

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DİYABETİK NEFROPATİDE MİKROALBUMİNÜRİ
İLE PROLİDAZ ENZİM AKTİVİTESİ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Ömer BODUROĞLU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tefvik SABUNCU

ŞANLIURFA
2010

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DİYABETİK NEFROPATİDE MİKROALBUMİNÜRİ
İLE PROLİDAZ ENZİM AKTİVİTESİ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Ömer BODUROĞLU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tevfik SABUNCU

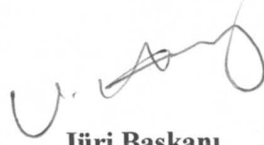
Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Kurulu (HÜBAK)
tarafından 912 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2010

TEZ YAZIM KURALLARI
(Tezin Kabul ve Onay Belgesi)

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

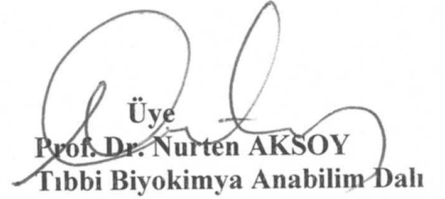
Dr. Ömer BODUROĞLU'nun hazırladığı "Diyabetik Nefropatide Mikroalbuminüri ile Prolidaz Enzim Aktivitesi Arasındaki İlişki" başlıklı tezi .11.10.2010 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek İç Hastalıkları Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.



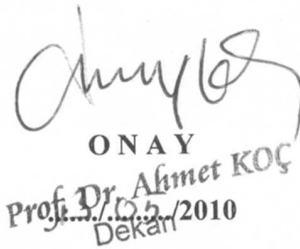
Jüri Başkanı
Doç. Dr. Mehmet HOROZ
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı



Üye
Prof. Dr. Tevfik SABUNCU
Endokrinoloji Bilim Dalı Başkanı



Üye
Prof. Dr. Nurten AKSOY
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı



ONAY
Prof. Dr. Ahmet KOÇ
11.10.2010
Dekan

DEKAN

TEŞEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük katkısı olan, her zaman desteğini hissettiğim başta sayın hocam Prof.Dr. Tevfik SABUNCU olmak üzere değerli hocalarım Sayın Doç.Dr. Cengiz BÖLÜKBAŐ'a, Doç.Dr. F.Fusun BÖLÜKBAŐ'a, Doç.Dr. Yaşar NAZLIGÜL'e, Doç.Dr. Mehmet HOROZ'a, Doç. Dr. İbrahim ERTUĞRUL'a, Yrd. Doç. Dr. Hakan BÜYÜKHATIPOĞLU'na, Yrd.Doç.Dr. Suzan TABUR'a, Yrd.Doç.Dr. Ayşe Nur İzol TORUN'a, Yrd.Doç.Dr. Elmas UZER'e, Uzm. Dr. Mehmet Ali EREN'e ve rotasyon yaptığım bölümlerdeki bütün hocalarıma saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Biyokimya Anabilim Dalı'nda görevli tüm asistan arkadaşlar ile personele ve sayın hocam Prof. Dr. Nurten AKSOY'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimim boyunca her türlü destek ve katkılarını esirgemeyen asistan arkadaşlarıma, tüm hastane ve dekanlık personeline teşekkür ederim.

Son olarak her daim kıymeti bilinmesi gereken güzel aileme şükranlarımı sunarım.

Dr.Ömer BODUROĞLU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
KISALTMALAR.....	vi
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Diabetes Mellitus.....	3
2.1.1. Tanım ve Tarihçe.....	3
2.1.2. Tanı ve Sınıflama.....	4
2.1.3. Epidemiyoloji.....	5
2.1.4. Patogenez.....	7
2.2. Tip 2 Diyabet ve Kronik Komplikasyonları.....	9
2.3. Diyabetik Nefropati.....	10
2.3.1. Tanım ve Epidemiyoloji.....	10
2.3.2. Risk Faktörleri.....	10
2.3.3. Patofizyoloji.....	12
2.3.4. Morfolojik değişiklikler.....	14
2.3.5. Klinik seyri ve Evreleri.....	15
2.3.6. Tedavi ve Koruma.....	18
2.4. Prolidaz.....	21

