmuş olmakla birlikte (tip 1 diyabet tanısının semptomların çarpıcılığı nedeniyle erken dönemde koyulabilmesi ile hastalık başlangıç döneminin bilinmesi ve nefropati açısından izlenebilmesi nedeni ile), tip 2 DM' de de benzer bir model olması muhtemeldir.

Diyabetik nefropatinin zaman içerisinde gelişimi Şekil 2.4'te gösterilmiştir (6).



**Şekil 2.4.** Diyabetik Nefropatinin Zaman İçerisinde Gelişimi

Tip 1 diyabet hastalarında hiperglisemi ilk on yılda ortaya çıktığı ve gürültülü başlangıcı 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 başlı başına bir nedendir), arteriyel hipertansiyon, obezite, dislipidemi, sigara gibi diğer faktörlere maruz kalmıştır (43).

Diyabetik nefropati klinik olarak 5 ayrı evrede tanımlanmıştır ve evreleri şöyle özetlenebilir;

**Evre 1 (Glomerüler Hiperfiltrasyon ve Hipertrofi):** Diyabet böbreklerde ilk olarak glomerüler hiperfiltrasyon ve hipertrofiye neden olur. Bu evrede hiperglisemiye bağlı hiperfiltrasyon vardır. Hiperfiltrasyona bağlı olarak da GFH %20-40 artmıştır. Böbreklerin hipertrofik olduğu (%20 oranında büyüme) ultrason ile de gösterilebilir. Bu dönemdeki değişikliklerin nedeni renal plazma akımı, intraglomerüler basınç artışı ve filtrasyon yüzeyinin artmasıdır. Glomerüler bazal membranda hafif kalınlaşma dışında önemli bir morfolojik değişme yoktur (102). Hipergliseminin kontrolü ile bu dönem birkaç haftada düzelebilir (103).

**Evre 2 (Sessiz Dönem):** Böbrekte yapısal değişiklikler geliştiği halde henüz mikroalbuminüri yoktur, hastalar normoalbuminüriktir. GFH, ilk evreye göre azalmakla beraber normalin üzerinde veya normal değerlerdedir. Genellikle 5-15 yıl kadar sürer. Kan basıncı normal sınırlarda seyreder. Kontrolsüz hiperglisemi nefropati gelişimine sebep olur. Histopatolojik olarak bazal membranda nonspesifik kalınlaşma ve fraksiyonel mezengial volümde artma meydana gelir (102).

**Evre 3 (Mikroalbuminüri):** Mikroalbuminüri bu evrenin en karakteristik belirtisidir. Klinik olarak diyabetik nefropatinin tespit edilebildiği bu dönem, nefropatinin ilerlemesinin durdurulabildiği ve hatta geriye döndürülebildiği dönem olması açısından önemlidir. Kan basıncının bu dönemde yükselmeye başladığı gösterilmiştir (103, 104). Diyabetin başlangıcından 6-15 yıl sonra gelişmekle birlikte, 1-20 yıl kadar sürebilir. GFR yılda yaklaşık 1,1 ml/dk azalır. İyi glisemik kontrol, protein kısıtlaması ve antihipertansifler (özellikle ACE inhibitörleri ve ARB'ler) ile idrarda albumin atılım hızı artışı azaltılarak klinik nefropatiye gidiş geciktirilebilir (102).

**Evre 4 (Aşikâr Nefropati Dönemi):** Aşikâr nefropati ve persistan proteinüri ile karakterizedir. Makroalbuminüri (albuminürinin 24 saatlik idrarda  $\geq 300$  mg/gün veya spot idrarda  $\geq 300$  ug/mg kreatinin olarak saptanması) mevcuttur. Serum kreatinini normal veya hafif artmıştır. Bu evre geri dönüşümlü olmamakla beraber, ilerleme hızı kısıtlanabilir. Tedavi olmadığı durumlarda GFH hızlı bir şekilde düşer. GFR yılda 10–12 ml/dk azalır. GFH'deki azalma kan basıncı ile koreledir. Antihipertansif tedavi ile GFH'deki azalma hızı %60 azaltılabilir ve böylece üremi gelişim süreci geciktirilebilir. Histopatolojik olarak yaygın interkapiller



glomerüloskleroz vardır (102). Sıklıkla retinopati, nöropati, periferik ve koroner vaskülopati ile birlikte.

**Evre 5:** GFH'da belirgin düşüklükle karakterizedir. SDBY gelişir. Proteinürinin başlangıcından itibaren 5 ile 20 yıl içinde, yaklaşık olarak da 7 yıl içinde ortaya çıkar. Ağır hipertansiyon, üre, kreatinin yüksekliği vardır. Üremi ile birlikte sıvı retansiyonu ve ödem gibi diğer komplikasyonlar da görülebilir. Bu evrede tedaviye yönelik diyaliz önerilebilir.

### 2.11.8. Diyabetik Nefropatide Tanı ve Tarama

Diyabetik nefropati kesin tanısı, halen renal biyopsi ile koyulmaktadır. Ancak bu invazif yöntem diyabetik nefropati tanısı için her zaman uygulanmaz. 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 (105). Renal biyopsinin uygulanmadığı durumlarda proteinüri ile birlikte diyabetik retinopatinin bulunması tanıyı güçlendirmektedir. Tip 1 diyabette diyabetik nefropatiye, retinopati %90'dan fazla oranda, tip 2 diyabetli hastalarda da %60 oranında eşlik eder (106).

Diyabetik nefropatinin tanısı klinik pratikte idrar tahlilinde protein varlığı ile koyulabilir. Albumin diyabetik nefropatide idrarda atılan ana proteindir. Erken dönem diyabetik nefropati tanısında kalıcı mikroalbuminüri varlığından yararlanılır. Mikroalbuminüri; nonketotik, steril ardışık üç idrar örneğinin en az ikisinde olmak üzere 30-300 mg/gün, 20-200 µg/dakika veya 30-300 µg/mg kreatinin/albumin atılımı olarak tanımlanır (107). Dipstick testler albumin konsantrasyonu >300 mg/L olduğunda pozitif sonuç verir. Bundan dolayı mikroalbuminüri tayini dipstick testlerle yapılamaz, sadece sensitif immün assay yöntemleri ile yapılabilir (108). Makroalbuminüri ise  $\geq 300$  mg/gün veya  $\geq 300$  µg/mg kreatinin/albumin atılımı olarak tanımlanır. İdrar albumin atılımındaki günlük değişimler nedeniyle, tüm anormal testler 3-6 ay içinde alınan 3 idrar örneğinin 2'sinde doğrulanmalıdır (109). Mikroalbuminüriye veya GFR düşüklüğüne sebep olabilecek geçici sorunlar (üriner enfeksiyon, hematüri, ateşli hastalık, aşırı egzersiz, kısa süreli aşırı hiperglisemi,

kontROLSUZ HT ve kalp yetmezliği, hipovolemi vb.) varsa, bu sorunlar düzeltilene kadar nefropati tarama testleri yapılmamalıdır (110).

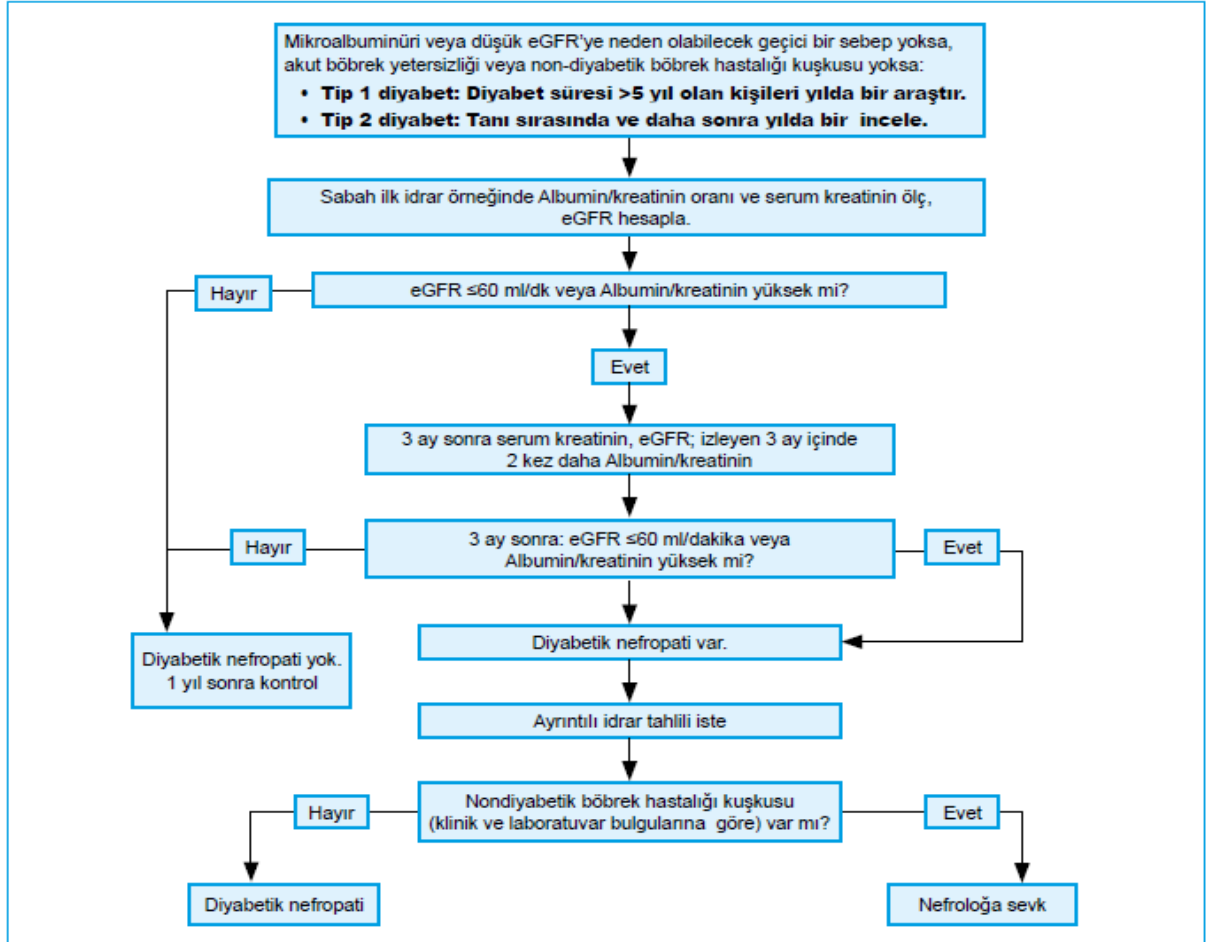
Diyabetik nefropatide tarama hastalığın erken tanınarak progresyonunun önlenmesi ve erken tedavi imkânı açısından gereklidir. Tedavi edilmediği takdirde mikroalbuminüri bulunan tip 1 diyabetli hastaların %80'inde idrar albümin atılımı her sene %10-20 hızla artarak 10-15 sene içinde aşikâr nefropatiye ilerler, tip 2 diyabetli hastaların ise %20-40'ı diyabetik nefropatiye ilerler (45, 65). Diyabet tanısı alan bir hastanın normoalbuminüriden mikroalbuminüriye, mikroalbuminüriden diyabetik nefropatiye, nefropatiden SDBY'ye yıllık ilerleme hızı sırasıyla %2,0, %2,8 ve %2,3 dür (111).

The Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) çalışmasında, nefropati gelişim ve progresyonunun erken müdahalelerle geciktirilebildiği gösterilmiştir (112). Bu nedenle diyabetiklerde tarama önem arz eder. Mikroalbuminüri taraması için sabah ilk idrarda albumin/kreatinin oranı bakılmalıdır. Erken dönem nefropatiyi araştırmak için mikroalbuminüri ölçümü ile birlikte tahmini glomerular filtrasyon hızı (eGFR)'nın hesaplanması gerekir. Serum kreatinin düzeyi ölçülerek MDRD, CKD-EPI veya Cockcroft-Gault formüllerinden eGFR hesaplanmalıdır. GFR hesaplama formülleri aşağıdaki Tablo 2.7'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.7.** GFR Hesaplamasında Kullanılan Formüller

| <b>Serum kreatinin konsantrasyonu (S<sub>cr</sub>) (mg/dL), yaş, cinsiyet, ırk ve vücut ağırlığı kullanılarak tahmini eGFR hesaplama formülleri</b>  |
|--|
| <p><b>1. Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) çalışmasına göre eGFR belirleme formülü</b><br/> <math display="block">GFR \text{ (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})</math></p> |
| <p><b>2. CKD-EPI formülü</b><br/> <math display="block">GFR \text{ (ml/dk)} = 141 \times dk \times (S_{cr}/K,1)^{\alpha} \times \max(S_{cr}/K,1)^{-1209} \times (0.993)^{\text{yaş}} \times 1.018 \text{ (eğer kadınsa)} \times 1.159 \text{ (eğer siyah ırktan ise)}</math></p>   |
| <p><b>3. Cockcroft-Gault formülü</b><br/> Tahmini kreatinin klirensi (mL/min) = (140-yaş x vücut ağırlığı, kg) / 72 x S<sub>cr</sub> (mg/dL)</p>   |

Erişkin diyabetli hastalarda böbrek hasarının değerlendirilmesi Şekil 2.5'te özetlenmiştir.



Şekil 2.5. Erişkin Diyabetli Hastalarda Böbrek Hasarının Değerlendirilmesi (1)

Tip 1 ve tip 2 diyabette, diyabetik nefropatinin gelişimi benzer şekilde olmasına rağmen tip 1 diyabet tanısı semptomların çarpıcılığı nedeniyle erken dönemde koyulabilirken, tip 2 diyabet hastaları yıllarca tanı almadan yaşayabilir ve diyabet ile birlikte ilerlemiş diyabetik nefropati ile karşımıza gelebilir. Diyabetik nefropati gelişimi belirli bir süreç gerektirdiği için tip 1 DM'li hastalarda tarama tanıdan 5 yıl sonra her sene tekrarlanmalıdır. Ancak tip 2 diyabette hastalığın başlama zamanı bilinmediği için tanı ile birlikte nefropati taramasına başlanmalıdır ve yılda bir kez eGFR ve idrar albumin/kreatinin oranı ile diyabetik nefropati

taraması yapılmalıdır (113). Mikroalbuminüri gelişen hastalarda diyabetik nefropatinin progresyonunu izlemek için idrar albumin/kreatinin oranı daha sık ölçülmelidir (1).

Tip 1 DM tanısı 10 yıldan daha fazla olan hastalarda, renal hastalığın nedeninin histolojik olarak %95'den fazla oranda diyabetik nefropati olduğu gösterilmiştir (114-116). Bu nedenle bu hastalarda tanısal biyopsinin yeri yoktur. Ancak tip 2 DM'de diyabetin başlangıç yaşını belirlemek sıklıkla mümkün değildir ve klinikte saptanan proteinüri, diyabetik nefropati ile superimpoze renal hastalık veya diyabet ilişkisiz hastalık göstergesi olabilir (6). Özellikle eşlik eden diyabetik retinopati yoksa, GFR diyabet süresi ile uyumsuz olarak çok düşük veya hızla azalan GFR varsa, hızlı artan proteinüri veya nefrotik sendrom gelişmişse, tedaviye refrakter HT varsa, idrar sedimenti zengin ise, semptom ve bulgular diğer bir sistemik hastalığı düşündürüyorsa, ACE-İ ya da ARB başladıktan sonraki 2-3 ay içinde GFR %30'dan fazla azalmışsa superimpoze NDRH nedenleri araştırılmalıdır (1).

### **2.11.9. Diyabetik Nefropatiden Korunma ve Nefropatinin Tedavisi**

Diyabetik nefropatiden korunmanın yolları hastalığın oluşumunda ve ilerleyişinde rolü bulunan faktörleri diyabetik hastada ortadan kaldırmak veya bu etkilerini hafifletmekten geçer. Bu faktörler, sürekli yüksek ve/veya düzensiz hiperglisemi, tedavisine özen gösterilmeyen hipertansiyon, kan tablosunda nefropatiye gidişi hızlandırdığı düşünülen biyokimyasal (dislipidemi- ateroskleroz ve elektrolit değişiklikleri) ve hematolojik (anemi) değişkenler, yaşam tarzı ve alışkanlıklar (sigara, aşırı hayvansal protein ve tuz tüketimi) dır (55).

Glisemi kontrolü: DN için optimal tedavi glisemik kontrol ile önlem alınmasıdır (6). Tip 2 diyabetlilerde yapılan ve 9 yıllık takibi olan UKPDS çalışmasında, glisemik kontrolün intensif tedavi grubunda mikroalbuminüriyi %24, makroalbuminüriyi %33 azalttığı gösterilmiştir (117). Tip 1 ve tip 2 diyabetli hastalarda nefropatiyi önlemek veya ilerlemesini geciktirmek için glisemik kontrolün en iyi şekilde sağlanması hatta gerekirse yoğun diyabet tedavisi yapılması gereklidir.

Optimal KB kontrolü: Diyabetik birçok hastada HT gelişir. Birçok çalışmada albümin ekskresyonunu azaltmada ve renal fonksiyondaki düşüşü yavaşlatmada sıkı kan basıncı kontrolünün etkinliği gösterilmiştir. Diyabetik hastalarda kan basıncı kontrolünde hedef; proteinüri yoksa  $\leq 130/80$  mmHg, proteinüri eşlik ediyorsa  $\leq 125/75$  mmHg olmalıdır (6). Herhangi bir ajanla kan basıncı kontrolü önemli olmakla birlikte kan basıncı kontrolünden bağımsız olarak ilaç spesifik etki sadece ACE inhibitörleri ve ARB' ler ile gösterilmiştir. ACE inhibitörleri ve ARB' lerin renoprotektif ve antiproteinürik etkilerinin efferent arteriyollerini genişleterek glomerül kapiller basıncı azaltması, poliyonik heparan sülfatı artırıp glomerül membranının negatif elektrik yükünü yükseltip glomerüler geçirgenliğini etkileyerek glomerül fonksiyonunu etkilemesi ile olduğu gösterilmiştir (98). Bundan dolayı albuminürik hastalarda HT olmasa bile, kronik böbrek hastalığını geciktirmek için ACE-İ veya ARB verilmesi önerilmektedir (1). ACE inhibitörleri ya da ARB'lerin kullanımı mümkün değilse, kalsiyum kanal blokerleri (non-dihidropirin sınıfı), beta-blokerler ya da diüretikler (özellikle sodyum ve su retansiyonu olan ve/veya hiperpotasemisi olan hastalarda) kullanılmalıdır.

Beslenme: Yüksek proteinli diyet nitrik oksit (NO) artışı yaparak GFR yi ve glomerüler hidrostatik basıncı artırır (118). Diyetle protein miktarı azaltılarak bu basıncın azaltılması böbrekler için koruyucudur Diyabetik böbrek hastalığı olan bireylerde günlük protein alımı azaltılmalıdır (0.8 g/ideal kg/gün). Glisemi, KV risk faktörleri veya GFR azalma hızı üzerine etkileri olmayacağı için günlük protein alımının daha fazla (<0.8 g/kg) azaltılması önerilmez.

Sigaranın, bir oksidan ajan olarak, TGF- $\beta$ 1 (Transforming growth factor- $\beta$ 1) aracılığı ile nefropatinin patogeneğinde önemli yer tutabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (119). Hastalar sigarayı bırakmak konusunda teşvik edilmelidir.

Nefropatisi olan diyabetik hastaların aterosklerotik komplikasyonlara eğilimli ve sıklıkla yüksek düzeyde aterojenik plazma lipid profiline sahip oldukları iyi bilinmektedir. Bundan dolayı lipid kontrolü hem renal hem de kardiyovasküler komplikasyonlar açısından önemlidir. LDL kolesterol <100 mg/dl, trigliserid <150 mg/dl, HDL > 45 mg/dl olacak şekilde yaşam tarzı değişiklikleri ve medikasyon ile tedavi düzenlenmelidir (55, 98).

Son dönem böbrek yetersizliği geliştiğinde renal replasman tedavisi uygulanmalıdır. Genç ve orta yaş hastalarda (<65 yaş) renal transplantasyon, ileri yaştaki hastalarda, koşullara göre hemodiyaliz veya evde ambulator periton diyalizi yapılması gerekir.

*Nefroloğa sevk:* Aşağıdaki durumlarda hasta nefroloğa sevk edilmelidir (1):

- Böbrek fonksiyonlarının progresif olarak azalması
- eGFR <30 ml/dk
- Albumin/kreatinin >300 mg/g kreatinin
- Kontrolsüz HT
- ACE-İ veya ARB ile hiperpotasemi olması veya serum kreatinin düzeyinin 3 ayda >%30 yükselmesi.

## 2.12. Renalaz Proteini ve Geni

Renalaz enzimi ilk defa 2005 yılında Yale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı'nda görevli Xu ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (14). Renalaz, kronik böbrek hastalarında, böbrek tarafından sekrete edilen ve artmış kardiyovasküler hastalık insidansını açıklayabilecek proteinlerin tespiti amacıyla yapılan bir çalışma esnasında saptanmıştır. Xu ve arkadaşları, SDBY hastaları arasındaki artmış kardiyovasküler mortalite ve morbitide nedeninin; böbreğin sıvı elektrolit dengesini sağlayan bir organ olmasının yanında, endokrin bir organ olması, endokrin fonksiyonlarının hepsinin henüz aydınlatılamamış olması, aradaki farklılığın böbrek tarafından sekrete edilen ve önemli biyolojik rolü olan proteinler olabileceğini düşünmüşlerdir ve yaptıkları çalışmada renalazı tanımlamışlardır. Renalazın temelde böbrek tarafından sekrete edildiğini, *in vitro* olarak katekolaminleri metabolize ettiğini (sırasıyla dopamin, epinefrin, norepinefrin), düzeyinin SDBY hastalarında sağlıklı gönüllülere göre anlamlı olarak düşük olduğunu; renalaz infüzyonunun, sıçanlarda kalp kontraksiyonunu, kalp hızını ve kan basıncını azalttığını, periferik vasküler rezistanstaki kompanzatuvar artışı engellediğini tespit etmişler ve bu veriler doğrultusunda renalazın temelde böbrekten kana sekrete edilen, kardiyak fonksiyonları ve sistemik kan basıncını düzenleyen yeni bir amin oksidaz olduğunu belirtmişlerdir (14).

Renalaz enzimini kodlayan gen, 10. kromozomda (q23.33) yerleşim göstermektedir, 311 kb uzunluğundadır, 10 ekzondan oluşmaktadır (15). İnsanlarda dokuya özgü spesifiklik gösteren 7 izoformu bulunmaktadır (h-renalaz 1-7). Renalazın majör izoformu 342 aminoasit içermektedir. Bu protein monoamin oksidaz domeyni olarak, sinyal peptid flavin adenin dinükleotid (FAD) bağlanma domeyni içerir (120, 121).



**Şekil 2.6.** Renalaz İzoformları Ren1–7: Ekzonlar 1’den 10’a Numaralandırılmıştır (120).

H-renalaz 1, 7 ekzon içerir ve yaklaşık 37.85 kDA ağırlığında protein kodlar. Bu izoform çoğunlukla böbreklerde olmak üzere kardiyomiyositler, karaciğer, bağırsak ve iskelet kaslarında bulunur (14).

Renalazın böbreklerde renal tübül epitel hücrelerinde, glomerül, mezengial hücreler ve podositlerde yüksek ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir (122).

Yapılan çalışmalar, h Renalaz 1 mRNA’sının periferik sinir hücreleri, adrenal bezler, merkezi sinir sisteminde de belirlendiğini rapor etmiştir (123, 124).