	Sayfa
2.4.1. Tanım.....	21
2.4.2. Prolidazın Yapısı.....	22
2.4.3. İnsanda Prolidazın Gen Lokalizasyonu.....	22
2.4.4. Prolidazın İzoenzimleri.....	23
2.4.5. Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri.....	24
2.4.6. Kollajen.....	25
2.4.7. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımındaki Önemi.....	25
2.4.8. Prolin ve Hidroksiprolin.....	27
2.4.9. Prolidaz Eksikliği Hastalığı.....	27
3. MATERYEL VE METOD.....	28
3.1. Hasta Grubu ve Çalışma Protokolü.....	28
3.2. Yöntem ve Ölçümler.....	28
3.2.1. Prolidaz Aktivitesi.....	29
3.2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	29
3.2.1.2. Kullanılan Kimyasallar.....	30
3.2.1.3. Prolidaz Aktivitesi Ölçümünde Kullanılan Ayraçlar.....	31
3.2.1.4. Serum Prolidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi [Modifiye (optimize) chinard metodu].....	31
3.2.1.5. Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması.....	33
3.3. İstatistik.....	33
4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	37
6. KAYNAKLAR.....	42

TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1. Diyabetin Güncel Sınıflaması.....	6
Tablo 2. Tip 2 diyabetle ilişkili kronik komplikasyonlar.....	9
Tablo 3. Diyabetik nefropati için risk faktörleri.....	11
Tablo 4. Diyabetik nefropati patogeneğinde hiperglisemi ile ilgili mekanizmalar.....	12
Tablo 5. Diyabetik nefropatide görülebilen morfolojik değişiklikler.....	14
Tablo 6. Albuminüri derecelerine göre sınıflandırma.....	18
Tablo 7. İnsan Prolidaz I ve Prolidaz II İzoenzimlerinin Doku Dağılımları (%).....	24
Tablo 8. Grupların Demografik Özellikleri.....	34
Tablo 9. Grupların Prolidaz ve Laboratuar Özellikleri.....	35

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1. Proteinürinin İndüklediği Renal Hasarın Mekanizması.....	17
Şekil 2. İnsan Prolidaz Genini İçeren 19. Kromozom.....	23
Şekil 3. Kollajen Yıkımında Prolidaz ve Prolinazın Yeri.....	26
Şekil 4. Grupların Ortalama Prolidaz Aktiviteleri farkının, dağılım ve standart sapmalarının grafiksel gösterimi	36

KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACE	Anjiotensin Converting Enzim
ACEI	Anjiotensin Converting Enzim İnhibitörü
ADA	Amerika Diyabet Birliği
AGE	İleri Glikozilasyon Son Ürünleri
ARB	Anjiotensin Reseptör Blokeri
ATII	Anjiotensin II
BKI	Beden Kütle İndeksi
CTGF	Connective Tissue Growth Factor
DAG	Diaçilgliserol
DM	Diabetes Mellitus
DN	Diyabetik Nefropati
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
DEAE	Dietiaminoetil selüloz dizi kromatografisi
GFR	Glomeruler Filtrasyon Hızı
GH	Growth hormon
HbA1c	Glikozile Hemoglobin
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
IDDM	İnsülin bağımlı diabetes mellitus
IGF-1	İnsulin like growth factor - 1
IGT	Bozulmuş Glukoz Toleransı
IDNT	Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial
JNS	Uluslararası Hipertansiyon Cemiyeti
Kre	Kreatinin
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein