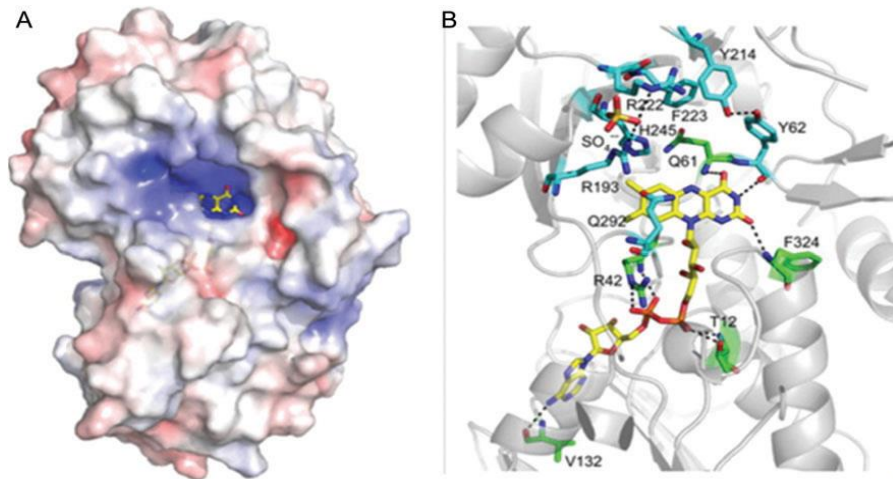
Renalaz, beyaz ve kahverengi adipoz dokularda da eksprese edilmektedir; olgun adipositlerde pre-adipositlere göre yüksek ekspresyon düzeyi gösterdiği bilinmektedir (125, 126).

Renalazın diğ er izoformları muhtemelen farklı fonksiyonlara sahiptir. İzof orm 3 ve 4 kısa aminoasit domeynlerine sahiptir, bu nedenle aminoasit aktivitesine sahip değildir (127).

Renalaz, N-terminusunda sinyal peptide, FAD-bağ lanma domeynine (5-60. aminoasitler), amin oksidaz bölgesine (75-339. aminoasitler) sahiptir ve bu nedenle FAD-bağı mlı amin oksidaz olarak adlandırılır (14, 126).

Renalaz, flavin adenin dinükleotidi kofaktör olarak iç eren amin oksidaz grubuna aittir. Bu grup bazı amin oksidaz [monoamin oksidaz (MAO)] ve poliamid oksidazları da iç erir. İyi düzeyde araştırılmış olan FAD iç eren amin oksidazların tersine, renalaz böbrekler tarafından üretilir, kan dolaşımına salgılanır ve katekolamin metabolizmasına katılır. Renalaz aktivitesi pargilin ve klorgilin gibi bilinen MAO inhibitörleri tarafından inhibe edilmez. Vurgulanan tüm farklılıklara rağ men, renalaz monoaminooksidaz C olarak adlandırılır (MAO-C) (128).

Renalazın kristal yapısı, flavin halkasının yakınında aktif bölgeye sahip olduğ unu göstermiş tir. Benzersiz flavoprotein doç ası nedeni ile, renalaz enzim olarak davranarak primer metabolik yollarda major rol oynar, ya da enzim aktivitesinden tamamen bağı msız olarak bir sitokin fonksiyonu görür (126).



**ř ekil 2.7.** Renalazın Üç Boyutlu Yapısı (A). Genel Yapı: Ardış ık Substrat-Bağ lanma

Bölgesi Mavi İle Gösterilmiş tir (PDB Accession Number: 3QJ4.) (B)

Tahmini Aktif Sitin Yüksek Rezolüsyonda Gösterimi (15).



### 2.12.1. Renalazın Enzimatik Özellikleri

Renalazın enzimatik özelliklerinin aydınlatılması üzerine yapılan çalışmada, rekombinant proteinin (*Escherichia coli*'deki Glutasyon S-transferaz füzyon proteini) epinefrin, norepinefrin ve dopamini *in vitro* olarak metabolize edebildiği rapor edilmiştir (120); fakat serotonin, tiramin, benzilamin ve spermidin gibi diğer aminler üzerinde düşük aktivite gösterdiği bildirilmiştir (129).

Bunun hemen sonrasında rekombinant renalazın tam faaliyeti için nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NAD(P)H) gerektirdiği gösterilmiştir. Varsayılan renalaz substratlarını ele alan kapsamlı bir araştırma sadece katekolaminleri ve katekolamin benzeri bileşiklerini renalaz substratı olarak tanımlamıştır (120).

Renalaz sekresyonu temel olarak renal fonksiyonlar, renal perfüzyon ve katekolamin düzeyleri ile düzenlenmektedir. İnaktif olarak sentezlenerek dolaşıma verilen renalaz, dolaşımdaki katekolaminlerle hızla aktif hale gelir. Dolaşımdaki artmış katekolamin düzeyleri plazmada inaktif halde bulunan bir amin oksidaz olan prorenalazın renalaza dönüşümünü kolaylaştırır. Artmış katekolamin düzeyleri aynı zamanda renalazın sentez ve sekresyonunu artırır. Renalaz da dolaşımdaki katekolaminleri metabolize ederek kan basıncını ve kalbin fonksiyonunu düzenler bu nedenle de kardiyovasküler hastalıklar ve kronik böbrek hastalıkları ile yakından ilişkilidir (16).

### 2.12.2. Renalaz ve Renal Dopaminerjik Sistem

Proksimal tübülün dopamin oluşturduğu ve endojen renal dopaminin tüm renal sodyum ve fosfat atılımının düzenlenmesine yardım ettiği kavramı yönünde yoğun deneysel kanıtlar mevcuttur. Renal dopamin konsantrasyonundaki değişimler renal tübüler inorganik fosfat geri emilimini kontrol eden sinyal yollarını ayarlar. Yüksek fosfat diyetiyle beslenen yabani tip farelerde akut biçimde renal ve üriner dopamin ve fosfat atılımının arttığı gösterilmiştir. Buna aromatik asit dekarboksilazınca gerçekleştirilen dopamin sentezi artışı ve renalaz, monoaminoksidaz A ve monoaminoksidaz B azalması eşlik etmiştir. Düşük fosfatlı bir diyet, dopamin ve fosfat atılımını belirgin şekilde azaltmıştır. Bu veriler, fosfat

alımındaki değişimlere hızlı adaptasyonun dopamin metabolizmasının kilit enzimlerinde değişimler gerektirdiğini ortaya koymaktadır (120).

### **Renal Fosfat Taşınması (Transport) Üzerine Renalazın Etkisi**

Düzenli diyetini alan, renalazı eksik farelerde, idrarda fosfat atılımının artışının eşlik ettiği plazma fosfatında orta derecede bir düşüş yaşandığı bildirilmiştir. Bu, renalaz eksikliğine bağlı olarak; içsel bir renal hata olarak tanımlanamaz; çünkü hem yabancı tip hem de renalazı eksik fareler fosfat kısıtlamasına benzer şekilde, renal katekol-O-metiltransferaz-1 aktivitesini arttırıp, fosfat atılımını belirgin şekilde azaltarak yanıt verirler. Bunun yerine renalazı eksik farelerde idrarda dopaminin iki kat arttığı, idrarda L-DOPA atılımının ise iki kat azaldığı rapor edilmiştir; bu, renal dopamin sentezinin düzenlenmesini (upregölasyon) belirtir ve sonrasında uyarılmış fosfat atılımına yani orta şiddette hipofosfatemiyeye denk gelir. Tam belirgin olmamasına rağmen renal dopamin sentezini arttıracak spesifik sinyal oldukça güçlüdür ki, renalaz yoksunluğunda katekol-O-metiltransferaz-1 aktivitesindeki kompensatör artışla başa çıkabilmiştir (120).

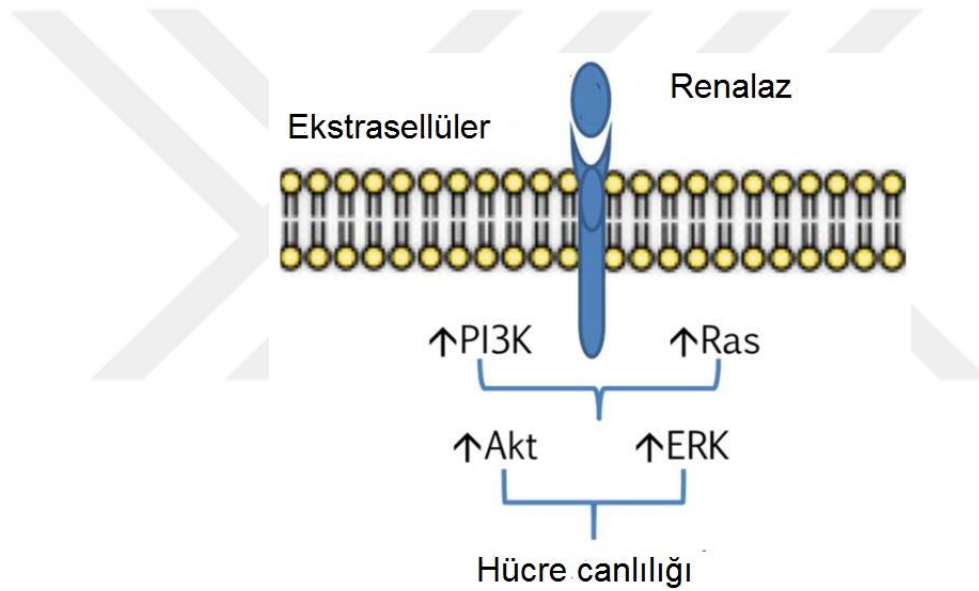
### **D5 Dopamin Reseptörleri ve Renalaz Arasındaki Etkileşim**

Dopaminerjik ve sempatik sistemler kan basıncını düzenlemek için etkileşim gösterdiğinden ve renalaz, renal proksimal tübüllerdeki dopamin üretimi ile dolaşımdaki epinefrin seviyelerini düzenlediğinden, D1 benzeri reseptörlerin böbrekte renalaz oluşumunu düzenliyor olmasının mümkün olduğu gösterilmiştir. Bir D1 benzeri reseptör agonisti olan fenoldopan, normotansif ratlardaki renal proksimal tübüllerde renalaz proteini oluşumunu ve fonksiyonunu arttırır ve hipertansif ratlardaki hücrelerde renalaz proteini oluşumu ve fonksiyonunu azaltır. Renalazın, D1 benzeri reseptörlerle düzenlenmesine bir protein kinaz C'ye bağlı durumda D5 reseptör sinyalizasyonu aracılık ediyor gibi görünmektedir. Bu sonuçlar D5 reseptörleri tarafından renalazın anormal düzenlenmesinin hipertansiyon patogenezinde yer alabileceğini ortaya koymaktadır (120).

### 2.12.3. Bir Sitokin Olarak Renalazın Enzim Aktivitesinden Bağımsız

#### Fonksiyonları

Renalaz bir flavoproteindir ve insan genomu flavine bağlı proteinleri kodlayan sadece 90 gen içerir. Flavoproteinlerin çoğunluğu sitrik asit döngüsü, beta-oksidasyon ve amino asitlerin yıkılımı gibi primer metabolik yollarda oksidasyon-redüksiyon işlemlerini kataliz eden enzimlerdir. Ayrıca koenzim A, koenzim Q, hem, tiroksin ve steroidler gibi diğer esansiyel kofaktörler ve hormonların biyosentezinde de kilit rol oynarlar. Renalaz, enzimatik özelliklerinden bağımsız olarak bir sitokin gibi davranıyor görünmektedir.



**Şekil 2.8.** Renalazın Sitokin Olarak Çalışma Modeli

Ekstrasellüler renalaz, protein kinaz B'yi ve hücre dışı sinyalle düzenlenmiş kinazı aktive etmek ve hücre sağkalımını artırmak için bir plazma membran reseptörü ile etkileşime girer (120).

## **İskemik ve Toksik Akut Böbrek Hasarına Karşı Koruma Sağlayan Molekül Olarak Renalaz**

Renal iskemi reperfüzyonuna maruz bırakılan renalazı eksik farelerde, doğal renalazı olanlara göre (wild-type) ciddi oranda kötü renal hasar gelişmiştir. Rekombinant renalaz verilmesi doğal renalazı olan farelerde iskemik akut böbrek hasarını (AKI) iyileştirmiştir. Doğal tipe kıyasla, renalazı eksik olan farelerdeki iskemik AKI son derece ciddi renal tübüler nekroz, enflamasyon ve apoptozise neden olmuştur. Renal iskemik reperfüzyonuna maruz kalan farelerde, sham operasyonu olmuş farelere göre böbrek ve plazma renalaz seviyeleri oldukça düşmüş ve katekolamin seviyeleri yükselmiştir.

Renalaz, sisplatin nedenli toksik AKI'de de koruyucudur. Sisplatin ile 3 günlük tedavi sonrası plazma kreatinininin, renalazı eksik olan farelerde diğerlerine göre oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir. Renalazı eksik farelerde ciddi oranda renal histolojik hasarın geliştiği; ciddi akut tübüler nekroz görüldüğü, apoptozis ve makrofaj infiltrasyon derecesinin arttığı rapor edilmiştir (120).

### **Organ Hasarına Karşı Koruyucu Bir Molekül Olarak Renalaz**

Enzimatik özelliklerinden bağımsız olarak renalaz, reseptör aracılı, sağ kalım öncesi (prosurvival); protein kinaz B (AKT), hücre dışı sinyalin düzenlediği kinaz, p38 mitojenin aktifleştirdiği kinaz, beta-hücresi lenfoma 2'nin aktivasyonu ve c-Jun N-terminal kinaz inhibisyonunu kapsayan bir dizi uyarı (sinyal) işlemini aktive eder. Renalaz molekülünün sitoprotektif faaliyete aracılık ettiği anahtar bölge de tanımlanmıştır. Bu bölgeden kökenlenen peptidler (yaklaşık 20-24 aminoasitlik, RP-220 ve RPH 220) MAPK aracılığıyla hızla sinyal verir ve sisplatine maruz kalan hücrede renalazın koruyucu etkisinin tam anlamıyla taklit ederler. Ayrıca, sisplatinle tedavi görmüş veya iskemik AKI'ya maruz kalmış farelerde renal hasarı önemli oranda iyileştirmiştir. RP-220 ve RP-H220 verilmesinin serum kreatinini düşürdüğü, tübüler hasarı, apoptozisi, nekrozu ve enflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (120).

## **Renalaz Peptidlerinin Mitojenin Aktifleştirdiği Protein Kinaz Aktivasyonu İle İlişki Gösteren Koruyucu Etkisi**

Renalaz peptidlerinin fareleri AKI'ya karşı korumada rekombinant renalaz olarak eşit derecede etkin olduğu bulgusu bizi renalazın enzimatik aktivitesiyle ilişkili olmayan mekanizmaların araştırılmasına yöneltmiştir. ERK ve AKT sinyalinin (uyarımının) kimyasal inhibisyonunun peptidin koruyucu faaliyetini tamamen iptal ettiği gösterilmiştir. Bu, renalazın iskemik AKI'da koruyucu etkisine en azından kısmen ERK/2 ve fosfatidilinositol-4,5-bifosfat3-kinaz veya AKT sinyalinin aracılık ettiğini ortaya koymaktadır.

Bu yeni bulgular ~4 mikrogram/ml lik plazma konsantrasyonunda bir dimer olarak dolaşımda bulunan renalazın AKT ve MAPK yolları aracılığıyla sinyal oluşturmak için bir membran reseptörüyle ilişkiye geçtiğini kanıtlamaktadır. Bu sinyal dizisi renalaz ve renalaz peptidlerinin sitoprotektif faaliyetleri için önemlidir (120).

### **2.12.4. Renalaz Tek Nükleotid Polimorfizmleri İle İlişkilendirilmiş**

#### **Hastalıklar**

Bir popülasyonda mevcut olan genetik çeşitlilikler polimorfizm olarak adlandırılır ve bu doğal farklılıklar kuşaktan kuşağa aktarılır. Polimorfizmlerin yaklaşık %90'ını oluşturan ve insan genomunun çeşitliliğinin etkeni olan tek nükleotid polimorfizmleri (TNP) çoğunlukla DNA'nın kodlanmayan bölgelerinde yer alır. Bu nükleotid değişikliklerinin büyük bir kısmı zararsız olmakla birlikte bazıları, kimi hastalıklar için risk oluşturabilir ya da kimi hastalıklar için ise koruyucu bir faktör olarak görev yapabilir.

Renalaz ~310 kb'lık bir gen dizisidir ve birçok TNP içerir. Bazı renalaz TNP'lerinin kronik böbrek hastalığı, kalp hastalığı, diyabet, inme ve hipertansiyon gibi bazı hastalıklarla ilişkisi vardır (130).

### **Hipertansiyon**

2586 Çinli birey ile gerçekleştirilen çalışmada *RNLS* geninde bulunan iki TNP'nin (TNP'ler; rs2576178 GG ve rs2296545 CC genotipleri) hipertansiyon ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (kan basıncı  $\geq 160/100$  mmHg). Yaş, cinsiyet, beden kitle indeksi, glukoz, lipidler, renal fonksiyon, sigara ve alkol tüketimi için ayarlama yapıldığında bu iki TNP'nin hipertansiyon riskinde artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (tahmini risk oranı, rs2576178 GG için OR=1.58; rs2296545 CC için OR= 1.61) (18).

892 Tip 2 diyabet hastası ile yapılan çalışmada rs2296545 TNP'si için C alelinin yaş, cinsiyet, beden kitle indeksi ve lipid profili gibi belirteçler göz önüne alındığında hipertansiyonla ilişkisi belirlenmiştir (OR = 2.58, P = 0.009) (19).

Koroner hastalığa sahip bireylerle yapılan çalışmada, renalaz TNP'leri ve kan basınç düzeyi arasında ilişki bulunamamıştır (17).

Genel kanı, bu polimorfizmlerin hipertansiyon riskinde artışa neden olduğu yönündedir (15).

### **Koroner Hastalıklar, Sol Ventriküler Morfolojisi ve Fonksiyonu**

Renalaz TNP'leri ve kardiyak hastalıklar arasındaki ilişki de araştırılmıştır. Diğer genotiplerle karşılaştırıldığında rs2296545 CC genotipi (Glu37Asp, 590 vakasının 184'ünde tespit edilmiştir) yüksek sol ventriküler kütle indeksi (95.4'e karşılık 90.0 g/m<sup>2</sup>, P = 0.01), düşük sol ventriküler ejeksiyon fraksiyonu (60.7'ye karşılık 63%, P = 0.01) ve düşük egzersiz kapasitesi (6.2'ye karşılık 7.2 metabolik denkliğinde, P = 0.0003) ile ilişkilendirilmiştir. Ek olarak rs2296545 CC genotipine sahip bireylerde artmış sol ventriküler hipertrofi, [OR = 1.43, (95% CI) 0.99–2.06; P = 0.06], sistolik disfonksiyon (OR = 1.72, 95% CI 1.01–2.94; P = 0.05), diastolik disfonksiyon (OR = 1.75, 95% CI 1.05–2.93; P = 0.03), zayıf egzersiz kapasitesi (OR = 1.61, 95% CI 1.05–2.47; P = 0.03) ve indüklenmiş miyokardial iskemi (OR = 1.49, 95% CI 0.99–2.24; P = 0.06) görülmüştür. TNP rs2296545 CC genotipi, renalazın FAD bağlanma domeyninde 37. pozisyonda korunmuş aminoasit değişimi ile sonuçlanır (glutamik asit-aspartik asit). Bu nedenle bu TNP'nin enzimin

fonksiyonunda değişime neden olduğu, bunun da katekolamin yıkımında düşüşle sonuçlandığı, düşük fonksiyon ve sol ventriküler hipertrofi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada bu polimorfizm ve renalaz düzeyi arasında ilişki bulunamamıştır. Yüksek hipertansiyon prevalansı (~%65) ve hipertansiyonun agresif yönetimi gibi çeşitli olası nedenler mümkündür (Ortalama BP 131/73 mmHg) (17).

### **Tip 1 Diabet**

Tip 1 diabet ile insan lökosit antijeni (HLA) bölgesindeki polimorfizmler arasında güçlü bir ilişki vardır ki bu hastalık için immün temele işaret eder. Gerçekleştirilen genom çapında ilişkilendirme çalışmasında yaklaşık 42 lokusun diyabet riskini etkilediği bulunmuş ve daha da önemlisi 18 yeni lokus tanımlanmıştır. Bu yeni bölgeler arasındaki ilişki için en güçlü kanıt *RNLS* geninde yer alan rs10509540'ta ulaşılmıştır. Yapılan başka bir çalışmada tip 1 diyabetle ilişkili bölgelere, istatistiki bir kolokalizasyon testi uygulanmış ve renalazın, otoimmün pankreas beta hücresi hasarındaki potansiyel rolü doğrulanmıştır. Renalaz T lenfositlerce de üretilir ve Tip 1 diyabet gelişmesindeki rolünün altında yatan mekanizmalar araştırılmalıdır (120).

### **İskemik İnme**

Renalaz ve inme arasındaki ilişki ilk olarak tip 2 diyabet hastalarında renalaz TNP'lerini araştırmak üzere dizayn edilmiş bir çalışmada belirtilmiştir. İnme geçirmiş hipertansif hastaların %66'sı rs10887800 polimorfizmi için GG homozigot bulunmuştur. Bu ilişki diyabeti olmayan 130 inme hastasından ibaret bir kohort çalışmasında doğrulanmıştır. rs10887800 polimorfizmi için G alelinin inme riski artmış hastaları tanımlamada faydalı olabileceği düşünülmüştür. Bir başka çalışmada, serum renalazı inme öyküsü olan hemodializ hastalarında, inme geçirmemiş olanlara göre oldukça düşük bulunmuştur.

Renalaz TNP'leri ve kafa içi serebral aterosklerotik damar stenozunun şiddeti arasındaki ilişki Kuzey Çin Han popülasyonundaki 212 iskemik inme hastası ile 244 sağlıklı kontrol deneğinden ibaret bir çalışmada araştırılmıştır. *RNLS* genindeki TNP

rs10887800'in ciddi kafa içi serebral aterosklerotik damar stenozuna eşlik ettiği gösterilmiştir.

Benzer sonuçlar farklı bir Çin Han popülasyonu kohortunda da elde edilmiştir. 507 iskemik inme hastası ve 503 cinsiyet uyumlu kontrol deneklerinde, rs10887800 ve rs25761778 TNP'lerinin iskemik inme ve hipertansiyona ciddi oranda eşlik ettiği bulunmuştur. Tümüyle düşündüğümüzde bu çalışmalar; renalazın, iskemik inmenin patogeneğinde yer alabileceğini ortaya koymaktadır. Spesifik mekanizma bilinmemektedir; ama renalaz, kan basıncının düzenlenmesi ve endotel disfonksiyonundaki rolüyle ilişkili olabilir (120).

### **Organ Nakli**

Plazma ve idrar renalaz seviyeleri, aktivitelerinin zamana bağlı seyri, böbrek transplantasyonu olan son dönem renal hastalığa sahip 26 bireyde 90 güne kadar çalışılmıştır. Nakilden 2 hafta ve 3 ayda sonraki periyotlarda kreatinin, epinefrin ve renalaz önemli derecede azalmasına rağmen, renalaz seviyeleri nakilden 3 ay sonra kontrollerde, seviyenin yaklaşık 3 katı üzerinde kaldı ki, bu renalaz seviyeleri ve renal fonksiyon ile plazma epinefrini arasında bağlantı olmadığını belirtmiştir. Renalazın bir sitokin gibi hareket ettiği düşünüldüğünde, plazmadaki renalaz sekresyonunun düzenlenmesinde yer alan diğer sinyalleri tanımlamak önemli olacaktır (120).

Çalışmamızda incelenecek polimorfizmlerden biri olan, gen üzerinde ekzon 2 bölgesinde yer alan Glu37Asp polimorfizmi (rs2296545) flavin-adenin dinükleotit bağlanma bölgesinde bulunmakta olup, gen ürününün fonksiyonunu etkileyebilecek bir amino asit değişikliğine (Glu37Asp) neden olmaktadır. Değerlendirilecek diğer iki polimorfizmden biri genin 5' bölgesinde (rs2576178), diğeri ise ekzon-intron sınırında (rs10887800) yer almaktadır ve bu iki polimorfizmin genin ifadesini ve regülasyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir (19).

Özetle, yapılan çalışmalar ile renalaz TNP'leri (rs2576178 ve rs2296545) ile esansiyel HT, koroner hastalıklar, sol ventrikül kitle ve fonksiyonları arasında (17-19); tek nükleotid polimorfizmi (rs10887800) ile inme riski arasında, serum renalaz düzeyleri ile sistolik kan basıncı, serum kreatinin düzeyleri, eGFR, insulin rezistansı,



katekolamin düzeyleri, serum BUN düzeyleri, serum ürik asit düzeyleri, KBH evresi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (19, 20).

Bu amaçla, daha önce yapılan çalışmalardan renalaz geninin fonksiyonel bölgelerinde yer aldığı varsayılan TNP'ler (rs2576178, rs2296545, rs10887800) ile renalaz kan düzeyi planlanan çalışma kapsamında, diyabetik hastalarda ve kontrol gruplarında incelenecektir. Diyabetik hastalarda diyabetik nefropati progresyonu ile renalaz gen polimorfizminin ve kan düzeyinin ilişkisi ortaya konulmaya çalışılacaktır.



### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Etik Kurul Onayı Bilgileri

Bu tez çalışması 15.01.2015 tarihinde 80558721/51 numarası ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından değerlendirmeye alınarak yazılı olarak onaylanmıştır. Çalışma Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun olarak tamamlanmıştır.

#### 3.2. Klinik Çalışmalar

##### 3.2.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Çalışmaya Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı / Nefroloji-Endokrinoloji Bilim Dallarında takip ve tedavi görmekte olan hastalar ve kontrol amaçlı başvuran sağlıklı gönüllüler dahil edilmiştir. Oluşturulan beş gruba ait kriterler aşağıda belirtildiği şekildedir (Tablo 3. 1. ve Tablo 3.2).

Çalışmaya dahil edilme ve edilmeme kriterlerine uyan hastalar, çalışma hakkında bilgilendirildikten ve onamı alındıktan sonra, çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastaların diyabetik nefropati progresyonuna etki edebilecek komorbid hastalık-ilaç kullanım öyküsü-operasyon açısından sorgulamaları yapılmış, ayrıca kan şekere regülasyonu, HT regülasyonu, nefropati seyri vb. açılardan hastalara ait dosya, laboratuvar verileri taramaları gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 3.1.** Gönüllülerin Araştırmaya Dâhil Edilme Kriterleri

| 18-65 yaş aralığında, en az 10 yıldır Tip 2 DM tanısı olan, son 1 yıl içindeki ortalama HbA1c değeri > %8 olan; |   |
|---|---|
| <b>GRUPLAR</b>  | <b>KRİTERLER</b>  |
| <b>1. Normoalbuminürik</b>  | 1) Hemodiyalize girmeyen<br>2) Kreatinin <1,2 mg/dl, GFR > 60 ml/dk, Albüminüri <30 mg/gün            |
| <b>2. Mikroalbuminürik</b>  | 1) Hemodiyalize girmeyen<br>2) Kreatinin <1,2 mg/dl, GFR > 60 ml/dk, Albüminüri; 30-300 mg/gün        |
| <b>3. Makroalbuminürik-Aşikâr Nefropatik Hastalar</b>   | 1) Kreatinin > 1,5 mg/dl (diyalize giren veya girmeyen), GFR <60 ml/dk,<br>2) Albüminüri > 300 mg/gün |
| <b>4. Hastalıklı Kontrol Grubu</b>  | Non-diyabetik proteinüri-nefropatisi olan hastalar  |
| <b>5. Kontrol Grubu</b>   | Sağlıklı erişkin hastalar   |

**Tablo 3.2.** Gönüllülerin Araştırmaya Dâhil Edilmeme Kriterleri

|  |
|--|
| <b>1. Alkol ve/veya sigara kullanımı olan hastalar</b>   |
| <b>2. DM dışında bilinen yapısal ya da fonksiyonel böbrek hastalığı öyküsü olan hastalar (PKBH, geçirilmiş veya aktif GN*, soliter böbrek vb.)</b> |
| <b>3. Kalp yetmezliği (NYHA Evre III-IV) olan hastalar</b>   |
| <b>4. BMI &gt; 30 olan hastalar</b>  |
| <b>5. Sekonder hipertansiyonu olan hastalar (OSAS, Cushing hastalığı, Renovasküler HT, Feo. vb.)</b>   |
| <b>6. Kendi isteği ile çalışmaya dâhil olmak istemeyen hastalar çalışma kapsamı dışında bırakılacaktır.</b>  |

\*GN'li hastalar hastalıklı kontrol grubuna dahil edilmiştir.

### 3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması

Oluşturulan hasta gruplarına ve kontrol grubuna ait kan örnekleri Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı / Nefroloji-Endokrinoloji Bilim Dalları'nda takip ve tedavi görmekte olan hastalar ve kontrol amaçlı başvuran sağlıklı gönüllülerden etik kurallar çerçevesinde toplanmıştır. Çalışmaya Normoalbuminürik: 74, Mikroalbuminürik: 28, Aşikâr nefropatik: 52, Hastalıklı kontrol: 48, Sağlıklı kontrol: 50 hasta dahil edilmiştir. Moleküler analizler için örnekler, etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren tüplere alınmış olup +4°C'de saklanmıştır. Biyokimyasal analiz yapılacak kan örnekleri separatör jel içeren silikon kaplı tüplere alınarak -80°C'de saklanmıştır.

### 3.3. Laboratuvar Çalışmaları

#### 3.3.1. Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Çalışmaya dahil edilen gruplardaki gönüllülere ait kan örneklerinden DNA izolasyonu üretici firma talimatlarına göre gerçekleştirilmiştir (PureLink Genomic DNA Mini Kit, Life technologies K182002). İzlenen protokol aşağıda verilmiştir.

1. Çalışmaya başlamadan ısı tablası 55 °C'ye ayarlanmıştır.
2. Steril mikrosantrifüj tüpüne 20 µl Proteinaz K eklenmiştir.
3. Proteinaz K içeren tüpe 200 µl kan örneği eklenmiştir.
4. Örnek üzerine 20 µl RNaz A eklenmiş, kısaca vortekslenerek karıştırılmış ve karışım oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilmiştir.
5. Karışıma 200 µl PureLink™ Genomic Lysis/Binding Buffer eklenmiş ve karışım vortekslenerek homojen solusyon elde edilmiştir.
6. Karışım, protein parçalanmasını başlatmak üzere 55°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
7. Lizat üzerine 200 µl 96-100% etanol eklenmiş ve vortekslenerek karışım homojenize edilmiştir.

8. Yaklaşık 640 µl hacimdeki lizat, PureLink™ Spin Kolonu yerleştirilmiş 2 ml'lik toplama tüpüne aktarılmıştır.
9. 10,000×g'de 1 dakika santrifüj edilmiş, filtrat atılmış, kolon temiz tüpe aktarılmıştır.
10. Kolona 500 µl Wash Buffer 1 eklenmiştir.
11. 10,000×g'de 1 dakika santrifüj edilmiş, filtrat atılmış, kolon temiz tüpe aktarılmıştır.
12. Kolona 500 µl Wash Buffer 2 eklenmiştir.
13. Maksimum hızda 3 dakika santrifüj edilmiş, filtrat atılmış, kolon steril 1.5 ml'lik ependorf tüpe yerleştirilmiştir.
14. Kolon üzerine 100 µl PureLink™ Genomic Elution Buffer eklenmiştir. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilmiş ve maksimum hızda 1 dakika santrifigasyon gerçekleştirilmiştir.
15. Kolon uzaklaştırılmış ve elde edilen genomik DNA -20°C'de saklanmıştır.

### **3.3.2. İzole Edilen Genomik DNA'nın Spektrofotometrik Ölçümü**

Hasta ve kontrol gruplarına dahil bireylerin kanlarından izole edilen genomik DNA örnekleri "PeQLab Biotechnologie GmbH" ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

### **3.3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

Herhangi bir DNA parçasının hücre dışında kısa bir sürede çoğaltılmasını sağlayan bir tekniktir. Bu teknik çoğaltılacak DNA'nın bir DNA polimeraz, nükleotidler ve DNA sentezinde öncülük edecek tek zincirli sentetik kısa DNA parçaları ile aynı tüpte farklı sıcaklıklarda inkübe edilmesi temelinde çalışır.

PZR üç temel basamaktan oluşur. Prensip olarak üretilecek ürün miktarı da bu temel basamakların sayısına bağlıdır.

- ✓ İlk basamakta çoğaltılacak DNA sarmalının açılarak tek zincirli hale getirilmesi sağlanır.
- ✓ İkinci basamakta primerlerin tek zincirli DNA üzerinde kendilerine özgül olan diziye bağlanması sağlanır.
- ✓ Üçüncü ve final basamakta ise hedef DNA bölgesinin çoğaltılması için polimeraz enziminin çalışması sağlanmaktadır.

Üç basamağın tamamına bir döngü denilmektedir, döngü sonunda tek bir çift zincirli DNA'dan iki adet çift zincirli DNA üretilmiş olur ve çoğaltım primerler ile kısıtlanmış bölge ile sınırlıdır. Aynı zamanda her bir döngüde üretilen DNA bir sonraki basamak için kalıp görevi görür. Böylece her bir döngü sonunda bir önceki döngüde elde edilen DNA miktarının yaklaşık iki katı kadar DNA'ya ulaşılır.

### ***RNLS* rs2576178 (-451 G/A) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir**

#### **Reaksiyonu ile Çoğaltılması**

*RNLS* geninin -451. pozisyonunda 5'UTR bölgesinde yerleşim gösteren rs2576178 polimorfizminin, oluşturulan gruplarda alelik varyasyonunun belirlenmesi amacıyla, polimorfizmi içine alan 525 bç'lik bir bölge uygun primerler kullanılarak çoğaltılmıştır (Tablo 3.3). Primerlerin ve polimorfizmin bölgedeki yerleşimi Şekil 3.1'de verilmiştir.

İlgili bölgenin çoğaltımı için gerekli koşulları sağlayan PZR karışımı aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır (Tablo 3.4).

**Tablo 3.3.** RNLS Geninin Rs2576178 (-451 G/A) Polimorfik Bölgesinin  
Çoğaltılması İçin Kullanılan Primerler

| Kullanılacak Primer Çiftleri | 5'-3' dizileri   | Ürün boyutu |
|------------------------------|--|-------------|
| İleri primer<br>Geri primer  | 5'-AGCAGAGAAGCAGCTTAACCT-3'<br>5'-TTATCTGCAAGTCAGCGTAAC-3' | 525 bp      |

AGCAGAGAAGCAGCTTAACCTATCTACTGCGATAACTCTCATGCCTGTTG  
GGATTTTGGCTGTTTTACTATTCTAGATTTGAAAGTGGGAAGAAGAATTT  
ACCGGCGATACCACGGGCAACCTTTCCTCTAATGCTTGAACGGCCACTAT  
TAGCATAATAGAAACATCTTTTGGAACTCTGGGAGACATTTTTCTTAGACC  
TGGGACTTTGTGTAACCTTCCTGAACCTCAATTTCTCCATCTGGGAAATG  
GAAACAATAACGTATACCTTTCAACTTGTAAGATTAAAGACAGTTGAT  
TCATCAGAAAATTCCAAATTACTCTTCAATAAGTTCTATGTCAGAACGCA  
TTCCGTATGTTCTAAGGAATATAAAGATGAACAACAAGAGAAGGATTGG  
TGCCATTGCCGTTGTTTTTTTCCCCCTCCTGACATTGTAAGTTCTC  
AATGAAACAACAAGGCAATGGTAATACTGAACTATTAATAAACAATA  
ATTAAGTTACGCTGACTTGCAGATAA

**Şekil 3.1.** RNLS geninin rs2576178 (-451 G/A) polimorfik bölgesini içeren nükleotid dizisi (Dizayn edilen ileri ve geri primerler sarı ile, *MspI* (C<sup>^</sup>CGG) enzimi tarafından tanınacak polimorfik bölge kırmızı ile işaretlenmiştir).

**Tablo 3.4.** İlgili Bölgenin Çoğaltımını Gerçekleştirmek Üzere Belirlenen Reaksiyon Bileşen Miktarları

| Reaksiyon Bileşenleri                |              |
|--------------------------------------|--------------|
| Kalıp DNA (10 ng/ µl)                | 5 µl         |
| 10X Standart PZR Tamponu             | 5 µl         |
| 25 mM MgCl <sub>2</sub>              | 4 µl         |
| 0.25 mM dNTP karışımı                | 0.25 µl      |
| İleri primer (F) (10 pmol/ µl)       | 5 µl         |
| Geri primer (R) (10 pmol/ µl)        | 5 µl         |
| Taq DNA polimeraz (5 Ünite (U) / µl) | 0.2 µl       |
| Steril distile H <sub>2</sub> O      | 25.55 µl     |
| <b>Toplam Hacim</b>                  | <b>50 µl</b> |

Optimize edilen PZR döngü koşulu aşağıda verilmiştir.

|           |            |
|-----------|------------|
| 94 °C 2'  | 1 döngü    |
| 94°C 30 " | } 35 döngü |
| 55 °C 30" |            |
| 72 °C 1'  |            |
| 72 °C 7'  | 1 döngü    |



### **RNLS rs10887800 (A/G) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması**

RNLS geninin intron 6 bölgesinde yerleşim gösteren rs10887800 (A/G) polimorfizminin, oluşturulan gruplarda alelik varyasyonunun belirlenmesi amacıyla, polimorfizmi içine alan 554 bp'lik bir bölge uygun primerler kullanılarak çoğaltılmıştır (Tablo 3.5). Primerlerin ve polimorfizmin bölgedeki yerleşimi Şekil 3.2.'de verilmiştir.

İlgili bölgenin çoğaltımı için gerekli koşulları sağlayan PZR karışımı aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır (Tablo 3.6).

**Tablo 3.5.** RNLS Geninin Rs10887800 (A/G) Polimorfik Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primerler

| <b>Kullanılacak Primer Çiftleri</b> | <b>5'-3' dizileri</b>                                    | <b>Ürün boyutu</b> |
|-------------------------------------|--|--------------------|
| İleri primer<br>Geri primer         | 5'-CAGGAAAGAAAGAGTTGACAT-3'<br>5'-AAGTTGTTCCAGCTACTGT-3' | 554 bp             |

**CAGGAAAGAAAGAGTTGACAT**AAGCCACTTACTCACTATGTGCCCGCTTA  
ACCTCTTTACATTTTCAGGTTTTTTTTTTTTTTTAAATGAGAATAAGTTAGTA  
GCCACCACTTTTTTTTTTTTAAATGAGAATAAGTTAGTAGCCACCACATAGG  
TCTATGATGTGCATTAAATAACATAGTACACATGAAATACTCAGCACAGT  
TTCTGACACAGAATAGGTGCTTAATAAATCTAAGCTATGGGAATGGAAG  
CAATAAGCCAGAGACACGCGTAAAGCTTCCTCAGTGTTGCCTAAATTATA  
GGTGTGAGTCATGTTTTGTGAAAGTACTTCATTTTTCTTTGCACTCAGCA  
CAAGGAACCCTGGTTTATGAATTTTATGGCAAACACAAGAGAAGAGAG  
TCCCAACATGCTGCA**A**ACTTTTTAAAGTGAAGTGAATGCTTCCAAGGAGT  
TTCACATATACGAGGTGAGGGACCTGAATTCAGAATTTGTGCAGTAAATG  
CAATGGTAAGCTGGGCTGTACAGTATTTTCACCTC**ACAGTAGCTGGAACA**  
**ACTT**

**Şekil 3.2.** RNLS geninin rs10887800 (A/G) polimorfik bölgesini içeren nükleotit

dizisi (Dizayn edilen ileri ve geri primerler sarı ile, *Pst* I (CTGCA<sup>^</sup>G)

enzimi tarafından tanınacak polimorfik bölge kırmızı ile işaretlenmiştir).

**Tablo 3.6.** İlgili Bölgenin Çoğaltımını Gerçekleştirmek Üzere Belirlenen Reaksiyon Bileşen Miktarları

| <b>Reaksiyon Bileşenleri</b>         |              |
|--------------------------------------|--------------|
| Kalıp DNA (10 ng/ µl)                | 5 µl         |
| 10X Standart PZR Tamponu             | 5 µl         |
| 25 mM MgCl <sub>2</sub>              | 4 µl         |
| 0.25 mM dNTP karışımı                | 0.25 µl      |
| İleri primer (F) (10 pmol/ µl)       | 5 µl         |
| Geri primer (R) (10 pmol/ µl)        | 5 µl         |
| Taq DNA polimeraz (5 Ünite (U) / µl) | 0.2 µl       |
| Steril distile H <sub>2</sub> O      | 25.55 µl     |
| <b>Toplam Hacim</b>                  | <b>50 µl</b> |

Optimize edilen PZR döngü koşulu aşağıda verilmiştir.

|           |            |
|-----------|------------|
| 94 °C 2'  | 1 döngü    |
| 94°C 30"  | } 35 döngü |
| 55 °C 30" |            |
| 72 °C 1'  |            |
| 72 °C 7'  | 1 döngü    |

**RNLS rs2296545 (+111 C/G) (Glu37Asp) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması**

RNLS geninin +111. pozisyonunda yerleşim gösteren ve kodlanan bölgede 37.pozisyonda glutamik asit-aspartik asit dönüşümüne neden olan rs2296545 polimorfizminin, oluşturulan gruplarda alelik varyasyonunun belirlenmesi amacıyla, polimorfizmi içine alan 209 bç'lik bir bölge uygun primerler kullanılarak çoğaltılmıştır (Tablo 3.7). Primerlerin ve polimorfizmin bölgedeki yerleşimi Şekil 3.3'de verilmiştir.

İlgili bölgenin çoğaltımı için gerekli koşulları sağlayan PZR karışımı aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır (Tablo 3.8)

**Tablo 3.7.** RNLS Geninin Rs2296545 (+111 C/G) Polimorfik Bölgesinin Çoğaltılması İçin Kullanılan Primerler

| Kullanılacak Primer Çiftleri | 5'-3' dizileri   | Ürün boyutu |
|------------------------------|--|-------------|
| İleri primer<br>Geri primer  | 5'-GGAAGTCCCCGATCACGTGAC -3'<br>5'-TGCTGTGTGGGACAAGGCTGA -3' | 209 bp      |

**GGAAGTCCCCGATCACGTGAC**GAGGCGCGCCACTCGGCGCATGGGCCGC  
GCTACACGGCCGCTCAGGGAGCTGAGGGTATAGCGTTTTTCGCCTTAGACT  
TTCTTGGGTGCAGGCCACACCACCTCAGCAGCCTGCCCCGCAGTCCTCT  
TTCCCAGGTTTTGGCGTTTAGACAACCCACCTGAGTC**CTCAGCCTTGTC**  
**CACACAGCA**

**Şekil 3.3.** RNLS geninin rs2296545 (+111 C/G) polimorfik bölgesini içeren nükleotit

dizisi (Dizayn edilen ileri ve geri primerler sarı ile, *BbvCI* (CC<sup>^</sup>TCAGC)

enzimi tarafından tanınacak polimorfik bölge kırmızı ile işaretlenmiştir).

**Tablo 3.8.** İlgili Bölgenin Çoğaltımını Gerçekleştirmek Üzere Belirlenen Reaksiyon Bileşen Miktarları

| <b>Reaksiyon Bileşenleri</b>         |              |
|--------------------------------------|--------------|
| Kalıp DNA (10 ng/μl)                 | 5 μl         |
| 10X Standart PZR Tamponu             | 5 μl         |
| 25 mM MgCl <sub>2</sub>              | 4 μl         |
| 0.25 mM dNTP karışımı                | 0.25 μl      |
| İleri primer (F) (10 pmol/ μl)       | 5 μl         |
| Geri primer (R) (10 pmol/ μl)        | 5 μl         |
| Taq DNA polimeraz (5 Ünite (U) / μl) | 0.2 μl       |
| Steril distile H <sub>2</sub> O      | 25.55 μl     |
| <b>Toplam Hacim</b>                  | <b>50 μl</b> |

Optimize edilen PZR döngü koşulu aşağıda verilmiştir.

|           |            |
|-----------|------------|
| 94 °C 2'  | 1 döngü    |
| 94°C 30"  | } 35 döngü |
| 60 °C 30" |            |
| 72 °C 1'  |            |
| 72 °C 7'  | 1 döngü    |

### PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrez İle Kontrolü

Reaksiyonlar sonucunda elde edilen ilgili polimorfizmlerin çalışılması amacıyla kullanılacak olan PZR ürünleri agaroz jelde kontrol edilmiştir.

Agaroz jel elektrofrez DNA moleküllerinin ayrımı, taranması ve saflaştırılması için kullanılan basit, hızlı ve yaygın bir yöntemdir. Deniz yosunundan elde edilen doğal bir koloit olan agaroz, galaktoz ve 3,6-anhidrogalaktoz ünitelerinin ardışık olarak yer aldığı agarobioz ünitelerinin tekrarlanmasından oluşan ve moleküler kütlesi yaklaşık 12.000 Da olan lineer bir polisakkarittir. Çok büyük por çapına sahiptir ve büyük moleküllerin ayrılmasında kullanılır. Oluşan por çapları tamponda çözülen agaroz miktarına göre değişmektedir. Tampon hem jelin hazırlanmasında hem de hareketli faz olarak elektrofrez sırasında elektriksel alanın oluşturulmasında kullanılır. Tamponun iyonik gücü elektrofrezin hareket hızını da etkiler. Örnekler agaroz jelde tarak adı verilen aparat ile oluşturulan kuyucuklara yükleme tamponu ile yüklenir. Yükleme tamponu karışımı görünür hale getirir aynı zamanda, örneğin tamponda çözülmesini engelleyerek kuyucuğa çökmesini sağlar. Yükleme sürecini takiben elektrofretik süreç başlatılır ve görüntüleme yapılır.

Reaksiyonlar sonucunda elde edilen ilgili polimorfizmlerin çalışılması amacıyla kullanılacak olan PZR ürünleri %3 'lük agaroz jelde kontrol edilmiştir. 8 µl PZR ürünü, 2 µl yükleme boyası ile karıştırılarak hazırlanan örnekler, ürünlerin uzunluklarını belirlemek amacı ile 50-100 bp'lik belirteç ile birlikte etidyum bromür içeren jele yüklenmiş, 85 V sabit voltaj verilerek 30 dakika yürütülmüştür. Jel 300 nm dalga boyuna ayarlı UV transillüminatörde incelenmiştir. Hazırlanan çözeltilerin içerikleri Tablo 3.9'da verilmiştir.