M.alb	Mikroalbumin
MCP-1	Monosit Kemoatraktan Protein-1
MMP-9	Matriks Metalloproteinazı 9
MODY	Maturity onset diabetes of the young
MI	Miyokard İnfarktüsü
mRNA	Mesajcı Ribonükleik asit
M.Ö.	Milattan Önce
M.S.	Milattan Sonra
NDDG	Ulusal Diyabet Çalışma Grubu
NIDDM	İnsüline bağımlı olmayan diyabetes mellitus
NHANES	Ulusal Sağlık ve Beslenme İncelemesi Anketi III
PHS	Physicians Health Study
PKC	Protein Kinaz C
P1CP	Carboxy-Terminal Propeptide Type I Procollagen
RAGE	AGE reseptörleri
SDBY	Son dönem böbrek yetmezliği
SADP	Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi
TG	Trigliserit
TGF-beta	Transforming Growth Factor Beta
TNF-alfa	Tümör Nekrozis Faktör-alfa
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TURDEP	Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

DIYABETİK NEFROPATİDE MİKROALBUMİNÜRİ İLE PROLİDAZ ENZİM AKTİVİTESİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Amaç: Bu çalışma, tip 2 diyabetli hastalarda mikroalbuminüri ile prolidaz enzim aktivitesi arasında bir ilişki olup olmadığını değerlendirmek amacıyla yapıldı.

Yöntem: Çalışmaya yaş, cinsiyet ve beden kütle indeksleri birbiriyle uyumlu tip 2 diyabetli 30 mikroalbuminürik hasta (15 erkek, 15 bayan), tip 2 diyabetli 30 normoalbuminürik hasta (15 erkek, 15 bayan) ve 28 sağlıklı kontrol (14 bayan, 14 erkek) olmak üzere toplam 88 kişi alındı.

Bulgular: Mikroalbuminürik grubun ortalama prolidaz aktivitesi normoalbuminürik gruba ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti (sırasıyla $p=0,043$ ve $p<0,001$). Normoalbuminürik grubun ortalama prolidaz aktivitesi ise kontrol grubundan daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

Sonuç: Tip 2 diyabetli mikroalbuminürik grupta prolidaz enzim aktivitesinin diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmesi, bu hastalarda kollajenin birikimiyle birlikte mikroanjiopatik patolojilerin ortaya çıktığını ve kollajenin metabolizmasının değişikliğe uğrayıp, turn-overının hızlandığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Diyabetik nefropati, mikroalbuminüri, normoalbuminüri, kollajen, prolidaz.

ABSTRACT

THE RELATIONSHIP BETWEEN MICROALBUMINURIA and PROLIDASE ENZYME ACTIVITY in DIABETIC NEPHROPATHY

Objective: We aimed to investigate the relationship between microalbuminuria and prolidase enzyme activity in patients with type 2 diabetes mellitus.

Method: Sex, age and body mass index matched 30 diabetic patients with microalbuminuria (15 males and 15 females), 30 diabetic patients with normoalbuminuria (15 males and 15 females) and 28 (14 males and 14 females) healthy controls were enrolled.

Results: Mean prolidase activity in microalbuminuric group was significantly higher than normoalbuminuric and control groups ($p=0,043$ and $p<0,001$; respectively). Otherwise mean prolidase activity in normoalbuminuric group was higher than control group, but not statically significant ($p>0,05$).

Conclusion: Increased prolidase enzyme activity was detected in microalbuminuric group when compared with other groups. These finding suggested that microangiopathic pathologies occurred with collagen deposition, collagen metabolism altered and turnover of collagen increased in these patients.

Key words: Diabetic nephropathy, microalbuminuria, normoalbuminuria, collagen, prolidase.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM) insülin salgısının mutlak veya göreceli eksikliği ve/veya insülin direnci ile oluşan, hiperglisemi ile kendini belli eden, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize kronik ve progresif bir metabolizma hastalığıdır (1). Sürekli artmakta olan hareketsiz yaşam, obezite, beslenme bozuklukları ve ortalama yaşam süresindeki artış gibi faktörlere bağlı olarak diabetes mellitusun da sıklığı hızla artmaktadır (2). Günümüzde tüm dünyada yaklaşık 150 milyon insanın bu hastalıktan etkilendiği ve 2025 yılında bu rakamın 2 katına çıkarak dünya nüfusunun %5.4'üne ulaşacağı tahmin edilmektedir (3,4). Tip 2 diyabet, tüm diyabetlilerin %90'ından fazlasını oluşturması nedeniyle bu artıştan asıl sorumlu olan tiptir (5).