**Tablo 3.9.** 20X TBE Tamponu ve DNA Yükleme Tamponu Hazırlık Protokolü

| 20X TBE Tamponu<br>(pH= 8.3,1L) Hazırlanışı                                    | 1 X TBE Hazırlanışı<br>(1 litre için)              | 6X Yükleme Tamponu<br>İçeriği  |
|--|--|--|
| Tris Base (1M) – 121 gr<br>Borik Asit (1 M) – 61,7 gr<br>EDTA (20Mm) – 7,44 gr | 50 ml 20 X TBE stok solüsyonu<br>950 ml distile su | %40 (w/v) sükröz çözeltisi<br>%0.25 brom fenol mavisi<br>%60 10X TBE tamponu |

### 3.3.4. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizm (RFLP)

Genotipleme ve polimorfizm çalışmalarında PZR-Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) temelli analizler geniş çapta kullanılmaktadır. PZR-RFLP analizlerinde gerçekleştirilen ilk basamak alelik varyasyonu içeren fragmentin amplifikasyonudur. Süreci takiben amplifikasyon ürünü uygun restriksiyon endonükleaz ile kesilir. Restriksiyon enziminin çoğaltılan bölgede tanıma bölgesinin varlığı ya da ortadan kaldırılmış olması farklı uzunluklarda restriksiyon ürünlerinin oluşumu ile sonuçlanır ve fragmentlerin ayrımı elektroforez ile gerçekleştirilir. Genotipleme ve polimorfik belirleme bu şekilde başarılıdır.

*RNLS* geninde yer alan rs2576178, rs10887800, rs2296545 polimorfizmlerin belirlenmesi amacıyla sırasıyla *Msp I*, *Pst I* ve *BbvCI* enzimleri kullanılmış, reaksiyon koşulları üretici firmanın önerilerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlarda kullanılan enzimlerin özellikleri Tablo 3.10'da verilmiştir. Üç enzim için kullanılan protokol Tablo 3.11'de verilmiştir.

**Tablo 3.10.** Kullanılan Restriksiyon Enzimleri ve Özellikleri

| Enzim Adı    | Tanıma Dizisi  | Tampon Çözelti   | Çalışma Sıcaklığı | Üretici Firma             |
|--------------|--|------------------|-------------------|---------------------------|
| <i>Msp I</i> | 5'...C <sup>▼</sup> CGG...3'<br>3'...GGC <sup>▲</sup> C...5'     | CutSmart® Buffer | 37 °C             | New England BioLabs (NEB) |
| <i>Pst I</i> | 5'...CTGC <sup>▲</sup> A <sup>▼</sup> G...3'<br>3'...GACGTC...5' | CutSmart® Buffer | 37 °C             | New England BioLabs (NEB) |
| <i>BbvCI</i> | 5'...C <sup>▼</sup> CTCAGC...<br>3'...GGAGT <sup>▲</sup> CG...   | CutSmart® Buffer | 37 °C             | New England BioLabs (NEB) |

**Tablo 3.11.** RFLP Analizi İçin Hazırlanan Reaksiyon Bileşen Miktarları

| <b>Reaksiyon Bileşenleri</b>    |                |
|---------------------------------|----------------|
| PZR ürünü                       | 10 µl          |
| Reaksiyon tamponu               | 3 µl           |
| Restriksiyon Enzimi             | 2 µl           |
| Steril distile H <sub>2</sub> O | 15 µl          |
| <b>Toplam hacim</b>             | <b>20 µl</b>   |
| <b>Reaksiyon süresi</b>         | <b>10 saat</b> |

Belirtilen miktarlar kullanılarak hazırlanan ve enzimlerin özelliklerine uygun şekilde inkübasyona bırakılan reaksiyon karışımları inkübasyon süresi sonunda reaksiyon 6x durdurma tamponu (%40 (w/v) sükröz çözeltisi, %0.25 brom fenol mavisi, %60 10X TBE tampon) ile durdurulmuş, kesim örnekleri %2,5'lük agaroz jel elektroforezinde yürütülerek analiz edilmiştir.

### 3.3.5. Enzim-Bağlı İmmunosorbent Analiz (ELİSA)

Biyolojik örneklerde, özgün antikorlar hedef antijenin miktarının tayininde de kullanılabilir. Bununla ilgili pek çok immünolojik yöntem mevcuttur. Enzim-bağlı immunosorbent analiz (enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA) nanogram düzeyinde protein varlığını ve miktarını çok hızlı şekilde tayin edebilir. ELISA'da özgün antikor, sabit bir yüzeye bağlanır. Bu işlemden en güvenli yol, üzerinde kuyucuklar bulunan plastik bir taşıyıcı zemin kullanmaktır ki; bu kuyucukların dibine antikor bağlanmıştır. Çalışılacak örnekler kuyucuklara eklenir. Eğer antijen varsa, antikor tarafından tanınır ve bağlanır. Ardından kuyucuklar yıkanır ve bağlanmamış proteinler uzaklaştırılır.

İkincil antikor ortama eklenerek birinci antikordan farklı bir epitopa bağlanması sağlanır. İkincil antikora bir enzim bağlanır ve renksiz ya da floresan bir hale çevirebilir. Ortamdaki rengin ya da floresan maddenin yoğunluğu ölçülerek her

örnekteki antikor miktarı saptanır. ELISA teknolojisini kullanan çok sayıda ticari kit mevcuttur. Çalışmada, Olgulardan alınan kanlarda renalaz enzim düzeyi SunRed Human (RNLS) ELISA Kit kullanılarak belirlenecektir. Kit çift-antikor sandviç yöntemi temelinde çalışmaktadır. Yöntemde hazırlanan standartlar, Human Renelase monoklonal antikor ile önceden kaplanmış kuyucuklara eklenir ve inkübasyon gerçekleştirilir. Ardından biotin işaretli, Streptavidin-HRP ile kompleks oluşturacak Renelase (RNLS) antikorunu ile inkübasyon gerçekleştirilir ve bağlanmayan antikorlar yıkama ile uzaklaştırılır. A ve B kromogen çözeltilerin eklenmesi ile solüsyon rengi önce maviye dönüşür, ardından asidite etkisiyle sarıda sabitlenir. Oluşan renk yoğunluğu ortamdaki renalaz miktarı ile pozitif korelasyon gösterecektir. Protokolün ayrıntıları aşağıda verilmiştir.

#### **Standart Dilüsyonların Hazırlanması**

Test içinde var olan orjinal standart kullanılarak kit yönergesine uygun şekilde standart dilüsyonlar hazırlanmıştır (Tablo 3.12)

**Tablo 3.12.** Standart Dilüsyonların Hazırlanması

|           |               |  |
|-----------|---------------|--|
| 400 ng/ml | Standard No.5 | 120µl Orjinal Standard +<br>120µl Standard diluent |
| 200 ng/ml | Standard No.4 | 120µl Standart No.5 +<br>120µl Standart diluent    |
| 100 ng/ml | Standard No.3 | 120µl Standart No.4 +<br>120µl Standart diluent    |
| 50 ng/ml  | Standard No.2 | 120µl Standart No.3 +<br>120µl Standart diluent    |
| 25 ng/ml  | Standard No.1 | 120µl Standart No.2 +<br>120µl Standart diluent    |



Analizi gerçekleştirmek üzere, plateler Tablo 3.13'teki yönergelere göre hazırlanmıştır.

**Tablo 3.13.** ELİSA İçin Hazırlanan Plate Özellikleri

|                         |   |
|-------------------------|---|
| <b>Kör kuyucuk</b>      | Örnek ve antikor eklenmez, yalnızca kromogen A ve B ve durdurma solüsyonu içerir ve diğer protokoller aynı şekilde uygulanır.   |
| <b>Standart kuyucuk</b> | 50 µl standart ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenir (Standart biotin antikoruna ile kombine durumdadır, antikor eklenmesine gerek yoktur).                               |
| <b>Test kuyucuk</b>     | 40 µl örnek ve ardından, 10 µl RNLS-antikor ve 50 µl Streptavidin-HRP eklenir. Plate üzeri kapama membranı ile kaplanır ve 37°C'de 1 saat çalkalanarak inkübe edilir. |

#### **Diğer basamaklar**

- Yıkama solüsyonunun hazırlanışı: 30x yıkama solüsyonu distile su ile 1x hale getirilerek kullanılır.
- Yıkama: Membran dikkatlice uzaklaştırılır. Sıvı uzaklaştırıldıktan sonra yıkama gerçekleştirilir ve kalan solüsyon da uzaklaştırılır.
- Her kuyucuğa 50µl kromogen A solüsyonu ve ardından eklenir, 50µl kromogen B solüsyonu eklenir. Nazikçe karıştırılır ve at 37°C'de 10 dakika karanlıkta inkübe edilir.
- Durdurma: Her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklenir ve reaksiyon durdurulur (Hızlı şekilde maviden sarıya renk dönüşümü gerçekleşir).

- Final ölçüm: Kör kuyucuk sıfırlama için kullanılarak, durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içerisinde 450 nm’de optik dansite ölçümü gerçekleştirilir.
- Standartların konsantrasyonu ve onlara bağımlı OD değerlerini kullanarak örneklerdeki renalaz düzeylerinin hesaplanması ilgili yazılımlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm veri analizleri IBM SPSS 21.0 paket programları ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun araştırılmasında Shapiro Wilk’s testinden yararlanıldı. Normal dağılım gösteren verilerin analizinde parametrik testlerden, normal dağılıma uymayan verilerin analizinde ise parametrik olmayan testlerden yararlanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda normal dağılıma uygun olan verilerin analizinde tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) ve normal dağılıma uygun olmayan verilerin analizinde Kruskal Wallis testleri kullanıldı. Farklı grupların belirlenmesinde POST HOC testlerden tukey (tek yönlü varyans analizi yapılan gruplar için) ve Dunn’s (Kruskal Wallis testi kullanılan gruplar için) testleri kullanıldı. Oluşturulan çapraz tabloların analizinde Pearson Exact ki kare testi kullanıldı. Değişkenler arası ilişkilerin belirlenmesinde Spearman korelasyon katsayısı (correlation coefficient) hesaplandı. Normal dağılan sürekli değişkenlerin özet değerleri ortalama  $\pm$  standard sapma (Mean $\pm$ SD), dağılmayanlar ise medyan (Q1-Q3) olarak verildi. Kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edildi. Tüm karşılaştırmalarda  $p < 0.05$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

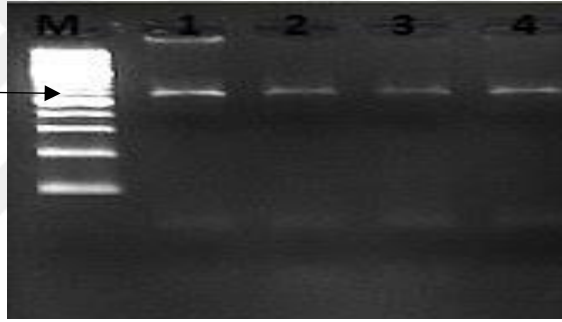
## 4. BULGULAR

### 4.1. PZR Sonuçları

#### 4.1.1. *RNLS* rs2576178 (-451 G/A) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir

##### Reaksiyonu Sonuçları

*RNLS* geninin -451. pozisyonunda 5'UTR bölgesinde yerleşim gösteren rs2576178 polimorfizmini içeren nükleotit dizisinin PZR yöntemi ile çoğaltılması sonucu elde edilen ürün, 525 bp büyüklüğünde olup bu ürünün agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 4.1.'de verilmiştir.

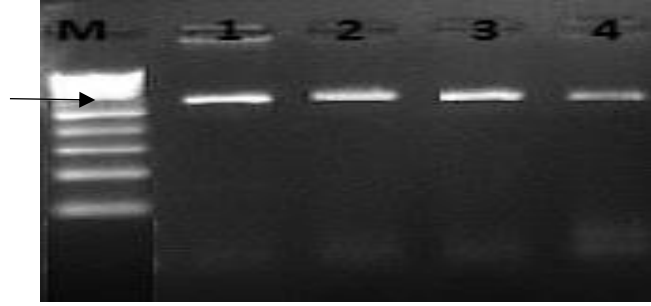


**Şekil 4.1.** *RNLS* geninin 5' UTR'ında -451. pozisyonundaki polimorfizmi (G/A) içeren 525 bp'lik bölgenin amplifikasyon sonrası agaroz jel görüntüsü (M:100 bp'lik belirteç; 1-4. kuyucuklar).

#### 4.1.2. *RNLS* rs10887800 (A/G) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir

##### Reaksiyonu Sonuçları

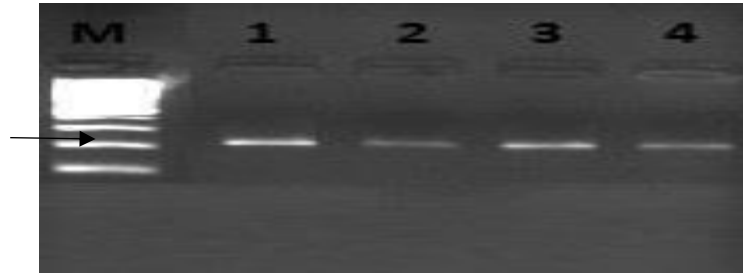
*RNLS* geninin intron 6 bölgesinde yerleşim gösteren rs10887800 (A/G) polimorfizmini içeren nükleotit dizisinin PZR yöntemi ile çoğaltılması sonucu elde edilen ürün, 554 bp büyüklüğünde olup bu ürünün agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 4.2.'de verilmiştir.



**Şekil 4.2.** *RNL5* geninin intron 6 bölgesine ait rs10887800 (A/G) polimorfizmini içeren 554 bç'lik bölgenin amplifikasyon sonrası agaroz jel görüntüsü (M: 100 bç'lik belirteç, 1-4. kuyucuklar).

#### 4.1.3. *RNL5* rs2296545 (+111 C/G) (Glu37Asp) Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları

*RNL5* geninin +111. pozisyonunda yerleşim gösteren ve kodlanan bölgede 37.pozisyonda glutamik asit-aspartik asit dönüşümüne neden olan rs2296545 polimorfizmini içeren nükleotit dizisinin PZR yöntemi ile çoğaltılması sonucu elde edilen ürün, 209 bç büyüklüğünde olup bu ürünün agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 4.3.'de verilmiştir.



**Şekil 4.3.** *RNL5* geninin 111. pozisyonunda yerleşim gösteren rs2296545 (+111 C/G) (Glu37Asp) polimorfizmini içeren 209 bç'lik bölgenin amplifikasyon sonrası agaroz jel görüntüsü (M:100 bç'lik belirteç, 1-4.Kuyucuklar).

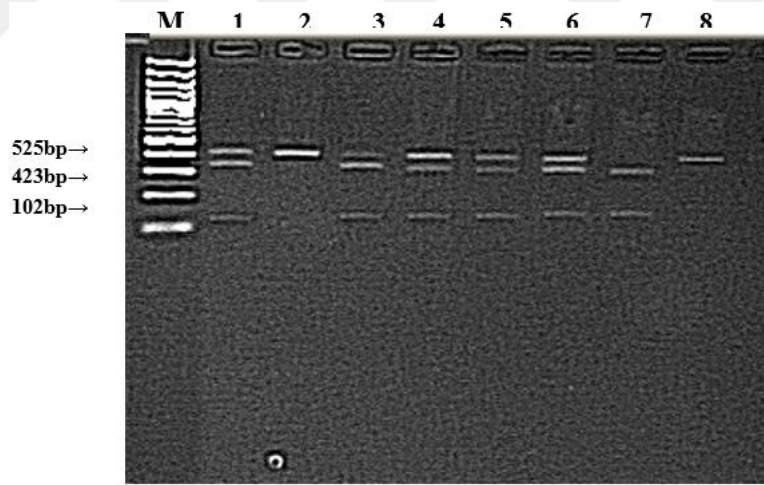
## 4.2. RFLP Sonuçları

### 4.2.1. *RNLS* rs2576178 Polimorfizminin Belirlenmesi İçin

#### Gerçekleştirilen Restriksiyon Enzim Kesimi Sonuçları

*RNLS* geninin -451.pozisyonunda görülen (G/A) polimorfizmini belirlemek amacıyla *Msp I* restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılarak Tablo 3.11 'de verilenlere göre reaksiyon gerçekleştirilmiştir.

PZR ile elde edilen 525 bç'lik hedef gen bölgesi restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu bölgede guanin bulunduran dizi *Msp I* kesim noktası taşımaktadır (Şekil 3.1). Guanin nükleotidinden adenin nükleotidine değişim gösteren homozigot bireylerde (AA) 525 bç'lik tek bant, heterozigot bireylerde 525 bç, 423 bç, 102 bç'lik üç bant, tanıma bölgesinde guanin bulunduran bireylerde 423 bç, 102 bç'lik iki bant elde edilmiştir (Şekil 4.4).



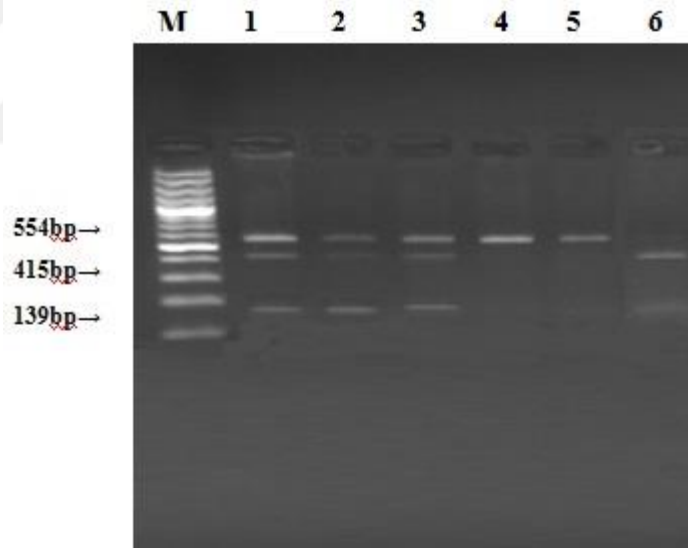
**Şekil 4.4.** *RNLS* (-451 G/A) polimorfizmi *Msp I* kesim sonuçlarının agaroz jelde gösterimi. M – Marker (100 bç'lik). 1,3,4,5,6 nolu kuyular; heterozigot GA genotipi (525-423-102 bç'lik bantlar), 2,8 nolu kuyucuklar; homozigot AA genotipi (525 bç'lik bant), 7 nolu kuyucuk homozigot GG genotipi (423-102 bç'lik bantlar).

#### 4.2.2. *RNLS* rs10887800 Polimorfizminin Belirlenmesi İçin

##### Gerçekleştirilen Restriksiyon Enzim Kesimi Sonuçları

*RNLS* geninin intron 6 bölgesinde yerleşim gösteren rs10887800 (A/G) polimorfizmini belirlemek amacıyla *Pst* I restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılarak Tablo 3.11 'de verilenlere göre reaksiyon gerçekleştirilmiştir.

PZR ile elde edilen 554 bç'lik hedef gen bölgesi restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu bölgede adenin bulunduran dizi *Pst* I kesim noktası bulundurmamaktadır (Şekil 3.2). Adenin nükleotidinden guanin nükleotidine değişim gerçekleşmesi kesim bölgesini ortaya çıkarmaktadır. Homozigot bireylerde (AA) 554 bç'lik tek bant, heterozigot bireylerde 554 bç, 415 bç, 139 bç'lik üç bant, tanıma bölgesinde guanin bulunduran bireylerde (GG) 415 bç,139 bç'lik iki bant elde edilmiştir (Şekil 4.5).



**Şekil 4.5.** *RNLS* rs10887800 (A/G) polimorfizmi *Pst* I kesim sonuçlarının agaroz

jelde gösterimi. M – Marker (100 bç'lik). 1,2,3 nolu kuyular; heterozigot

AG genotipi (554-415-139 bç'lik bantlar), 4,5 nolu kuyucuklar;

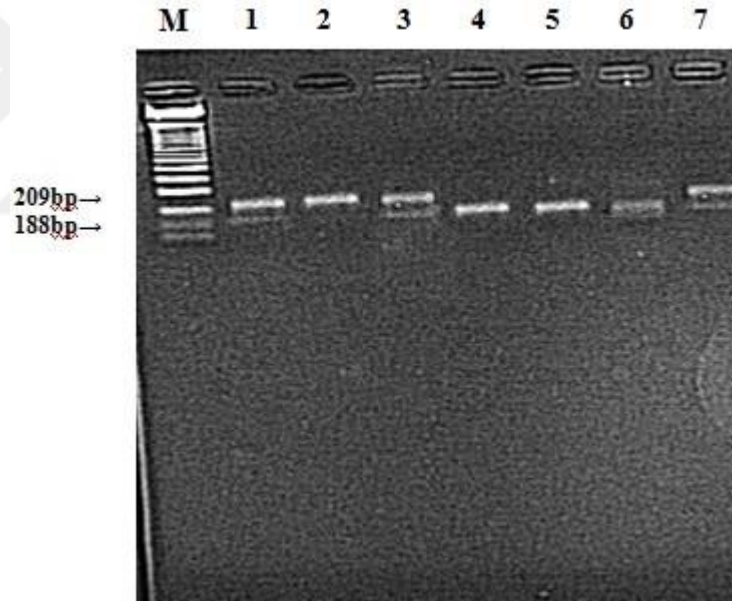
homozigot AA genotipi (554 bç'lik bant), 6 nolu kuyucuk; homozigot

mutant GG genotipi (415-139 bç'lik bantlar).

### 4.2.3. *RNLS* rs2296545 Polimorfizminin Belirlenmesi İçin

#### Gerçekleştirilen Restriksiyon Enzim Kesimi Sonuçları

*RNLS* geninin +111. pozisyonunda görülen (C/G) polimorfizmini belirlemek amacıyla *BbvCI* restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılarak Tablo 3.11’de verilenlere göre reaksiyon gerçekleştirilmiştir. PZR ile elde edilen 209 bç’lik hedef gen bölgesi restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu bölgede guanin bulduran dizi *BbvCI* kesim noktası buldurmamaktadır (Şekil 3.3). Guanin nükleotidinden sitozin nükleotidine değişim gerçekleşmesi kesim bölgesini ortaya çıkarmaktadır. Homozigot bireylerde (GG) 209 bç’lik tek bant, heterozigot bireylerde 209 bç, 188 bç, 21 bç’lik üç bant, tanıma bölgesinde sitozin bulduran bireylerde (CC) 188 bç, 21 bç’lik iki bant elde edilmiştir (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6.** *RNLS* (+ 111 C/G) polimorfizmi *BbvCI* kesim sonuçlarının agaroz jelde gösterimi. M – Marker (50 bç'lik). 1,3,7 nolu kuyucuklar; heterozigot CG genotipi (209- 188 bç'lik bantlar); 4,5,6 nolu kuyucuklar; homozigot CC genotipi (188 bç'lik bant), 2 nolu kuyucuk; homozigot GG genotipi (209 bç'lik bant).