DM vasküler komplikasyonları nedeniyle mortalite ve morbiditenin önde gelen nedenlerinden biridir. Kalıtsal ve çevresel etkenler karşılıklı olarak birbirleriyle etkileşerek, diyabetle ilişkili vasküler komplikasyonların gelişimini ve seyrini etkileyebilir (6). Diyabete bağlı vasküler komplikasyonlar mikrovasküler komplikasyonlar (nefropati, nöropati ve retinopati) ve makrovasküler komplikasyonlar (koroner ateroskleroz, serebral ateroskleroz ve periferik vasküler hastalık) olarak ayrılır. Makrovasküler komplikasyon olarak diyabetli bireyler özellikle kardiyovasküler hastalık (KVH) açısından belirgin bir risk altındadırlar ve ölümlerin %80'inden fazlası KVH nedeniyle gelişmektedir. Aynı zamanda mikrovasküler komplikasyonlar nedeniyle diyabet son dönem böbrek yetmezliğinin, periferik nöropatinin, periferik damar hastalığının, travmatik olmayan ayak amputasyonlarının ve körlüğün önemli bir nedenidir (7). Özellikle diyabetik nefropati (DN) tip 2 diyabetin morbidite ve mortalitesinden esas sorumlu olan, birçok organı tutabilen, hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen ve erken ölümle sonuçlanabilen en önemli komplikasyondur (8).

Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait bir enzimdir ve C-terminal ucunda prolin veya hidroksiprolin bulunan dipeptidlerin intrasellüler hidrolizinden sorumludur (9). Toplam vücut proteinin %30 gibi büyük bir kısmını kollajen oluşturur. Kollajenin yapısındaki amino asitlerin ise yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksiprolin oluşturmaktadır. Prolidaz bu iki

aminoasiti içeren dipeptid ve tripeptidleri yıkan tek enzim olması nedeniyle, kollajen yıkımı ve prolinin kollajen yapısına yeniden girmesinde aktif görev almaktadır (10).

Diyabetik mikroanjiyopati, diyabetik hastalarda tüm vücutta görülen en karakteristik morfolojik değişikliktir, en belirgin böbrek lezyonu glomerullerde ve damarlarda ortaya çıkar (11). Elektron mikroskopik olarak diyabette en erken görülen değişiklik glomeruler bazal membran kalınlaşması ve mezengiyum artışıdır. Bu değişiklikler hastalığın ilerlemesiyle daha da belirginleşir (12,13). Glomeruler bazal membranın kuru ağırlığının yaklaşık %50'sini tip IV kollajen oluşturur. Bunun dışında laminin, polianyonik proteoglikanlar, fibronektin ve diğer bazı glikoproteinler de mevcuttur. Kollajen diğer glikoproteinlerin tutunmasını sağlayan bir ağ oluşturur ve kapiller duvarın güçlü olmasını sağlar. Mezengiyal matriks glomeruler bazal membran ile aynı biyokimyasal komponentleri içerir. Mezengiyal hücrelerin proliferasyon yeteneği vardır ve mezengiyal matriks ile kollajeni sentezlerler (14). Mezengiyal değişikliklerin ağırlığı hastalığın ilerlemesiyle gittikçe artar ve genellikle matriks artışı uniform bir görünüm kazanır. Aynı zamanda glomeruler kapiller duvardaki artış da devam eder ve klinik olarak mikroalbuminüri ortaya çıkar (15).