Çalışma kapsamında; 3 renalaz gen polimorfizminin genotipleri rs2576178 (5' UTR), rs10887800 (intron 6) ve rs2296545 (ekson 2); serum renalaz düzeyi normoalbuminürik olan 74, mikroalbuminürik olan 28 ve makroalbuminurik-aşikâr nefropatik olan 52 hasta olmak üzere toplamda 154 tip 2 diabet hastasında, 48 diyabeti olmayıp böbrek hastalığı olan hastada ve 50 sağlıklı gönüllüde çalışıldı. Ayrıca tüm hastalarda serum hemoglobin, glukoz, sodyum, potasyum, fosfor, kalsiyum, ürik asit, total protein, albumin, kreatinin, BUN, total kolesterol, LDL, trigliserit, HDL ve HbA1c ölçüldü. Hastaların demografik ve klinik özelliklerinden yaş, cinsiyet, diyabet yaşı (ay olarak), diyabetik retinopati varlığı, kullandığı antihipertansif ilaçlar, antiproteinürik tedavi alıp almadığı, diyaliz tedavisine girip girmediği değerlendirildi, eGFR CKD-EPI yöntemi ile hesaplanarak değerlendirildi. Tüm grupların demografik ve klinik özellikleri Tablo 4.1' de, biyokimyasal parametreleri Tablo 4.2' de, gruplar arası serum renalaz düzeyi Tablo 4.3' te belirtilmiştir.



**Tablo 4.1.** Çalışmaya Alınan Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri

|                                   | Normoalbuminürik    | Mikroalbuminürik    | Makroalbuminürik    | Hastalıklı kontrol  | Sağlıklı kontrol    | p değeri |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------|
| N                                 | 74                  | 28                  | 52                  | 48                  | 50                  |          |
| Yaş (yıl)                         | 59 (53-63)          | 61 (57,25-64,75)    | 61 (54,25-64,75)    | 45,5 (31-59)        | 28 (25-37)          | <0,001** |
| Cinsiyet (E/K)                    | 30/44               | 12/16               | 29/23               | 27/21               | 25/25               | 0,34     |
| DMYaş (Ay) *                      | 192 (144-264)       | 192 (168-249)       | 204 (147-261)       | NA                  | NA                  | 0,894    |
| DRP (%) *                         | 17 (23)             | 13 (46,4)           | 45 (86,5)           | 0                   | 0                   | <0,001   |
| VKİ (Kg/m <sup>2</sup> )          | 28,7 (26,38-29,4)   | 29,1 (26,3-29,78)   | 27,9 (26,1-29,4)    | 26,45 (23,3-29,4)   | 25,65 (22,65-27,58) | <0,001** |
| SKB (mmHg)                        | 120 (110-120)       | 120 (120-130)       | 120 (120-130)       | 120(110-130)        | 120 (110-120)       | <0,001   |
| DKB (mmHg)                        | 70 (70-80)          | 75 (70-80)          | 70 (70-80)          | 70 (70-80)          | 70 (70-80)          | 0,591    |
| eGFR (ml/dk/1,73 m <sup>2</sup> ) | 93,89 (85,29-99,69) | 83,15 (71,05-92,38) | 30,77 (14,75-46,34) | 45,75 (18,08-82,42) | 113,2 (100,03-123)  | <0,001   |

\* DRP ve Diyabet Yaşı diyabetik gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

\*\* Diyabetik Gruplar kendi içinde kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).

Bütün gruplar arası parametrelerin ortanca değerleri verilmiştir.

DRP: Diyabetik retinopati, VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı, eGFR: Tahmini glomerüler filtrasyon hızı

**Tablo 4.2.** Çalışmaya Alınan Hastaların Biyokimyasal Parametreleri

|                            | Normoalbuminürik       | Mikroalbuminürik       | Makroalbuminürik          | Hastalıklı kontrol      | Sağlıklı kontrol      | p değeri |
|----------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|-----------------------|----------|
| N                          | 74                     | 28                     | 52                        | 48                      | 50                    |          |
| Albuminüri (24 sa)         | 5,66 (4,05-7,64)       | 85,56 (39,14-170,56)   | 1214,27 (420,66-3275)     | 682,99 (153,36-1887,28) | 3,68 (2,42-5,29)      | <0,001   |
| Proteinüri (24 sa)         | 188,65 (113,29-258,05) | 331,02 (199,03-492,69) | 1409,76 (563,55- 4363,29) | 1034,80 (301,5-2470)    | 130,43 (82,38-172,56) | <0,001   |
| Hb (gr/dl)                 | 13,49 ±1,39            | 13,01±1,54             | 12,24±1,75                | 12,60±2,10              | 14,33±1,75            | <0,001   |
| Serum Glukoz (mg/dl)       | 158 (122,5-189,75)     | 160 (136,25-215,25)    | 155 (119,25-222)          | 86,5 (77-97,75)         | 85,5 (81-89)          | <0,001** |
| Serum Sodyum (mEq/L)       | 138 (137-141)          | 140 (135,5-142,75)     | 137,5 (135,25-140)        | 139 (138-141,75)        | 140,5 (138-142)       | <0,001** |
| Serum Potasyum (mEq/L)     | 4,64(4,40-4,92)        | 4,92 (4,46-5,18)       | 5,05 (4,64-5,21)          | 4,66 (4,2-4,87)         | 4,46 (4,2-4,66)       | <0,001   |
| Serum Fosfor (mg/dl)       | 3,45 (3,08-3,9)        | 3,5 (3,3—3,78)         | 3,7 (3,3-4,3)             | 4 (3,3-4,7)             | 3,5 (3,18-3,8)        | <0,001   |
| Serum Kalsiyum (mg/dl)     | 9,63 (9,48-9,94)       | 9,67 (9,36-9,95)       | 9,22 (8,89-9,57)          | 9,26 (8,63-9,61)        | 9,55 (9,28-9,84)      | <0,05    |
| Serum Ürik Asit (mg/dl)    | 4,87±1,34              | 5,48±1,74              | 6±2,04                    | 6,3±1,78                | 4,69±1,08             | <0,001   |
| Serum Total Protein (g/dl) | 7,1 (6,88-7,4)         | 7,3 (6,93-7,68)        | 6,95 (6,7-7,38)           | 6,7 (6,1-7,3)           | 7,5 (7,2-7,73)        | <0,001** |
| Serum Albümin (g/dl)       | 4,4 (4,2-4,5)          | 4,4 (4,2-4,6)          | 4 (3,53-4,3)              | 3,9 (3,6-4,38)          | 4,7 (4,5-4,8)         | <0,001   |
| Serum Kreatinin (mg/dl)    | 0,76 (0,68-0,87)       | 0,89 (0,82-0,97)       | 1,99 (1,47-4,21)          | 1,67 (0,95-3,23)        | 0,77 (0,66-0,94)      | <0,001   |
| Serum BUN (mg/dl)          | 13 (11-16)             | 16 (13-20,5)           | 33 (24-47)                | 27 (18-43,5)            | 11 (9-14)             | <0,001   |
| Total kolesterol (mg/dl)   | 195 (163-219,3)        | 178,5 (157,3-236,5)    | 180 (157,25-224)          | 193 (163,75-228)        | 172,5 (145,7-196,2)   | 0,054    |
| LDL (mg/dl)                | 130 (107,25-148,25)    | 116,5 (96,25-149,75)   | 113,5 (92,25-149)         | 123 (98,75-153)         | 112,5 (91,25-139,75)  | 0,253    |
| Trigliserit (mg/dl)        | 131 (92,75-186)        | 158 (100,25-212,25)    | 188 (131,75-270)          | 153,5 (87,75-236,5)     | 91,5 (68,75-139)      | <0,001   |
| HDL (mg/dl)                | 45 (38-53)             | 42 (34,25-51)          | 37 (30,25-43,75)          | 48 (34-56,75)           | 45 (39,5-54)          | <0,001   |
| HbA1c (%) *                | 8,69 (8,15-9,51)       | 8,9 (8,24-10,11)       | 8,67 (8,13-9,64)          | 5,51 (4,96-5,73)        | 5,09 (4,74-5,41)      | 0,537    |

\* HbA1c diyabetik gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

\*\* Diyabetik Gruplar kendi içinde kıyaslandığında istatistiki olarak anlamlı fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Bütün gruplar arası parametrelerin ortanca değerleri (Serum ürik asit ve hemoglobin için ortalama değer) verilmiştir.

Hb: Hemoglobin, BUN: Kan üre azotu, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, HbA1c: Glikolize hemoglobin

**Tablo 4.3.** Çalışmaya Alınan Hastaların Gruplar Arası Serum Renalaz Düzeyi

|                              | Normoalbuminürik   | Mikroalbuminürik      | Makroalbuminürik     | Hastalıklı kontrol    | Sağlıklı kontrol     | p değeri |
|------------------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------|
| N                            | 74                 | 28                    | 52                   | 48                    | 50                   |          |
| Serum Renalaz Düzeyi (ng/ml) | 189,3 (144,78-265) | 141,85 (70,99-200,02) | 206,95 (89,08-324,6) | 176,85 (72,69-262,18) | 127,2 (54,94-482,85) | 0,159    |

Gruplar arası ortanca değerler verilmiştir.

Gruplar demografik ve klinik veriler açısından kıyaslandığında cinsiyet, DM yaşı, diyastolik kan basıncı, total kolesterol, LDL, serum renalaz düzeyi açısından istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Yaş, VKİ, Serum Glukoz, Serum Sodyum ve Serum Total Protein açısından gruplar değerlendirildiğinde diyabetik gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Yaş açısından gruplar değerlendirildiğinde hastalıklı kontrol ile sağlıklı kontrol arasında ( $p=0,005$ ), hastalıklı kontrol ve sağlıklı kontrol ile diyabetik gruplar arasında ( $p<0,001$ ) istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

DRP açısından diyabetik gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

VKİ açısından gruplar değerlendirildiğinde sağlıklı kontrol ile diyabetik gruplar arasında, hastalıklı kontrol ile sağlıklı kontrol ve diyabetik gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Sistolik kan basıncı açısından gruplar değerlendirildiğinde sağlıklı kontrol ile mikroalbuminürik grup arasında ( $p=0,022$ ); makroalbuminürik grup ile sağlıklı kontrol ve normoalbuminürik gruplar ( $p<0,001$ ) arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

24 saatlik idrarda albüminüri açısından gruplar değerlendirildiğinde sağlıklı kontrol ve normoalbuminürik gruplar ile mikroalbuminürik, makroalbuminürik ve hastalıklı kontrol grupları arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

24 saatlik idrarda proteinüri açısından gruplar değerlendirildiğinde sağlıklı kontrol ile mikroalbuminürik, makroalbuminürik ve hastalıklı kontrol arasında ( $p<0,001$ ); normoalbuminürik ile makroalbuminürik ve hastalıklı kontrol arasında ( $p<0,001$ ); mikroalbuminürik ile makroalbuminürik gruplar arasında istatistiki olarak

anlamli farklilik saptanmiftir ( $p < 0,001$ ). Diğer gruplar arasinda anlamli farklilik saptanmamiftir ( $p > 0,05$ ).

Hemoglobin açısından gruplar değerlendirildiğinde normoalbuminürik grup ile makroalbuminurik ( $p < 0,001$ ) ve hastalıklı kontrol ( $p < 0,05$ ) grubu arasında; mikroalbuminürik grup ile sağlıklı kontrol grubu arasında ( $p < 0,05$ ); makroalbuminurik grup ile sağlıklı kontrol grubu arasında ( $p < 0,001$ ); hastalıklı kontrol grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında ( $p < 0,001$ ) istatistiki olarak anlamli farklilik saptanmiftir. Diğer gruplar arasinda anlamli farklilik saptanmamiftir ( $p > 0,05$ ).

Glukoz açısından gruplar değerlendirildiğinde sağlıklı ve hastalıklı kontrol grupları ile diyabetik gruplar arasinda istatistiki olarak anlamli farklilik saptanmiftir ( $p < 0,001$ ). Diğer gruplar arasinda anlamli farklilik saptanmamiftir ( $p > 0,05$ ).

Sodyum açısından gruplar değerlendirildiğinde sağlıklı kontrol grubu ile makroalbuminurik grup arasinda istatistiki olarak anlamli farklilik saptanmiftir ( $p < 0,001$ ). Diğer gruplar arasinda anlamli farklilik saptanmamiftir ( $p > 0,05$ ).

Potasyum açısından gruplar değerlendirildiğinde sağlıklı kontrol grubu ile mikroalbuminürik ve makroalbuminurik grup arasinda ( $p < 0,001$ ); makroalbuminurik grup ile hastalıklı kontrol ve normoalbuminürik grup arasinda ( $p < 0,05$ ) istatistiki olarak anlamli farklilik saptanmiftir. Diğer gruplar arasinda anlamli farklilik saptanmamiftir ( $p > 0,05$ ).

Fosfor açısından gruplar değerlendirildiğinde normoalbuminürik grup ile makroalbuminurik ve hastalıklı kontrol grupları arasinda istatistiki olarak anlamli farklilik saptanmiftir ( $p < 0,001$ ). Diğer gruplar arasinda anlamli farklilik saptanmamiftir ( $p > 0,05$ ).

Kalsiyum açısından gruplar değerlendirildiğinde makroalbuminurik grup ve hastalıklı kontrol grubu ile normoalbuminürik, mikroalbuminürik ve sağlıklı kontrol grupları arasinda istatistiki olarak anlamli farklilik saptanmiftir ( $p < 0,05$ ). Diğer gruplar arasinda anlamli farklilik saptanmamiftir ( $p > 0,05$ ).

Ürik asit açısından gruplar değerlendirildiğinde normoalbuminürik grup ile makroalbuminurik ve hastalıklı kontrol grubu arasinda ( $p < 0,001$ ); makroalbuminurik

grup ile sağlıklı kontrol grubu arasında ( $p<0,001$ ); hastalıklı kontrol grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında ( $p<0,001$ ) istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Total protein açısından gruplar değerlendirildiğinde hastalıklı kontrol grubu ile mikroalbuminürik ve sağlıklı kontrol grupları arasında ( $p<0,05$ ), sağlıklı kontrol grubu ile normoalbuminürik ve makroalbuminurik grupları arasında ( $p<0,001$ ) istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Albumin açısından gruplar değerlendirildiğinde makroalbuminurik ve hastalıklı kontrol grupları ile normoalbuminürik, mikroalbuminürik ve sağlıklı kontrol grupları arasında ( $p<0,001$ ); sağlıklı kontrol grubu ile normoalbuminürik ve mikroalbuminürik gruplar arasında ( $p<0,05$ ) istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Kreatinin açısından gruplar değerlendirildiğinde normoalbuminürik ve mikroalbuminürik gruplar ile hastalıklı kontrol ve makroalbuminurik gruplar arasında ( $p<0,001$ ), sağlıklı kontrol grubu ile hastalıklı kontrol ve makroalbuminurik gruplar arasında ( $p<0,001$ ) istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

BUN açısından gruplar değerlendirildiğinde sağlıklı kontrol grubu ile mikroalbuminürik, makroalbuminurik ve hastalıklı kontrol grupları arasında ( $p<0,001$ ); normoalbuminürik grup ile hastalıklı kontrol ve makroalbuminurik gruplar arasında ( $p<0,001$ ); mikroalbuminürik grup ile makroalbuminurik grup arasında ( $p<0,001$ ) istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

eGFR açısından gruplar değerlendirildiğinde makroalbuminurik grup ile normoalbuminürik, mikroalbuminürik ve sağlıklı kontrol grupları arasında ( $p<0,001$ ); hastalıklı kontrol grubu ile sağlıklı kontrol ve normoalbuminürik gruplar arasında ( $p<0,001$ ); sağlıklı kontrol grubu ile normoalbuminürik ve mikroalbuminürik gruplar arasında ( $p<0,001$ ) istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Trigliserid açısından gruplar değerlendirildiğinde sağlıklı kontrol grubu ile normoalbuminürik, mikroalbuminürik, makroalbuminurik ve hastalıklı kontrol grupları arasında ( $p<0,05$ ); normoalbuminürik grup ile makroalbuminurik grup arasında ( $p<0,05$ ) istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

HDL açısından gruplar değerlendirildiğinde makroalbuminurik grup ile normoalbuminürik, hastalıklı kontrol ve sağlıklı kontrol grupları arasında ( $p<0,05$ ) istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

3 renalaz gen polimorfizminin (rs2576178, rs10887800 ve rs2296545) genotip dağılımı diyabetik gruplar ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldı. Polimorfizmler için genotipleme sonuçları Tablo 4.4, 4.5 ve 4.6' da özetlenmiştir.

**Tablo 4.4.** Rs2576178 Polimorfizminin Gruplar Arası Dağılımı

| rs2576178            |    | Normoalbuminürik<br>(n=74) | Mikroalbuminürik<br>(n=28) | Makroalbuminürik<br>(n=52) | Hastalıklı kontrol<br>(n=48) | Sağlıklı kontrol<br>(n=50) | P Değeri |
|----------------------|----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|----------|
| Genotip              | GG | 2 (2,7)                    | 1 (3,6)                    | 2 (3,8)                    | 2 (4,2)                      | 1 (2)                      | 0,09     |
|                      | AG | 57 (77)                    | 26 (92,9)                  | 46 (88,5)                  | 36 (75)                      | 34 (68)                    |          |
|                      | AA | 15 (20,3)                  | 1 (11,1)                   | 4 (7,7)                    | 10 (20,8)                    | 15 (30)                    |          |
| Alel                 | G  | 41,22                      | 50                         | 48,08                      | 41,67                        | 36                         | Ref.     |
|                      | A  | 58,78                      | 50                         | 51,92                      | 58,33                        | 64                         |          |
| G aleli taşıyıcıları |    | 59 (80)                    | 27 (96)                    | 48 (92)                    | 38 (79)                      | 35 (70)                    |          |
| HWE $\chi^2$ ; p     |    | 0,682; 0,409               | 2,358; 0,088               | 3,049; 0,081               | 0,663; 0,416                 |                            |          |
| G aleli için OR      |    | 1,25<br>(0,74-2,1)         | 1,78<br>(0,92-3,45)        | 1,65<br>(0,94-2,89)        | 1,27<br>(0,71-2,26)          |                            |          |
|                      |    |                            |                            |                            |                              |                            |          |

OR: tahmini rölatif risk, HWE: Hardy-Weinberg dengesi, Ref: Referans  
AA: Homozigot normal, AG: Heterozigot, GG: Homozigot mutant



**Tablo 4.5.** Rs10887800 Polimorfizminin Gruplar Arası Dağılımı

| rs10887800           |    | Normoalbuminürik<br>(n=74) | Mikroalbuminürik<br>(n=28) | Makroalbuminürik<br>(n=52) | Hastalıklı kontrol<br>(n=48) | Sağlıklı kontrol<br>(n=50) | P Değeri |
|----------------------|----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|----------|
| Genotip              | GG | 0 (0)                      | 1 (3,6)                    | 1 (1,9)                    | 2 (4,2)                      | 0 (0)                      | 0,545    |
|                      | AG | 70 (94,6)                  | 25 (89,3)                  | 49 (94,2)                  | 44 (91,7)                    | 45 (90)                    |          |
|                      | AA | 4 (5,4)                    | 2 (7,1)                    | 2 (3,8)                    | 2 (4,2)                      | 5 (10)                     |          |
| Alel                 | G  | 47,29                      | 48,21                      | 49,04                      | 50                           | 45                         |          |
|                      | A  | 52,71                      | 51,79                      | 50,96                      | 50                           | 55                         |          |
| G aleli taşıyıcıları |    | 70 (95)                    | 26 (93)                    | 50 (96)                    | 46 (96)                      | 45 (90)                    |          |
| HWE $\chi^2$ ; p     |    | 0,127; 0,722               | 0,149; 0,699               | 0,334; 0,563               | 0,491; 0,483                 |                            | Ref.     |
| G aleli için OR      |    | 1,09<br>(0,66-1,83)        | 1,14<br>(0,59-2,19)        | 1,18<br>(0,68-2,04)        | 1,22<br>(0,69-2,14)          |                            |          |

OR: tahmini rölatif risk, HWE: Hardy-Weinberg dengesi, Ref: Referans  
AA: Homozigot normal, AG: Heterozigot, GG: Homozigot mutant

**Tablo 4.6.** Rs2296545 Polimorfizminin Gruplar Arası Dağılımı

| rs2296545            |    | Normoalbuminürik<br>(n=16) | Mikroalbuminürik<br>(n=28) | Makroalbuminürik<br>(n=13) | Hastalıklı kontrol<br>(n=16) | Sağlıklı kontrol<br>(n=8) | P Değeri |
|----------------------|----|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------|----------|
| Genotip              | GG | 0 (0)                      | 6 (21,4)                   | 0 (0)                      | 1 (6,3)                      | 0 (0)                     | 0,05     |
|                      | CG | 11 (68,8)                  | 22 (78,6)                  | 11 (84,6)                  | 15 (93,8)                    | 7 (87,5)                  |          |
|                      | CC | 5 (31,3)                   | 0 (0)                      | 2 (15,4)                   | 0 (0)                        | 1 (12,5)                  |          |
| Alel                 | G  | 34,38                      | 60,71                      | 42,31                      | 53,13                        | 43,75                     |          |
|                      | C  | 65,62                      | 39,29                      | 57,69                      | 46,87                        | 56,25                     |          |
| C aleli taşıyıcıları |    | 16 (100)                   | 22 (79)                    | 13 (100)                   | 15 (94)                      | 8 (100)                   |          |
| HWE $\chi^2$ ; p     |    | 0,100; 0,527               | 0,851; 0,227               | 0,00; 0,927                | 0,094; 0,54                  |                           |          |
| C aleli için OR      |    | 1,49<br>(0,44-5,07)        | 0,50<br>(0,16-1,55)        | 1,06<br>(0,30-3,73)        | 0,69<br>(0,21-2,30)          |                           | Ref.     |

OR: tahmini rölatif risk, HWE: Hardy-Weinberg dengesi, Ref: Referans  
GG: Homozigot normal, CG: Heterozigot, CC: Homozigot mutant

rs2576178 ve rs10887800 polimorfizmleri için gruplar arasında genotip dağılımı, alel frekansı ve tahmini rölatif risk açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

rs2296545 polimorfizmi için tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde genotip dağılımı açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptandı ( $p=0,05$ ). Alt grup analizi yapıldığında diyabetik gruplar ile kontrol grupları arasında fark saptanmadı ( $p=0,374$ ). Diyabetik gruplar kendi arasında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak fark saptandı ( $p=0,05$ ). Genotipler diyabetik gruplar arasında ayrı ayrı değerlendirildiğinde CC ( $p=0,286$ ) ve CG ( $p=0,612$ ) genotipleri açısından fark saptanmadı. GG genotipi açısından istatistiksel olarak fark saptandı ( $p=0,04$ ). İstatistiksel açıdan görülen farklılık klinik olarak saptanmadı ve mevcut farklılık tüm GG genotipine sahip hastaların mikroalbuminürik grupta toplanmasına bağlandı. Mevcut veriler ile GG genotipinin klinik olarak nefropati progresyonunda etkisinin olmadığı düşünülmüştür. rs2296545 polimorfizmi için gruplar arasında alel frekansı ve tahmini rölatif risk açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Çalışmada serum renalaz düzeyi ile çalışmaya dahil edilen tüm hastaların demografik ve klinik özellikleri korelasyon analizi ile değerlendirilmiş olup sonuçları Tablo 4.7 ve Tablo 4.8.' de gösterilmiştir. Serum renalaz düzeyi ile çalışılan parametreler arasında istatistiki olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır.

**Tablo 4.7.** Serum Renalaz Düzeyi İle Klinik ve Laboratuvar Verilerinin Kolerasyon Analizi

|                                   | Serum renalaz düzeyi |        |
|-----------------------------------|----------------------|--------|
|                                   | p                    | r      |
| Yaş (yıl)                         | 0,999                | 0,000  |
| DMYaş (Ay)                        | 0,742                | -0,027 |
| VKİ (Kg/m <sup>2</sup> )          | 0,958                | -0,003 |
| SKB (mmHg)                        | 0,327                | 0,062  |
| DKB (mmHg)                        | 0,710                | -0,024 |
| Albuminüri (24 sa)                | 0,923                | 0,006  |
| Proteinüri (24 sa)                | 0,489                | 0,045  |
| Hb (gr/dl)                        | 0,473                | 0,045  |
| Serum Glukoz (mg/dl)              | 0,910                | 0,007  |
| Serum Sodyum (mEq/L)              | 0,399                | -0,053 |
| Serum Potasyum (mEq/L)            | 0,477                | 0,045  |
| Serum Fosfor (mg/dl)              | 0,300                | -0,066 |
| Serum Kalsiyum (mg/dl)            | 0,217                | 0,078  |
| Serum Ürik Asit (mg/dl)           | 0,498                | 0,043  |
| Serum Total Protein (g/dl)        | 0,677                | -0,026 |
| Serum Albumin (g/dl)              | 0,360                | 0,058  |
| Serum Kreatinin (mg/dl)           | 0,782                | 0,018  |
| Serum BUN (mg/dl)                 | 0,545                | 0,038  |
| eGFR (ml/dk/1,73 m <sup>2</sup> ) | 0,929                | 0,006  |
| Total kolesterol (mg/dl)          | 0,722                | 0,023  |
| LDL (mg/dl)                       | 0,632                | -0,030 |
| Trigliserit (mg/dl)               | 0,684                | -0,026 |
| HDL (mg/dl)                       | 0,094                | 0,106  |
| HbA1c (%)                         | 0,734                | 0,021  |

VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı, Hb: Hemoglobin, eGFR: Tahmini glomerüler filtrasyon hızı, BUN: Kan üre azotu, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, HbA1c: Glikolize hemoglobin

**Tablo 4.8.** Serum Renalaz Düzeyi İle Cinsiyet ve Diyabetik Retinopati İlişkisi

|                             |              | <b>N (252)</b> | <b>Serum Renalaz Düzeyi<br/>(ng/ml)</b> | <b>p</b> |
|-----------------------------|--------------|----------------|---|----------|
| <b>Cinsiyet</b>             | <b>Erkek</b> | 123            | 186,4 (88,34-339,3)                     | 0,139    |
|                             | <b>Kadın</b> | 129            | 173,6 (93,2-224,6)                      |          |
| <b>Diyabetik Retinopati</b> | <b>Var</b>   | 75             | 183,3 (80,05-339,3)                     | 0,469    |
|                             | <b>Yok</b>   | 177            | 177,9 (93,21-257,4)                     |          |

Çalışmada serum renalaz düzeyi ile cinsiyet ve diyabetik retinopati arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Çalışma kapsamında; hasta ve kontrol grubundaki tüm bireyler, 3 renalaz gen polimorfizminin genotiplerine göre sınıflandırıldılar ve klinik, biyokimyasal parametreler ile genotip arasındaki ilişki analiz edildi. Polimorfizmlerin genotiplerine göre klinik ve biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki rs2576178 TNP için Tablo 4.9' da rs10887800 TNP için Tablo 4.10' da ve rs2296545 TNP için Tablo 4.11' de gösterilmiştir.

**Tablo 4.9.** Rs2576178 Polimorfizminin Genotiplerine Göre Klinik ve Biyokimyasal Parametreler Arasındaki İlişki

|                                   | rs2576178             |                   |                      | p değeri     |
|-----------------------------------|-----------------------|-------------------|----------------------|--------------|
|                                   | GG                    | AG                | AA                   |              |
| N                                 | 8                     | 199               | 45                   |              |
| Yaş (yıl)                         | 52 (45,5-54,75)       | 57 (42-62)        | 55 (30-61,5)         | 0,376        |
| Cinsiyet (E/K)                    | 5/3                   | 98/101            | 20/25                | 0,597        |
| DMYaş (Ay)                        | 168 (150-240)         | 192 (144-258)     | 204 (168-261)        | 0,488        |
| DRP (%)                           | 37,5                  | 33,2              | 13,3                 | <b>0,028</b> |
| VKİ (Kg/m <sup>2</sup> )          | 27,75 (24,68-29,33)   | 27,8 (25,2-29,4)  | 27,1 (24,6-29,2)     | 0,906        |
| SKB (mmHg)                        | 115 (102,5-120)       | 120 (110-130)     | 120 (110-120)        | 0,057        |
| DKB (mmHg)                        | 70 (70-80)            | 70 (70-80)        | 70 (70-75)           | 0,307        |
| Albuminüri (24 sa)                | 169,9 (7,1-2848,6)    | 21,1 (4,9-581,6)  | 6,63 (3,62-107)      | <b>0,018</b> |
| Proteinüri (24 sa)                | 414,9 (111-3647,5)    | 256,2 (143-822,9) | 158 (114,1-392,4)    | 0,078        |
| Hb (gr/dl)                        | 12,94±2,25            | 13,14±1,86        | 13,4±1,75            | 0,697        |
| Serum Glukoz (mg/dl)              | 151,5 (94-210,3)      | 125 (87-173)      | 105 (84-143)         | 0,184        |
| Serum Sodyum (mEq/L)              | 137,5 (134,3-140)     | 139 (137-141)     | 140 (138-142)        | 0,091        |
| Serum Potasyum (mEq/L)            | 4,85 (4,37-5,28)      | 4,7 (4,39-5,06)   | 4,56 (4,23-4,84)     | 0,177        |
| Serum Fosfor (mg/dl)              | 3,95 (3,25-4,85)      | 3,6 (3,2-4,1)     | 3,6 (3,15-3,95)      | 0,561        |
| Serum Kalsiyum (mg/dl)            | 9,29 (9,02-9,38)      | 9,49 (9,21-9,77)  | 9,59 (9,29-9,97)     | 0,053        |
| Serum Ürik Asit (mg/dl)           | 5,4 (4,58-7,18)       | 5,2 (4,1-6,4)     | 5,2 (4,3-6,5)        | 0,654        |
| Serum Total Protein (g/dl)        | 7 (6,73-7,18)         | 7,1 (6,7-7,6)     | 7,2 (6,9-7,55)       | 0,274        |
| Serum Albumin (g/dl)              | 4,4 (3,93-4,4)        | 4,3 (4-4,6)       | 4,5 (4,2-4,7)        | 0,108        |
| Serum Kreatinin (mg/dl)           | 1,45 (0,76-3,61)      | 0,89 (0,74-1,56)  | 0,8 (0,69-1,28)      | 0,219        |
| Serum BUN (mg/dl)                 | 16 (11,25-65,75)      | 16 (12-27)        | 14 (11-24)           | 0,607        |
| eGFR (ml/dk/1,73 m <sup>2</sup> ) | 76 (28,15-108,85)     | 85,4 (46,1-99,5)  | 95 (54,19-113,3)     | 0,174        |
| Total kolesterol (mg/dl)          | 183 (163-306)         | 189 (158-214)     | 175 (154-226,5)      | 0,869        |
| LDL (mg/dl)                       | 128 (109,5-222,75)    | 122 (96-143)      | 121 (93-156)         | 0,638        |
| Trigliserit (mg/dl)               | 187 (107,5-255)       | 137 (93-207)      | 137 (82,5-199)       | 0,635        |
| HDL (mg/dl)                       | 41 (32,75-48,25)      | 43 (35-53)        | 45 (36-49,5)         | 0,759        |
| HbA1c (%)                         | 7,76 (5,68-9,09)      | 8,14 (5,51-9,23)  | 6,23 (5,19-8,26)     | 0,055        |
| Serum Renalaz Düzeyi (ng/ml)      | 151,65 (35,61-444,53) | 181,6 (94,78-262) | 174,7 (61,11-282,85) | 0,731        |

Genotipler arası parametrelerin ortanca değerleri (hemoglobinin için ortalama değer) verilmiştir.

DRP: Diyabetik retinopati, VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı, Hb: Hemoglobinin, eGFR: Tahmini glomerüler filtrasyon hızı, BUN: Kan üre azotu, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, HbA1c: Glikolize hemoglobinin

rs2576178 TNP'si genotipleri demografik ve klinik veriler açısından kıyaslandığında yaş, cinsiyet, diyabet yaşı, vücut kitle indeksi, sistolik kan basıncı,

diyastolik kan basıncı, proteinüri, hemoglobin, serum glukoz, sodyum, potasyum, fosfor, kalsiyum, ürik asit, total protein, albümin, kreatinin, BUN, eGFR, total kolesterol, LDL, trigliserit, HDL, HbA1c, serum renalaz düzeyi açısından istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Genotipler diyabetik retinopati açısından kıyaslandığında GG genotipine sahip bireylerde AG ve AA genotipine göre diyabetik retinopati görülme sıklığı artmıştı ( $p=0,028$ ). Albüminüri açısından kıyaslandığında ise AG genotipine sahip bireylerde AA genotipine sahip bireylere göre artmış albüminüri düzeyi mevcuttu ( $p=0,03$ ).



**Tablo 4.10.** Rs10887800 Polimorfizminin Genotiplerine Göre Klinik ve Biyokimyasal Parametreler Arasındaki İlişki

|                                   | rs10887800                |                      |                       | p değeri     |
|-----------------------------------|---------------------------|----------------------|-----------------------|--------------|
|                                   | GG                        | AG                   | AA                    |              |
| N                                 | 4                         | 233                  | 15                    |              |
| Yaş (yıl)                         | 55 (44,5-60,25)           | 56 (42-62)           | 53 (26-62)            | 0,915        |
| Cinsiyet (E/K)                    | 1/3                       | 117/116              | 5/10                  | 0,314        |
| DMYaş (Ay)                        | 180 (168-180)             | 192 (156-261)        | 162 (135-219)         | 0,359        |
| DRP (%)                           | 25                        | 30,9                 | 13,3                  | 0,387        |
| VKİ (Kg/m <sup>2</sup> )          | 25,75 (23,4-28,85)        | 27,8 (25,3-29,35)    | 27,3 (23,4-29,8)      | 0,688        |
| SKB (mmHg)                        | 125 (120-130)             | 120 (110-120)        | 120 (110-130)         | 0,257        |
| DKB (mmHg)                        | 80 (72,5-80)              | 70 (70-80)           | 70 (70-80)            | 0,30         |
| Albuminüri (24 sa)                | 2273,32 (77,88-12184,88)  | 16,24 (4,80-473,62)  | 6,35 (3,75-512,17)    | 0,076        |
| Proteinüri (24 sa)                | 2861,50 (215,15-14160,09) | 249,63 (130,1-741,3) | 210,16 (136,98-743,1) | 0,320        |
| Hb (gr/dl)                        | 10,83±0,68                | 13,25±1,84           | 12,65±1,67            | <b>0,014</b> |
| Serum Glukoz (mg/dl)              | 105,5 (83-154,25)         | 124 (87-172,5)       | 91 (78-215)           | 0,439        |
| Serum Sodyum (mEq/L)              | 136,5 (133,5-141)         | 139 (137-141)        | 138 (138-140)         | 0,418        |
| Serum Potasyum (mEq/L)            | 4,85 (4,26-5,17)          | 4,66 (4,39-5,03)     | 4,7 (4,2-5,61)        | 0,797        |
| Serum Fosfor (mg/dl)              | 3,9 (2,85-4,65)           | 3,6 (3,2-4,1)        | 3,5 (3,3-4,2)         | 0,866        |
| Serum Kalsiyum (mg/dl)            | 9,29 (7,46-9,65)          | 9,52 (9,22-9,82)     | 9,33 (9,28-9,77)      | 0,395        |
| Serum Ürik Asit (mg/dl)           | 4,95 (3,6-9,08)           | 5,2 (4,25-6,5)       | 4,1 (3,4-6,2)         | 0,25         |
| Serum Total Protein (g/dl)        | 6,55 (4,15-6,78)          | 7,1 (6,8-7,55)       | 7,1 (7,1-7,7)         | <b>0,038</b> |
| Serum Albumin (g/dl)              | 3,85 (2,08-4,5)           | 4,3 (4,0-4,6)        | 4,4 (4,0-4,6)         | 0,30         |
| Serum Kreatinin (mg/dl)           | 1,39 (0,73-2,22)          | 0,89 (0,74-1,56)     | 0,86 (0,7-4,34)       | 0,815        |
| Serum BUN (mg/dl)                 | 27 (16,5-40,5)            | 16 (12-27)           | 14 (9-20)             | 0,225        |
| eGFR (ml/dk/1,73 m <sup>2</sup> ) | 50,19 (23-95,69)          | 86,6 (46,14-101,44)  | 88,8 (15-119,59)      | 0,561        |
| Total kolesterol (mg/dl)          | 183 (152,25-304,5)        | 188 (158-215,5)      | 186 (146-220)         | 0,947        |
| LDL (mg/dl)                       | 119,5 (94,25-206,2)       | 122 (96-144,5)       | 119 (98-149)          | 0,957        |
| Trigliserit (mg/dl)               | 149 (106,25-248,75)       | 145 (92-206)         | 130 (85-247)          | 0,923        |
| HDL (mg/dl)                       | 49,5 (34,5-61,5)          | 43 (35-51)           | 40 (33-58)            | 0,845        |
| HbA1c (%)                         | 6,01 (5,22-7,69)          | 8,1 (5,48-9,0)       | 6,98 (5,35-9,54)      | 0,558        |
| Serum Renalaz Düzeyi (ng/ml)      | 192,9 (116,19-243,88)     | 178,9 (88,74-276,2)  | 178,5 (120,8-296,5)   | 0,979        |

Genotipler arası parametrelerin ortanca değerleri (hemogloblin için ortalama değer) verilmiştir.

DRP: Diyabetik retinopati, VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı, Hb: Hemogloblin, eGFR: Tahmini glomerüler filtrasyon hızı, BUN: Kan üre azotu, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, HbA1c: Glikolize hemogloblin

rs10887800 TNP'si genotipleri demografik ve klinik veriler açısından kıyaslandığında yaş, cinsiyet, diyabet yaşı, diyabetik retinopati, vücut kitle indeksi, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı, albüminüri, proteinüri, serum glukoz,

sodyum, potasyum, fosfor, kalsiyum, ürik asit, albumin, kreatinin, BUN, eGFR, total kolesterol, LDL, trigliserit, HDL, HbA1c, serum renalaz düzeyi açısından istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Genotipler hemoglobin açısından kıyaslandığında GG genotipine sahip bireylerde AG genotipine göre hemoglobin düşük saptandı ( $p=0,019$ ). Genotipler total protein açısından kıyaslandığında ise GG genotipine sahip bireylerde AA ve AG genotipine sahip bireylere göre artmış total protein düzeyi mevcuttu ( $p=0,034$ ).





**Tablo 4.11.** Rs2296545 Polimorfizminin Genotiplerine Göre Klinik ve Biyokimyasal Parametreler Arasındaki İlişki

|                                   | rs2296545           |                     |                     | p değeri     |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------|
|                                   | GG                  | CG                  | CC                  |              |
| N                                 | 7                   | 66                  | 8                   |              |
| Yaş (yıl)                         | 58 (52-62)          | 57 (47,75-64)       | 53 (42-62)          | 0,872        |
| Cinsiyet (E/K)                    | 4/3                 | 31/35               | 2/6                 | 0,411        |
| DMYaş (Ay)                        | 180 (141-237)       | 192 (168-252)       | 192 (180-240)       | 0,811        |
| DRP (%)                           | 28,6                | 31,8                | 25                  | 1            |
| VKİ (Kg/m <sup>2</sup> )          | 29,4 (26,2-29,8)    | 28,3 (25,48-29,7)   | 25,7 (23,03-29,65)  | 0,41         |
| SKB (mmHg)                        | 120 (120-130)       | 110 (120-130)       | 115 (110-127,5)     | 0,445        |
| DKB (mmHg)                        | 80 (80-80)          | 70 (70-80)          | 70 (70-80)          | <b>0,036</b> |
| Albuminüri (24 sa)                | 69,77 (36,84-89,39) | 107,3 (9,24-566,63) | 4,64 (2,64-703,09)  | 0,128        |
| Proteinüri (24 sa)                | 180,3 (122,2-258,7) | 388,5 (187,4-926,7) | 210,4 (114-1072,7)  | 0,075        |
| Hb (gr/dl)                        | 12,37±1,56          | 13,06±1,88          | 12,71±2,29          | 0,702        |
| Serum Glukoz (mg/dl)              | 118 (96-175)        | 140 (89-193)        | 126 (107-158,25)    | 0,781        |
| Serum Sodyum (mEq/L)              | 139 (135-140)       | 140 (138-142)       | 138,5 (137-141,75)  | 0,304        |
| Serum Potasyum (mEq/L)            | 4,68±0,51           | 4,78±0,52           | 4,63±0,77           | 0,755        |
| Serum Fosfor (mg/dl)              | 3,5 (3,3-3,8)       | 3,5 (3,1-3,85)      | 4 (3,43-4,35)       | 0,218        |
| Serum Kalsiyum (mg/dl)            | 9,83 (9,35-9,87)    | 9,48 (9,24-9,77)    | 9,33 (8,59-9,66)    | 0,279        |
| Serum Ürik Asit (mg/dl)           | 5,69±1,58           | 5,70±1,65           | 5,01±2,12           | 0,388        |
| Serum Total Protein (g/dl)        | 7,4 (7,1-7,9)       | 7,2 (6,7-7,6)       | 6,8 (6,55-7,08)     | 0,091        |
| Serum Albumin (g/dl)              | 4,7 (4,6-4,7)       | 4,3 (4,08-4,5)      | 4,3 (3,63-4,55)     | <b>0,005</b> |
| Serum Kreatinin (mg/dl)           | 0,95 (0,87-0,98)    | 0,89 (0,77-1,39)    | 0,74 (0,69-1,65)    | 0,416        |
| Serum BUN (mg/dl)                 | 18 (13-21)          | 16 (12-25,25)       | 13 (9,5-36,1)       | 0,497        |
| eGFR (ml/dk/1,73 m <sup>2</sup> ) | 84,3 (61,8-95,29)   | 82 (54,63-98,14)    | 97,1 (46,02-106,8)  | 0,605        |
| Total kolesterol (mg/dl)          | 163 (144-168)       | 192,5 (160-234)     | 172,5 (148,75-196)  | 0,073        |
| LDL (mg/dl)                       | 100 (92-115)        | 124 (102,5-151,25)  | 121 (97,5-130)      | 0,173        |
| Trigliserit (mg/dl)               | 156 (111-203)       | 155,5 (92,75-224)   | 118,5 (55,25-176,5) | 0,473        |
| HDL (mg/dl)                       | 42 (34-44)          | 44,5 (36-56,25)     | 44 (37,25-49,25)    | 0,557        |
| HbA1c (%)                         | 8,4 (6,2-8,75)      | 8,22 (5,73-9,31)    | 8,28 (7,28-9,11)    | 0,92         |
| Serum Renalaz Düzeyi (ng/ml)      | 120,8 (47,25-199,2) | 182,4 (97,2-275,28) | 180,9 (90,38-223,5) | 0,594        |

Genotipler arası parametrelerin ortanca değerleri (hemogloblin, serum potasyum ve ürik asit için ortalama değer) verilmiştir.

DRP: Diyabetik retinopati, VKİ: Vücut kitle indeksi, SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diyastolik kan basıncı, Hb: Hemogloblin, eGFR: Tahmini glomerüler filtrasyon hızı, BUN: Kan üre azotu, LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein, HbA1c: Glikolize hemogloblin

rs2296545 TNP'si genotipleri demografik ve klinik veriler açısından kıyaslandığında yaş, cinsiyet, diyabet yaşı, diyabetik retinopati, vücut kitle indeksi, sistolik kan basıncı, albüminüri, proteinüri, hemogloblin, serum glukoz, sodyum,

potasyum, fosfor, kalsiyum, ürik asit, total protein, kreatinin, BUN, eGFR, total kolesterol, LDL, trigliserit, HDL, HbA1c, serum renalaz düzeyi açısından istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Genotipler diyastolik kan basıncı açısından kıyaslandığında GG genotipine sahip bireylerde, CG ve CC genotipine sahip bireylere göre istatistiki açıdan anlamlı derecede yükseklik saptandı ( $p=0,036$ ). Diyastolik kan basıncındaki yükseklik GG genotipine sahip 7 bireyinde DKB'sinin 80 mmHg olmasına bağlandı. Grupların DKB'leri 70-80 mmHg aralığında ve klinik olarak normal sınırlarda idi. Genotipler serum albumini açısından kıyaslandığında ise GG genotipine sahip bireylerde CC ve CG genotipine sahip bireylere göre yüksek serum albumin düzeyi mevcuttu ( $p=0,005$ ).

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda literatür taramalarında bugüne kadar HT, stroke gibi hastalıklarla ilişkisi araştırılmış olan renalaz gen polimorfizmleri ve serum renalaz düzeyi ile tip 2 DM hastalarında diyabetik nefropati progresyonu arasındaki ilişkiyi araştırdık. Çalışmamızda 3 renalaz gen polimorfizmini [rs2576178 (5' UTR), rs10887800 (intron 6) ve rs2296545 (ekzon 2)] ve serum renalaz düzeyini normoalbuminürik olan 74, mikroalbuminürik olan 28 ve makroalbuminürik-aşikâr nefropatik olan 52 hasta olmak üzere toplamda 154 tip 2 diyabet hastasında, 48 diyabeti olmayıp böbrek hastalığı olan hastada ve 50 sağlıklı gönüllüde inceledik. Aynı zamanda daha önceki çalışmalarda araştırılmış olan hipertansiyon ve biyokimyasal parametreler gibi demografik, klinik ve biyokimyasal parametreler ile hem polimorfizmlerin hem de serum renalaz düzeyinin ilişkisini araştırdık. Çalışmamızda nefropati progresyonuna etki edebilecek bilinen nedenleri dışlanan hastalar alınmış olup bu hastalarda sadece renalaz gen polimorfizminin ve enzim düzeyinin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Diyabetik nefropati, sıklığı ve yarattığı sorunlar nedeniyle tüm dünyada önemi artan bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Diyabetik nefropati, dünyada ve ülkemizde son dönem böbrek yetersizliği (SDBY) nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır. ABD'de düzenli diyaliz tedavisine giren hastaların %37,9'unu DM'ye bağlı SDBY oluşturmaktadır ve yeni gelişen böbrek yetmezliği olgularının %44,9'u DM'ye bağlıdır (10). Ülkemizde de KBH sıklığı %15,7 ve KBH olgularında diyabet sıklığı %32,4 olarak saptanmış olup (11), diyaliz hastaları arasında DM %33,83 ile SDBY nedenleri arasında birinci sırada yer almaktadır. Diyabetik nefropati patogenezinde hemodinamik, genetik, metabolik faktörler ve fibrozis gelişimi ile ilişkili çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin rolü ileri sürülmüş olmakla birlikte tüm mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır (8). Tip 2 DM'li hastalarının bazılarının nefropatisi, nefropati yapıcı diğer nedenler açısından benzer özelliklerde olmalarına rağmen, daha hızlı ilerlemektedir. Bu da bize nefropati progresyonuna etki eden henüz aydınlatılamamış mekanizmaların varlığını düşündürmektedir. Bu konuda renalazın HT, KBH ve kardiyovasküler hastalıklar

gibi çeşitli hastalıklarla ilişkisi gösterilmiş bir molekül olarak, tip 2 DN' de nefropati progresyonuna etki edebileceğini düşündük.