Diyabette damarsal hastalığın progresyonunun glomeruldeki değişikliklerin ağırlığı ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (16). Mikroalbuminürisi olan diyabetik hastalarda mikroalbuminürisi olmayanlara göre arterioler media tabakasındaki matriks miktarı artmıştır (17). Kollajenin birikimi ve turn-overının bozulması koşullarında prolidaz enzim aktivitesinin de değişmesi beklenir (18). Yapılan bir çalışmada diyabetiklerde serum prolidaz aktivitesinin oldukça düşük olduğu bildirilmişse de (10) diyabetik nefropatide prolidaz düzeylerinin nasıl etkilendiği konusunda halen yeterli veri bulunmamaktadır.

Bu çalışma ile diyabetik hastalarda mikroalbuminüri ile prolidaz düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığı araştırılacaktır. Böylece diyabetik hastaların mortalite ve morbiditesine önemli ölçüde etki eden bu diyabetik komplikasyonun patogenezinde prolidaz enzim aktivitesinin bir rolünün olup olmadığı yönünde veriler elde edilebilecektir. Prolidaz enzim aktivitesi ile mikroalbuminüri arasında herhangi bir korelasyonun saptanması durumunda diyabetik hastalarda nefropatinin belirlenmesinde prolidaz enzim aktivitesinin bir gösterge olarak kullanılma ihtimalini ortaya çıkaracaktır. Ayrıca mikroalbuminüri ve prolidaz düzeyleri arasında gerek pozitif gerekse negatif bir ilişki bulunması durumunda, verilerimiz patogenetik sürece müdahale açısından enzimin bir hedef olarak seçilebilmesine olanak verebilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1. Tanım ve Tarihçe

DM glukoz ve diğer enerji veren moleküllerin bozulmuş metabolizması ile uzun dönemde vasküler ve nöropatik komplikasyonların oluşumuyla karakterize kronik bir hastalıktır. Ortak tetikleyici faktörün hiperglisemi olduğu değişik patojenik mekanizmalarla oluşan bir grup bozukluğun birleşiminden meydana gelmektedir. DM’de İnsülin eksikliği total, parsiyel veya birlikte bulunan insülin rezistansı açısından bakıldığında, göreceli olarak bulunabilir (19).

DM hakkındaki bilgiler milattan önceki yıllara uzanmaktadır. M.Ö. 1500 yıllarında Mısır papirüslerinde aşırı idrarla seyreden bir hastalık tanımlanmıştır. M.Ö. V. yüzyılda Hintli hekim Susruta “Susruta-Samhita” adlı eserinde aşırı susama, ağır bir ağız kokusu, yorgunlukla birlikte ballı idrarla seyreden bir hastalıktan bahsetmiştir. Hastalığa ilk kez diyabet adını M.S. 130-200 yılları arasında yaşayan Kapadokyalı Aretheaus vermiştir. Aretheaus eserinde diyabeti, “Hastalık etlerin ve uzuvların sulanarak idrar haline geçmesidir. Bu illete tutulan hasta su içmeye asla kanmaz, idrar etmekten asla kendini alıkoyamaz, çünkü sıvılar vücudundan süzülerek (diabetes: süzme, süzülme) dışarı akar, böbrekler, mesane, idrar yolları sanki genişçe açılmış bir kanaldır. Bir süre sonra bu durum zayıflama ve kollapsusa neden olur, hayat ancak bir müddet devam eder, çok uzun sürmez” şeklinde tanımlamıştır. M.S. 1000 yıllarında İbn-i Sina, diyabetiklerde ilk kez gangreni tanımlamış, ayrıca diyabetin birbirinden farklı gidiş gösteren iki tipinin oluşunu belirtmiştir. Yüzyıllar boyu diyabetiklerin idrarı tatlı olarak bilinmekle birlikte, 1674 yılında Willis, idrarın bal ve tatlı karışımı bir tadı olması nedeniyle hastalığa Diabetes Mellitus (mellitus: bal) adını vermiştir. Ondokuzuncu