Renalaz temelde böbrek tarafından üretilen ve inaktif olarak kana salınan, katekolamin varlığında aktive olarak katekolaminleri metabolize ederek düzeylerini azaltan, yeni keşfedilmiş bir FAD bağımlı amin oksidazdır (14). Katekolamin düzeylerini ayarlayarak sempatik tonusu, kan basıncını ve kardiyovasküler fonksiyonları düzenler. Kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisinin yanı sıra KBH, iskemik toksik böbrek hastalıkları, gestasyonel diyabetes mellitus, inme, preeklampsi, tip 2 DM gibi hastalıklarla ilişkisi gösterilmiştir (17-20, 126, 128, 129, 131-136). Yapılan çalışmalarda renalaz TNP'leri (rs2576178 ve rs2296545) ile esansiyel HT, koroner hastalıklar, sol ventrikül kitle ve fonksiyonları arasında (17-19); tek nükleotid polimorfizmi (rs10887800) ile inme riski arasında, serum renalaz düzeyleri ile sistolik kan basıncı, serum kreatinin düzeyleri, eGFR, insülin rezistansı, katekolamin düzeyleri, serum BUN düzeyleri, serum ürik asit düzeyleri, KBH evresi arasında bir ilişki olduğu tesbit edilmiştir(19, 20).

Zhao ve arkadaşlarının Çin toplumunda yaptıkları, renalaz gen polimorfizmleri ile esansiyel hipertansiyonun (EH) ilişkisinin araştırıldığı, 1317 EH'li birey ve 1269 sağlıklı kontrolün dahil edildiği çalışmada 2 TNP EH ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada rs2576178 TNP'si için G alelinin, rs2296545 TNP'si için C alelinin hipertansif hastalarda sık görüldüğü tesbit edilmiştir (18).

Farzaneh-Far ve arkadaşlarının 590 hasta ile yaptıkları çalışmada renalaz gen rs2296545 polimorfizminin C alelinin (Glu37Asp) sol ventrikül hipertrofisi, ventriküler disfonksiyon, sistolik ve diyastolik disfonksiyon, azalmış egzersiz kapasitesi ve stabil koroner arter hastalığı olanlarda indüklenebilir iskemi ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Glu37Asp polimorfizminin NADH'a karşı 24 kat azalmış affiniteye ve renalazın maksimal enzimatik aktivitesinde 2.3 kat azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada Zhao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya zıt olarak rs2296545 polimorfizmi ile sistolik ve diyastolik tansiyon arteriyel arasında ilişki saptanmamıştır. Bu durum tedavi ile kan basıncı kontrolünün sağlanmasına ve hastaların normotansif olmasına bağlanmıştır (Ortalama kan basıncı: 131/73 mmHg) (17). Bizim çalışmamızda da çalışmaya normotansif hastalar dahil edilmiş olup

Farzaneh-Far ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya benzer şekilde rs2296545 polimorfizmi ile sistolik ve diyastolik tansiyon arteriyel arasında ilişki saptanmamıştır.

Buraczynska ve arkadaşlarının Tip 2 diyabetik hastalarda hipertansiyon ile renalaz TNP'leri (rs2576178, rs2296545 ve rs10887800 ) arasındaki ilişkiyi araştırmak için 892 Tip 2 DM'li hasta, 400 sağlıklı kontrol birey ve 130 inme hastası ile yaptıkları çalışmada; Tip 2 diyabet hastalarında rs2296545 polimorfiziminin CC genotipinin ve C alelinin hipertansiyon gelişimi ile ilintili olduğu, rs2576178 polimorfiziminin ise hipertansif ve normotansif tüm Tip 2 DM hastalarında sağlıklı kontrollere göre daha sık olarak saptandığı fakat normotansif ve hipertansif hastalar arasında fark olmadığı görülmüştür. Bu bulgunun da renalaz geni için bu polimorfizmin diyabetin kendisi ile ilişkili olabileceği ve diyabet oluşumunda rol oynayabileceği ile açıklanmıştır. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmanın aksine diyabetik hasta grupları ile kontrol grupları arasında rs2576178 polimorfizimi açısından fark saptanmamıştır. Çalışmamızla benzer şekilde rs2576178 ve rs2296545 polimorfizimlerin genotipleri ile yaş, cinsiyet, tanı yaşı, diyastolik kan basıncı, VKİ, HbA1c, total kolesterol, trigliserid ve kreatinin arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Çalışmada yer alan diğer bir polimorfizm olan rs10887800 için ise G alelinin hipertansif hastalar ile kontrol grupları arasında benzer olduğu, fakat diyabet olsun olmasın bu TNP'nin hipertansif hastalarda "inme riski" ile ilintili olduğu gösterilmiştir. Çalışmaya alınan 892 Tip 2 diyabetik hastanın %40.6 sının diyabetik nefropatiye sahip olduğu belirtilmekle birlikte nefropati evresi, progresyonu ve gen polimorfizimleri ile ilişkisi irdelenmemiştir (19).

Stec A. ve arkadaşlarının renalaz gen polimorfizimlerinin SDBY'li hastalarda hipertansiyon etiyolojisinde rol oynayabileceğini düşünerek yaptıkları çalışmada, 790 adet SDBY hastası renalaz geni rs2576178 (369 hasta) ve rs10887800 (421 hasta) polimorfizimleri açısından genotiplendirilmiş ve genotip-fenotip ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada hipertansiyonu olan SDBY hastalarında rs2576178 ve rs10887800 polimorfizimleri için G alel taşıyıcılığının daha yüksek oranda görüldüğü saptanmıştır (128).

Rezk NA. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 178 KBH (83'ü normotansif, 95'i hipertansif) hastası ve 178 sağlıklı kontrol hastası; renalaz geni rs2296545 polimorfizmi ile SDBY'li hastalarda tansiyon arteriyele etkisi açısından ve yine bu polimorfizmin serum epinefrin düzeyine etkisi açısından incelenmiştir. Renalase (rs2296545) CC genotipi ve C alelinin KBH'lı hastalarda artmış olduğu, serum epinefrin düzeylerinin hem normotansif hem de hipertansif KBH'da sağlıklı kontrollere göre artmış olduğu ve KBH'ya sahip hipertansif ve normotansif hastalar arasında CG, CC genotipi ve C allelinin sıklığı açısından fark olmadığı tespit edilmiştir (129). Stec A. ve arkadaşlarının (128) yaptıkları çalışmada renalaz rs2576178 ve rs10887800 polimorfizmleri ile SDBY'li hastalarda HT ilişkili bulunmuş fakat Rezk NA. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu polimorfizmler incelenmemiştir.

Fatima ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 99 gestasyonel diyabet hastası ve 99 normoglisemik gebe; renalaz geni (rs10887800 ve rs2576178) polimorfizmleri ve serum renalaz düzeyi ile gestasyonel diyabet arasındaki ilişki açısından incelenmiştir. Serum renalaz düzeyi açısından GDM'li grup ile normoglisemik gebeler benzer bulunmuş ve bu çalışmaya alınan tüm olguların normotansif olmasına, hipertansif hastaların çalışmaya alınmamasına bağlanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları ile Farzaneh-Far ve arkadaşlarının (17) yaptıkları çalışma ve bizim çalışmamızın sonuçları bu açıdan benzerlik göstermektedir. rs10887800 polimorfizminin GG genotipinin GDM ile güçlü ilişkisi olduğu ( $p < 0.001$ ) yaş, VKİ ve vücut yağ oranı gibi parametrelerin etkisi dışlandığında da ilişkinin devam ettiği ( $p < 0.005$ ) saptanmış, rs2576178 polimorfizmi için ise GDM ile zayıf ilişkisinin olduğu ( $p = 0.030$ ), yaş, VKİ ve vücut yağ oranı gibi parametrelerin etkisi dışlandığında ise ilişkisini kaybettiği ( $p = 0.09$ ) saptanmıştır (126).

Zhao ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada rs2296545 polimorfizminin C aleli ve rs2576178 polimorfizminin G aleli ile HT arasında (18), Buraczynska ve arkadaşlarının tip 2 DM hastalarında yaptıkları çalışmada rs2296545 polimorfizminin C aleli ile HT arasında (19), Stec A. ve arkadaşlarının SDBY hastalarında yaptıkları çalışmada rs2576178 ve rs10887800 polimorfizmlerinin G aleli ile HT arasında (128) ilişki saptanmıştır. Biz çalışmamızda renalaz gen polimorfizmleri (rs2296545, rs10887800 ve rs2576178) ile kan basıncı arasında ilişki

saptamadık. Bunun nedeni yukarıda da belirtildiği gibi çalışmaya dahil edilen hastaların tedavi ile kan basıncı kontrolünün sağlanmış ve hastaların normotansif olması olabilir. Çalışmamızla benzer şekilde Rezk NA. ve arkadaşlarının SDBY'li hastalarda yaptığı çalışmada rs2296545 polimorfizmi ile HT arasında ilişki saptanmamıştır (129).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda renalazın KBH, HT, KAH, kardiyovasküler fonksiyonlar, gestasyonel diyabet, inme, preeklampsi, tip 2 DM gibi hastalıklarla ilişkisi incelenmiş (17-20, 126, 128, 129, 131-136) olup çalışmamız tip 2 diyabetik nefropatinin progresyonu ile renalaz gen polimorfizmlerinin ilişkisini inceleyen ilk çalışma özelliğindedir. Çalışmamız sonucunda renalazın 3 TNP'si (rs2296545, rs10887800 ve rs2576178) ile diyabetik nefropati progresyonu arasında ilişki saptanmamıştır. Renalazın çalışılan polimorfizmleri ile serum renalaz düzeyi arasında ilişki saptanmamıştır. Biz hipertansiyon vb. gibi nefropati progresyonuna etki edebilecek faktörler dışlandığında çalışılan renalaz gen polimorfizmlerinin ve serum renalaz düzeyinin tip 2 DM'li hastalarda diyabetik nefropati progresyonuna etkisinin olmadığını düşünüyoruz. Bu sonuca göre renalaz gen polimorfizm farklılıkları ve enzim düzeyleri, kan basıncı kontrol altındayken mikrovasküler ve doku düzeyinde progresyona katkı sağlamıyor gibi gözükmektedir.

Wang F ve arkadaşlarının Tip 2 diyabetik hastalarda serum renalaz düzeylerinin değişimini ve hastaların serum katekolamin düzeyleri, hipertansiyon ve insülin rezistansı gibi klinik parametreleriyle arasındaki ilişkisini araştırdıkları çalışmada; çalışmaya 75 Tip 2 DM hastası (27'si nefropatisi olmayan, 48'i nefropatisi olan; 60 ı hipertansif) 13 kontrol grubu sağlıklı birey dahil edilmiş, Tip 2 DM hastaları nefropatisi olan ve olmayan şeklinde iki gruba ayrılarak incelenmiş ve kan renalaz düzeyleri ELISA yöntemiyle saptanarak Tip 2 DM'nin çeşitli özellikleri ile olan ilişkileri ortaya konulmuştur. Bu çalışmada serum renalaz düzeylerinin nefropatisi olsun ya da olmasın diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre yüksek olduğu, kan katekolamin düzeylerinin nefropatisi olan hastalarda yüksek fakat nefropatisi olmayan hastalarda normal olduğu, renalaz/katekolamin düzeylerinin Tip 2 DM'ye sahip hastalarda normal bireylere göre yüksek olduğu, serum renalaz düzeyleri ile serum katekolamin düzeyleri, sistolik kan basıncı ve serum kreatinin düzeyleri arasında pozitif, eGFR arasında negatif bir ilişki ve serum

renalaz/katekolamin oranı ile serum kreatinin ve insulin rezistansı açısından HOMA arasında pozitif bir ilişki olduğu tesbit edilmiştir. Serum renalaz düzeyleri ile yaş, cinsiyet, diyastolik kan basıncı, bel çevresi, kalça çevresi, açlık kan şekeri, vücut kitle endeksi, C-peptid, HbA1c ve glikolize albumin arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (133). Çalışmada diyabetik hastaların kontrol grubuna göre artmış renalaz düzeyi olduğu ve diyabetik hastalarının %80 inin hipertansif olduğu belirtilmiştir. Diyabetik gruplar arasındaki kan basıncı farklılıkları ve serum renalaz düzeyi farklılıkları verilmemiştir. Bu çalışmada diyabetik grup ile kontrol grubu arasındaki fark diyabetik grubun hipertansif olması olabilir.

Yine Wang F ve arkadaşları yaptıkları bir diğer çalışmada; kronik böbrek hastalığına (KBH) sahip hastalarda, KBH evreleri ile serum renalaz düzeyleri arasında ilişki olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışmaya 87 KBH'lı hasta, 15 sağlıklı kontrol grubu dahil edilmiş, KBH'a sahip hastalar nefropati evresine göre (evre 1-5) gruplandırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalarda primer böbrek hastalığı nedenleri olarak kronik glomerülonefrit, diyabetik nefropati, hipertansif nefropati, gut nefropatisi, polikistik böbrek hastalığı olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada serum renalaz düzeyleri ve renalaz/katekolamin oranının evre 3-5 KBH'da, evre 1-2 KBH'na göre anlamlı derecede yüksek olduğu; evre 1-2 KBH ve sağlıklı bireyler arasında fark olmadığı tespit edilmiştir. Renalaz düzeylerinin katekolamin düzeyleri, BUN, serum kreatinin, ürik asit, sistolik kan basıncı, KBH evresi ile pozitif olarak korele olduğunu; kırmızı kan hücre sayısı, hemoglobin ve eGFR ile negatif kolere olduğunu tespit etmişlerdir. Böylece serum renalaz ve renalaz/katekolamin düzeylerinin renal fonksiyonlar ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (20). Bizim çalışmamızda ise nefropatik hastalar ile diyabeti olup nefropatisi olmayan hastalar ve kontrol grubu hastalar arasında serum renalaz düzeyi açısından fark saptanmamıştır. Renalaz düzeyleri ile BUN, serum kreatinin, eGFR, hemoglobin ve ürik asit arasında korelasyon saptanmamıştır.

Koc-Zorawska ve arkadaşlarının 60 hemodiyaliz hastasında, vasküler adezyon protein 1 (VAP-1) düzeyini ve renalaz seviyesiyle korelasyonunu değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada; bizim çalışmamızla benzer şekilde diyabetik ve nondiyabetik hastalar arasında ve aynı zamanda hipertansif ve normotansif hastalar arasında renalaz düzeyi açısından fark saptanmamıştır (135).



Gaber ve arkadaşlarının DN'si olan ve olmayan tip 2 DM hastalarında dopamin ve renalazın ilişkisini araştırdıkları; 10 sağlıklı kontrol, 30 tip 2 diyabeti olup normal albümin atılımı olan, 30 tip 2 diyabeti olup artmış albümin atılımı olan ve 10 tip 2 diyabeti olup HD'e giren toplamda 80 kişi ile yaptıkları çalışmada, diyabetik nefropatisi olan tip 2 DM'li hastalarda serum renalazının anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenirken, nefropati olmayan tip 2 DM'li hastalarda ve sağlıklı kontrollerde herhangi bir fark görülmemiştir. Renalaz düzeyinin, dopamin seviyesindeki artışı kompanse etmek için artmış olabileceği belirtilmiştir. HD hastalarında artmış renalaz seviyesinin, bu hastalarda renalazın klirensindeki azalmaya, sentezindeki artmaya veya yavaş metabolize olmasına bağlı olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir (136). Bizim çalışmamızda HD'e giren hasta sayısı az olduğu için HD hastaları ile serum renalaz düzeyleri arasındaki ilişki ayrıca incelenmemiştir.

Çalışmamızda serum renalaz düzeyleri ile sistolik ve diyastolik kan basıncıda dahil olmak üzere değerlendirilen klinik ve biyokimyasal parametreler arasında ve aynı zamanda serum renalaz düzeyine etki edebilecek klinik ve biyokimyasal faktörler dışlandığında, renalaz TNP' leri (rs2296545, rs10887800 ve rs2576178) arasında ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda gruplar arasında serum renalaz düzeyi açısından fark saptanmamıştır ve serum renalaz düzeyi ile diyabetik nefropati evreleri arasında ilişki saptanmamıştır. Çalışmamızla benzer şekilde Fatima ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da serum renalaz düzeyi açısından GDM'li grup ile normoglisemik gebeler arasında fark saptanmamış ve bu durum çalışmaya alınan tüm olguların normotansif olmasına, hipertansif hastaların çalışmaya alınmamasına bağlanmıştır (126).

Çalışmamızda serum renalaz düzeyleri ile çalışılan klinik ve biyokimyasal parametreler arasında ilişki saptanmamış olmasının ve gruplar arasında serum renalaz düzeyinin benzer çıkmasının nedeni, çalışmamıza nefropati progresyonunu etkileyeceği ve tip 2 diyabetik hastalarda nefropati progresyonu ile renalaz gen polimorfizmi ve enzim kan düzeyi arasındaki ilişkide karıştırıcı etki oluşturabileceği

nedeni ile hipertansif hastaların alınmayarak sadece normotansif hastaların alınmış olması olabilir.

Renalaz çoğunlukla böbreklerde olmak üzere kardiyomiyositler, karaciğer, bağırsak, iskelet kasları (14), periferik sinir hücreleri, adrenal bezler, beyaz ve kahverengi adipoz dokular ve merkezi sinir sisteminde de belirlenmiştir (123-126). Gruplar arasında serum renalaz düzeyinin benzer çıkmasının bir diğer nedeni ise nefropatik hastalarda böbrek tarafından yapılamayan renalaz sentezinin, kompanzatuvar olarak diğer organlar tarafından üretilmesi olabilir.

Renalaz proenzim olarak inaktif halde kana sekrete edilir ve katekolaminlerin artışı ile hızla aktiflenir (16). Serumda var olan enzimlerin hepsi aktif olmayabilir, renalaz seviyesi yüksek olmasına rağmen enzimatik aktivitesi düşük olabilir. Önceki çalışmalarla olan farklılık çalışılan popülasyondaki renalaz enziminin enzimatik aktivitesindeki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir.

Bu çalışmada her ne kadar renalaz gen polimorfizmlerinin ve renalaz kan düzeyinin diyabetik nefropati progresyonu üzerine etkisini irdelemeyi amaçlamış olsak da bulduğumuz en çarpıcı sonuçlardan bir tanesi de renalaz rs2576178 polimorfizmi için GG genotipine sahip hastaların artmış diyabetik retinopati sıklığına sahip olduğunu göstermiş olmamızdır. Tip II DM de retinopati nefropati ilişkisinin Tip I DM de olduğu gibi kuvvetli olmaması klinik pratikte her zaman sorun yaratan bir durum olmuştur. Bu sonuca göre GG genotipine sahip hastalarda retinopati sıklığının artması nefropati progresyonu ile ilişkilendirilebileceği gibi hasta takiplerinde de mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonları öngörmede yardımcı olabilir. Hasta sayımızın az olması bu sonucun etkisini zayıflatsa da daha ileri dönemlerde bununla ilgili daha çok sayıda hasta içeren çalışmaların önünü açması açısından faydalı bir bulgu olarak belirtilebilir.

Sonuç olarak bizim bu çalışmamızdaki amacımız normotansif hastalarda renalazın enzim düzeyinin ya da farklı polimorfizmlerinin tip 2 DM'li hastalarda diyabetik nefropati progresyonunda rol oynayıp oynamadığını araştırmaktı. Normotansif hastaların seçilmesinin nedeni renalazın doku düzeyinde değişikliklere yol açıp açmadığını ortaya koymak ve makrovasküler komplikasyonlardan ziyade mikrovasküler komplikasyonlara yol açıp açmadığını değerlendirmektir. Bu

çalışmanın sonucunda normotansif hastalarda serum renalaz düzeyinin ve renalaz gen polimorfizmlerinin tip 2 DM'li hastalarda diyabetik nefropati progresyonuna katkıda bulunmadığını söyleyebiliriz. Ancak rs2576178 polimorfizmi için GG genotipine sahip hastaların artmış DRP riskinin olması, diyabetik nefropati progresyonunda artmış riske neden olmasa da, diyabetin diğer mikrovasküler komplikasyonlarında artmış bir risk faktörü olduğunun göstergesi olabilir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda renalaz rs2296545, rs10887800 ve rs2576178 polimorfizmleri için gruplar arasında genotip dağılımı, alel frekansı ve tahmini rölatif risk açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Renalaz polimorfizmleri ile diyabetik nefropati progresyonu arasında ilişki saptanmadı.
2. Gruplar arasında serum renalaz düzeyi açısından fark saptanmamış olup, serum renalaz düzeyi ile diyabetik nefropati evreleri arasında ilişki saptanmadı. Diyabetik hastalarda, nefropatisi olsun ya da olmasın, tansiyon arteriyel değerleri tedavi ile kontrol altında ise serum renalaz düzeyleri normal popülasyon ile benzer saptandı.
3. Serum renalaz düzeyleri ile sistolik ve diyastolik kan basıncıda dahil olmak üzere değerlendirilen klinik ve biyokimyasal parametreler arasında ilişki saptanmadı.
4. Serum renalaz düzeyleri ile, serum renalaz düzeyine etki edebilecek klinik ve biyokimyasal faktörler dışlandığında, renalaz rs2296545, rs10887800 ve rs2576178 polimorfizmleri arasında ilişki saptanmadı.
5. Renalaz rs2296545, rs10887800 ve rs2576178 polimorfizmleri ile sistolik ve diyastolik kan basıncı arasında fark saptanmadı.

Çalışmamız tip 2 diyabetik nefropatinin progresyonu ile renalaz gen polimorfizmlerinin ilişkisini inceleyen ilk çalışma özelliğindedir. Çalışma sonuçlarının teyidi ya da reddi açısından yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Bizim çalışmamız ile diğer çalışmalar arasındaki tutarsızlığın nedeni çalışılan hasta popülasyonları arasındaki genetik heterojenite olabilir. Bizim çalışmamızda çalışma popülasyonu Türk kökenli Kafkas ırkından oluşuyordu. Bundan dolayı sonuçlar tüm etnik gruplara genellenemez. İleride benzer çalışmaların farklı popülasyonlarda yapılması yararlı olacaktır.

Renalaz proenzim olarak inaktif halde kana sekrete edilir. Serumda var olan enzimlerin hepsi aktif olmayabilir, renalaz seviyesi yüksek olmasına rağmen enzimatik aktivitesi düşük olabilir. Biz çalışmamızda renalaz enziminin enzimatik

aktivitesini ölçmedik. Bundan sonraki çalışmalarda, daha teknik optimizasyon gerektiren, renalaz enzimatik aktivitesi ölçülebilir.

Biz çalışmamızda renalaz enziminin daha önceki çalışmalarda hastalıklarla ilişkilendirilmiş 3 TNP'sini inceledik. Enzimi kodlayan tüm gen bölgesini incelemedik. Genin ifadesini etkileyen farklı polimorfizmlerde olabilir. Yapılacak çalışmalarda renalaz geninin tüm gen bölgeleri incelenebilir.

Biz çalışmamızda renalaz gen polimorfizmleri ve serum düzeyi ile tip 2 DN arasındaki ilişkiyi incelemeyi hedefledik. Bundan dolayı nefropati yapabilecek diğer nedenleri dışlamak amacı ile hipertansiyonu olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Bundan sonraki çalışmalarda hipertansif hastaların da çalışmaya dahil edildiği bir çalışma popülasyonu ile incelenebilir.

Çalışmamızda serum katekolamin düzeylerini ölçmedik. Bundan sonraki çalışmalarda serum katekolamin düzeyleri de ölçülerek daha ileri incelemeler yapılabilir.

Sonuç olarak renalazın KBH, diyabet ve hipertansiyondaki rolünü netleştirmek, patogenezindeki rolünü ispatlamak ya da reddetmek açısından ve hastalıkların önlenmesi, tedavisi ve yeni hedef tedaviler açısından daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. TEMD (Türkiye Endokrin ve Metabolizma Derneği) Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu, 2016 [Available from: [www.turkendokrin.org](http://www.turkendokrin.org)].
2. International Diabetes Federation, idf diabetes atlas-7th edition, 2015 [Available from: <http://www.diabetesatlas.org/>].
3. World Health Organization, "Global Status Report on Noncommunicable Diseases", Geneva 2014.
4. Satman İ, Alagöl F, Ömer B, Kalaca S, Tütüncü Y, Çolak N. türkiye diyabet, hipertansiyon, obezite ve endokrinolojik hastalıklar prevalans çalışması-II.(TURDEP II). Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği resmi web sayfası: Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. 2011.
5. World Health Organization. "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus". Geneva, 1999.
6. Fauci B, Kasper, Hauser, Longo, Jameson, Loscalzo (editors-in chief), Harrison's Principles of Internal Medicine. 19th Edition. Mc Graw Hall.
7. Yılmaz T. KA, Balcı K., Yetkin İ., Çömlekçi A., Sargın M., Özer E., Karadeniz Ş., UDK Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi, Ulusal Diyabet Kongresi Konsensus Grubu, İstanbul 2013.
8. Yıldız, A, Sekonder Glomerüler Hastalıklar. Erol Ç. İç Hastalıkları (1.baskı) Nobel Tıp, Ankara 2008.
9. "Diabetes Leadership Initiative State Projects: Results and Key Learnings", National Association of Chronic Disease Directors, 2014.

10. "Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States", U.S. Renal Data System (USRDS), 2014.
11. Süleymanlar, G. 2010. "Türkiye Kronik Böbrek Hastalığı Prevalansı Araştırması (CREDIT)".
12. T.C. Sağlık Bakanlığı ve Türk Nefroloji Derneği Ortak Raporu. 2012. "Türkiye'de Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon".
13. Feehally, J., Floege, J., Johnson J.R. 2007. Page 353-64. *Comprehensive Clinical Nephrology*, Third Edition, Mosby.
14. Xu J, Li G, Wang P, Velazquez H, Yao X, Li Y, et al. Renalase is a novel, soluble monoamine oxidase that regulates cardiac function and blood pressure. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(5):1275-80.
15. Desir GV, Peixoto AJ. Renalase in hypertension and kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2013:gft083.
16. Li G, Xu J, Wang P, Velazquez H, Li Y, Wu Y, et al. Catecholamines regulate the activity, secretion, and synthesis of renalase. *Circulation*. 2008;117(10):1277-82.
17. Farzaneh-Far R, Desir GV, Na B, Schiller NB, Whooley MA. A functional polymorphism in renalase (Glu37Asp) is associated with cardiac hypertrophy, dysfunction, and ischemia: data from the heart and soul study. *PLoS One*. 2010;5(10):e13496.
18. Zhao Q, Fan Z, He J, Chen S, Li H, Zhang P, et al. Renalase gene is a novel susceptibility gene for essential hypertension: a two-stage association study in northern Han Chinese population. *Journal of Molecular Medicine*. 2007;85(8):877-85.
19. Buraczynska M, Zukowski P, Buraczynska K, Mozul S, Ksiazek A. Renalase gene polymorphisms in patients with type 2 diabetes, hypertension and stroke. *Neuromolecular medicine*. 2011;13(4):321-7.

20. Wang F, Li J, Xing T, Xie Y, Wang N. Serum renalase is related to catecholamine levels and renal function. *Clinical and experimental nephrology*. 2015;19(1):92-8.
21. Zimmet P, Alberti K, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001;414(6865):782-7.
22. Diyabet, Tarihçe 2016 [Available from: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Diyabet>].
23. History of Diabetes 2016 [Available from: <http://www.news-medical.net/health/History-of-Diabetes.aspx>].
24. Shafirir E. History and perspective of diabetes illustrated by postage stamps: Freund Publishing House; 1999.
25. Dwivedi G, Dwivedi S. Sushruta-the clinician-teacher par excellence. *Indian Journal of Chest Diseases and Allied Sciences*. 2007;49(4):243.
26. Nabipour I. Clinical endocrinology in the Islamic civilization in Iran. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2003;1(1):43-5.
27. Dobson M, Fothergill J. Experiments and Observations on the Urine in a Diabetes 1776.
28. Patlak M. New weapons to combat an ancient disease: treating diabetes. *The FASEB Journal*. 2002;16(14):1853e-e.
29. Minkowski O. Die lehre vom pankreas-diabetes in ihrer geschichtlichen entwicklung. 1929.
30. Banting FG, Best CH. The internal secretion of the pancreas. *Indian Journal of Medical Research*. 2007;125(3):L251.
31. History of Diabetes, American Diabetes Association [Available from: <http://www.diabetes.org/research-and-practice/student-resources/history-of-diabetes.html>].



32. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser S, Longo D, Jameson JL (eds). Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th Edition. USA: Mc Graw Hall; 2008.
33. Association AD. Standards of Medical Care in Diabetes—2014. Diabetes Care 2014; 37 (Suppl. 1): S14–S80. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2014; 37 (Suppl. 1): S81–S90. Diabetes Care. 2014;37(3):887-.
34. Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. The Lancet. 2012;379(9833):2279-90.
35. American Diabetes A. Standards of medical care in diabetes--2012. Diabetes care. 2012;35 Suppl 1: S11-63.
36. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas. 6th edition, 2013. <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
37. Diabetes mellitus a guide to patient care. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2007. s. 15. ISBN 978-1-58255-732-8.
38. Goldman L., Ausiello D., Cecil Textbook of Medicine, 23.baskı, Ünal S (Çev.Ed.), Güneş Kitabevi Ltd. 2011;1748-1760.
39. Blázquez-Medela AM, López-Novoa JM, Martínez-Salgado C. Mechanisms involved in the genesis of diabetic nephropathy. Current diabetes reviews. 2010;6(2):68-87.
40. Parving H-H, Tarnow L, Rossing P. Genetics of diabetic nephropathy. Journal of the American Society of Nephrology. 1996;7(12):2509-17.
41. Magri CJ, Fava S. The role of tubular injury in diabetic nephropathy. European journal of internal medicine. 2009;20(6):551-5.
42. Phillips A, Steadman R. Diabetic nephropathy: the central role of renal proximal tubular cells in tubulointerstitial injury. 2002.

43. Ruggenenti P, Remuzzi G. Nephropathy of type 1 and type 2 diabetes: diverse pathophysiology, same treatment? *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2000;15(12):1900-2.
44. Pontremoli R, Nicoletta C, Viazzi F, Ravera M, Sofia A, Berruti V, et al. Microalbuminuria is an early marker of target organ damage in essential hypertension. *American journal of hypertension*. 1998;11(4):430-8.
45. Association AD. Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care*. January 2002;25(1).
46. The History and origins of diabetes mellitus, <http://www.diabetescareplan.net/>, 2016.
47. Kimmelstiel P, Wilson C. Intercapillary lesions in the glomeruli of the kidney. *The American journal of pathology*. 1936;12(1):83.
48. Bell H, Best C, Haist R. The effect of partial pancreatectomy on the concentration of insulin in the pancreatic remnant. *The Journal of physiology*. 1942;101(1):11.
49. Mogensen CE. Preventing end-stage renal disease. *Diabetic Medicine*. 1998;15(S4):S51-S6.
50. Wolf G. New insights into the pathophysiology of diabetic nephropathy: from haemodynamics to molecular pathology. *European journal of clinical investigation*. 2004;34(12):785-96.
51. The World Health Organisation Multinational Study of Vascular Disease in Diabetics: Prevalence of small vessel and large vessel disease in diabetic patients from 14 centers. *Diabetologia* 1985; 28 (Suppl): 615-640.
52. Parving H-H. Diabetic nephropathy: prevention and treatment. *Kidney international*. 2001;60(5):2041-55.

53. Gross JL, De Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes care*. 2005;28(1):164-76.
54. Gundersen H, Gøtzsche O, Hirose K, Kroustrup J, Morgensen C, Seyer-Hansen K, et al. Early structural changes in glomerular capillaries and their relationship to long-term diabetic nephropathy. *Acta endocrinologica Supplementum*. 1981;242:19.
55. Büyükdevrim AS BM, Davutoğlu M. Diyabetik Nefropati Klinik, Moleküler Patogenez, Klasik ve Moleküler Tedavi. 1.baskı. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 2005.
56. Osterby R. Early Phases in the Development of Diabetic Glomerulopathy: A Quantitative Electron Microscopic Study. *ACTA MEDICA SCANDINAVICA*. 1975:3-82.
57. Nishi S, Ueno M, Hisaki S, Iino N, Iguchi S, Oyama Y, et al. Ultrastructural characteristics of diabetic nephropathy. *Medical Electron Microscopy*. 2000;33(2):65-73.
58. Tisher CC, Hostetter TH. Diabetic nephropathy. In: CC Tisher, BM Brenner (eds). *Renal Pathology with Clinical and Functional Correlations*. 2.baskı. Philadelphia: JJ Lippincott Company; 1994. 1387-1412.
59. Alsaad K, Herzenberg A. Distinguishing diabetic nephropathy from other causes of glomerulosclerosis: an update. *Journal of clinical pathology*. 2007;60(1):18-26.
60. Henry M. Kronenberg SM, Kenneth S. Polonsky, P. Reed Larsen. *Williams Textbook of Endocrinology*: Saunders. 1936 p.
61. Seaquist ER, Goetz FC, Rich S, Barbosa J. Familial clustering of diabetic kidney disease. *New England Journal of Medicine*. 1989;320(18):1161-5.

62. Anderson S. Relevance of single nephron studies to human glomerular function. *Kidney international*. 1994;45(2):384-9.
63. Forbes J, Fukami K, Cooper M. Diabetic nephropathy: where hemodynamics meets metabolism. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*. 2007;115(02):69-84.
64. DeFronzo RA., 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. .
65. Gábor L. Kovács. Diabetic Nephropathy. *The Journal of The International Federation of Clinical Chemistry And Laboratory Medicine*. eJIFCC 20/01 2009.
66. Giacchetti G, Sechi LA, Rilli S, Carey RM. The renin–angiotensin–aldosterone system, glucose metabolism and diabetes. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2005;16(3):120-6.
67. Joslin EP., *Joslin's Diabetes Mellitus*, 14. baskı, Çev: Volkan Yumuk, İstanbul Medikal yayıncılık, 2008. S:853-862.
68. Pickup J, Williams G. Pathogenesis of diabetic nephropathy. *Textbook of diabetes* 2nd ed Edinburg: Blackwell Science. 1997:52.1-21.
69. Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ. *Joslin: Diabetes Mellitus-14: Artmed Editora; 2009*.
70. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Robbins S, Cotran R. *The skin*. Robbins and Cotran *Pathologic Basis of Disease* 7th ed Philadelphia, PA: Elsevier Saunders. 2005.
71. Kanwar YS, Wada J, Sun L, Xie P, Wallner EI, Chen S, et al. Diabetic nephropathy: mechanisms of renal disease progression. *Experimental biology and medicine*. 2008;233(1):4-11.

72. Reckelhoff JF, Tygart VL, Mitias MM, Walcott JL. STZ-induced diabetes results in decreased activity of glomerular cathepsin and metalloprotease in rats. *Diabetes*. 1993;42(10):1425-32.
73. Reckelhoff JF, Tygart VL, Racusen LC, Dzielak DJ. Glomerular metalloprotease activity in streptozotocin-treated rats and in spontaneously diabetic rats (BB/DP). *Life sciences*. 1994;55(12):941-50.
74. Derubertis FR, Craven PA. Activation of protein kinase C in glomerular cells in diabetes: mechanisms and potential links to the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. *Diabetes*. 1994;43(1):1-8.
75. Gürler İliçin, Gültekin Süleymanlar, Serhat Ünal. İç Hastalıkları 3. baskı, 2012.
76. Hoshi S, Nomoto K-i, Kuromitsu J, Tomari S, Nagata M. High glucose induced VEGF expression via PKC and ERK in glomerular podocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2002;290(1):177-84.
77. Goldman L., Ausiello D., Cecil Textbook of Medicine, 23.baskı, Ünal S (Çev.Ed.), Güneş Kitabevi Ltd. Ankara 2011;887-891.
78. Candido R, Allen TJ. Haemodynamics in microvascular complications in type 1 diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2002;18(4):286-304.
79. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor  $\beta$  in tissue fibrosis. *New England Journal of Medicine*. 1994;331(19):1286-92.
80. Ziyadeh FN, Han DC. Involvement of transforming growth factor-beta and its receptors in the pathogenesis of diabetic nephrology. *Kidney international Supplement*. 1997;60:S7-11.
81. Li JH, Huang XR, Zhu H-J, Johnson R, Lan HY. Role of TGF- $\beta$  signaling in extracellular matrix production under high glucose conditions. *Kidney international*. 2003;63(6):2010-9.

82. Sharma K, McGowan TA. TGF- $\beta$  in diabetic kidney disease: role of novel signaling pathways. *Cytokine & growth factor reviews*. 2000;11(1):115-23.
83. Lee E-Y, Shim MS, Kim MJ, Hong SY, Shin YG, Chung CH. Angiotensin II receptor blocker attenuates overexpression of vascular endothelial growth factor in diabetic podocytes. *Experimental and molecular medicine*. 2004;36(1):65-70.
84. Goldschmeding R, Aten J, Ito Y, Blom I, Rabelink T, Weening JJ. Connective tissue growth factor: just another factor in renal fibrosis? *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2000;15(3):296-9.
85. Riser BL, Denichilo M, Cortes P, Baker C, Grondin JM, Yee J, et al. Regulation of connective tissue growth factor activity in cultured rat mesangial cells and its expression in experimental diabetic glomerulosclerosis. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2000;11(1):25-38.
86. Wahab NA, et al. Role of connective tissue growth factor in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Biochemical Journal*. 2001;359(1):77-87.
87. Büyükdevrim S, Davutoğlu M. *Diyabetik Nefropati: Turgut Yayıncılık; İstanbul 2005.*
88. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2008;19(3):433-42.
89. Young BA, Johnson RJ, Alpers CE, Eng E, Gordon K, Floege J, et al. Cellular events in the evolution of experimental diabetic nephropathy. *Kidney international*. 1995;47(3):935-44.
90. Twigg SM, Chen MM, Joly AH, Chakrapani SD, Tsubaki J, Kim H-S, et al. Advanced Glycosylation End Products Up-Regulate Connective Tissue Growth Factor (Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein-Related Protein 2) in Human Fibroblasts: A Potential Mechanism for Expansion of Extracellular Matrix in Diabetes Mellitus 1. *Endocrinology*. 2001;142(5):1760-9.

91. Rolo AP, Palmeira CM. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicology and applied pharmacology*. 2006;212(2):167-78.
92. Satirapoj B. Review on pathophysiology and treatment of diabetic kidney disease. *J Med Assoc Thai*. 2010;93(Suppl 6):S228-41.
93. Takahashi K, Nammour T, Fukunaga M, Ebert J, Morrow J, Roberts 2nd L, et al. Glomerular actions of a free radical-generated novel prostaglandin, 8-epi-prostaglandin F2 alpha, in the rat. Evidence for interaction with thromboxane A2 receptors. *Journal of Clinical Investigation*. 1992;90(1):136.
94. Obineche EN, Adem A. Update in diabetic nephropathy. *International Journal of Diabetes and Metabolism*. 2005;13(1):1.
95. Salahudeen A, Kanji V, Reckelhoff J, Schmidt A. Pathogenesis of diabetic nephropathy: a radical approach. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1997;12(4):664-8.
96. Altıparmak MR, Apaydın S. Diyabetik nefropati. Yenigün M (Editör). Her yönüyle diabetes mellitus. 2.baskı. Nobel Tıp Kitabevi; İstanbul 2001.s.383–99.
97. Marso SP. *The Handbook of Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease: Remedica*; 2003.
98. İmamoğlu Ş, Ersoy CÖ (editörler) *Diabetes Mellitus*. 3. baskı. İstanbul: Deomed Yayıncılık; 2009.
99. Control D, Group CTR. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl j Med*. 1993;1993(329):977-86.
100. Arima S, Ito S. The mechanisms underlying altered vascular resistance of glomerular afferent and efferent arterioles in diabetic nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2003;18(10):1966-9.

101. Earle KA, Porter KK, Ostberg J, Yudkin JS. Variation in the progression of diabetic nephropathy according to racial origin. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2001;16(2):286-90.
102. Mogensen CE, Schmitz O. The diabetic kidney: from hyperfiltration and microalbuminuria to end-stage renal failure. *The Medical Clinics of North America*. 1988;72(6):1465-92.
103. Tekin A, Cengiz U, Gültekin S. *Nefroloji El Kitabı*. 4. baskı. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2007.
104. Parving H, Mauer M, Ritz E. Diabetic nephropathy. In: Brenner BM, Levine SA. *Brenner & Rector's The Kidney*. 8th ed. USA: Saunders Elsevier, 2008; 1265-1279.
105. Williamson MA, Snyder LM. *Wallach's Interpretation of Diagnostic Tests: Pathways to Arriving at a Clinical Diagnosis*: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
106. Barry M. Brenner. *Brenner Rector's the Kidney*. 7th Edition. Vol 2. Saunders, 2004.
107. Dikow R, Ritz E. The patient with diabetes mellitus. In: Davison AM, Cameron JS, Grunfeld JP, Ponticelli C, Ritz E, Winearls CG, Ypersele CV eds. *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*. New York, Oxford University Press. 2005;559-678.
108. Williams G, Pickup JC (editors). *Handbook of diabetes*. 3rd edition. Blackwell Publishing, 2004.
109. Shah VO, Scavini M, Stidley CA, Tentori F, Welty TK, MacCluer JW, et al. Epidemic of diabetic and nondiabetic renal disease among the Zuni Indians: the Zuni Kidney Project. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2003;14(5):1320-9.



110. Mogensen CE, Vestbo E, Poulsen PL, Christianse C, Damsgaar EM, Hans E, et al. Microalbuminuria and potential confounders: a review and some observations on variability of urinary albumin excretion. *Diabetes care*. 1995;18(4):572-81.
111. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney international*. 2003;63(1):225-32.
112. Ziyadeh FN. Primer on Kidney Disease. In: Arthur G ed. *Management of Diabetic Nephropathy*. 5th ed. China: Mosby; 2009;224-32.
113. Romero-Aroca P, Mendez-Marin I, Baget-Bernaldiz M, Fernández-Ballart J, Santos-Blanco E. Review of the relationship between renal and retinal microangiopathy in diabetes mellitus patients. *Current diabetes reviews*. 2010;6(2):88-101.
114. Andersen A, Christiansen JS, Andersen J, Kreiner S, Deckert T. Diabetic nephropathy in type 1 (insulin-dependent) diabetes: an epidemiological study. *Diabetologia*. 1983;25(6):496-501.
115. Mogensen C, Christensen C. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *New England Journal of Medicine*. 1984;311(2):89-93.
116. Mauer SM, Chavers BM, Steffes MW. Should there be an expanded role for kidney biopsy in the management of patients with type I diabetes? *American Journal of Kidney Diseases*. 1990;16(2):96-100.
117. Group UPDS. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *The Lancet*. 1998;352(9131):837-53.
118. Tolins JP, Shultz PJ, Westberg G, Rajj L. Renal hemodynamic effects of dietary protein in the rat: role of nitric oxide. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1995;125(2):228-36.

119. Mur C, Claria J, Rodela S, Lario S, Campistol J, Titos E, et al. Cigarette smoke concentrate increases 8-epi-PGF 2 $\alpha$  and TGF $\beta$  1 secretion in rat mesangial cells. *Life sciences*. 2004;75(5):611-21.
120. Guo X, Wang L, Velazquez H, Safirstein R, Desir GV. Renalase: its role as a cytokine, and an update on its association with type 1 diabetes and ischemic stroke. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2014;23(5):513.
121. Desir GV. Renalase is a novel renal hormone that regulates cardiovascular function. *Journal of the American Society of Hypertension*. 2007;1(2):99-103.
122. Wang F, Xing T, Li J, Bai M, Hu R, Zhao Z, et al. Renalase's expression and distribution in renal tissue and cells. *PLoS One*. 2012;7(10):e46442.
123. Hennebry S, Eikelis N, Socratous F, Desir G, Lambert G, Schlaich M. Renalase, a novel soluble FAD-dependent protein, is synthesized in the brain and peripheral nerves. *Molecular psychiatry*. 2010;15(3):234-7.
124. Ghosh SS, Krieg RJ, Sica DA, Wang R, Fakhry I, Gehr T. Cardiac hypertrophy in neonatal nephrectomized rats: the role of the sympathetic nervous system. *Pediatric Nephrology*. 2009;24(2):367-77.
125. Ramanjaneya M, Tan B, Patel V, Hu J, Lehnert H, Hillhouse E, et al. Renalase a key regulator of brown adipose tissue activity. 2014.
126. Fatima SS, Jamil Z, Alam F, Malik HZ, Madhani SI, Ahmad MS, et al. Polymorphism of the renalase gene in gestational diabetes mellitus. *Endocrine*. 2017;55(1):124-9.
127. Musiałowska D, Małyszko J. Renalase—a new marker or just a bystander in cardiovascular disease: clinical and experimental data. *Kardiologia polska*. 2016:937-42.
128. Stec A, Semczuk A, Furmaga J, Ksiazek A, Buraczynska M. Polymorphism of the renalase gene in end-stage renal disease patients affected by hypertension. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2012;27(11):4162-6.

- 129.Rezk NA, Zidan HE, Elnaggar YA, Ghorab A. Renalase Gene Polymorphism and Epinephrine Level in Chronic Kidney Disease. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2015;175(4):2309-17.
- 130.Lv Y-B, Wang Y, Ma W-G, Yan D-Y, Zheng W-L, Chu C, et al. Association of Renalase SNPs rs2296545 and rs2576178 with the Risk of Hypertension: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016;11(7):e0158880.
- 131.Bagci B, Karakus S, Bagci G, Sancakdar E. Renalase gene polymorphism is associated with increased blood pressure in preeclampsia. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health*. 2016;6(2):115-20.
- 132.Stec A, Ksiazek A, Buraczynska M. Rs10887800 renalase gene polymorphism is associated with an increased risk of coronary artery disease in hemodialyzed patients. *International urology and nephrology*. 2016:1-6.
- 133.Wang F, Huang B, Li J, Liu L, Wang N. Renalase might be associated with hypertension and insulin resistance in Type 2 diabetes. *Renal failure*. 2014;36(4):552-6.
- 134.Przybylowski P, Malyszko J, Kozłowska S, Koc-Zorawska E, Mysliwiec M, editors. Serum renalase depends on kidney function but not on blood pressure in heart transplant recipients. *Transplantation proceedings*; 2011: Elsevier.
- 135.Koc-Zorawska E, Malyszko J, Zbroch E, Malyszko J, Mysliwiec M. Vascular adhesion protein-1 and renalase in regard to diabetes in hemodialysis patients. *Arch Med Sci*. 2012;8(6):1048-52.
- 136.Gaber EW, El-Attar HA. The relationship between dopamine and renalase in type 2 diabetic patients with and without diabetic nephropathy. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease*. 2013;13(3):130-7.