yüzyıl başlarında pankreas ile hastalık arasındaki ilişki belirlenmiş, 1869'da Langerhans memelilerde pankreas adacıklarını tanımlamıştır. Kanadalı diyabetli bir çocuğa 1922'de injekte edilen pankreas ekstresinin, yüksek kan glukoz düzeyini düşürdüğü, glukozüri ve ketonüriyi kontrol altına aldığı gösterilmiştir. Meyer, Langerhans adacıklarından salgılanan ve kan glukozunu düşüren bu maddeye“insülin” adını vermiştir. İnsülinin moleküler yapısı 1955'te Sanger tarafından gösterilmiş ve bu buluşu kendisine Nobel ödülü kazandırmıştır. Steiner, 1967'de insülin prekürsörü olan proinsülini, 1969'da Hodgkin insülinin üç boyutlu yapısını, 1980'de Bell insülin genini göstermişlerdir. Freychetin ve Cuatrecasas 1985'de insülin reseptör genini klonlamışlardır (20).

2.1.2. Tanı ve Sınıflama

Diyabete özgü klasik semptomların ve komplikasyonların varlığında tanı kolaylıkla konabilir. Ancak gerçek anlamda ve erken tanı bazı laboratuvar yöntemlerinin doğru bir şekilde kullanılması ve sonuçların değerlendirilmesine dayanmaktadır (21). DM kronik ve progresif seyirli bir hastalık olup, tedavisi ömür boyu sürdüğü için tanıdan emin olmak gerekmektedir. Herhangi bir enfeksiyon, miyokard infarktüsü, travma ve stres gibi akut gelişen durumlarda ortaya çıkan ağır hiperglisemi, DM tanısı için yeterli kabul edilmez. Bu sebeple, akut geçici durum düzeldikten sonra doğrulayıcı testler yapılarak kesin tanıya gidilmelidir. Ayrıca tesadüfen hiperglisemi saptanan asemptomatik bir kişide de diyabet tanısı kan glukoz düzeyinin birkaç gün ara ile bakıldığında her seferinde normal sınırların üzerinde bulunmasına dayandırılmalıdır. Tanısal kriterler şunlardır:

1. Diyabet semptomları (poliüri, polidipsi, noktüri, polifaji, iştahsızlık, açıklanamayan kilo kaybı, halsizlik, çabuk yorulma, ağız kuruluğu, tekrarlayan inatçı mantar enfeksiyonları gibi) varlığında rastgele plazma glukozunun 200 mg/dl ve üstünde olması
2. Açlık plazma glukozunun en az 8 saatlik gece açlığını takiben 126 mg/dl ve üzerinde olması
3. Standart 75 gram glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testi sonrası 2. saat değerinin 200 mg/dl ve üzerinde olması

Bu üç kriter diyabet uzmanlarından oluşan uluslararası komitenin daha önceki tanı kriterlerini yeniden gözden geçirip düzenleyerek oluşturdukları son önerilerdir. Yukarıdaki üç kriterden biriyle tanı konabilir, ancak daha sonraki bir gün yine bu üç kriterden biriyle doğrulanmalıdır. Bozulmuş glukoz toleransı (IGT) ise 2. saat glukozunun 140 mg/dl ile 200 mg/dl arasında olmasıdır. Yeni bir tanımlama olarak bozulmuş glukoz toleransına, bozulmuş açlık glukozu eklenmiştir. Bozulmuş açlık glukozu gece açlığını takiben plazma glukoz düzeyinin 100 mg/dl ile 126 mg/dl arasında olmasıdır. Her iki terim de normal glukoz değerleri ile diyabet arasındaki bir evreyi tanımlar (22).

Diabetes Mellitus sınıflamasına ait ilk konsensus kararı 1979 yılında Ulusal Diyabet Çalışma Grubu (NDDG) tarafından yayınlanmış ve 1980'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından modifiye edilmiştir. Önceleri sadece insülin bağımlı (IDDM) ve insüline bağımlı olmayan (NIDDM) diabetes mellitus olarak iki başlıktan oluşan ve sonraları genişlendirilen bu sınıflama, hastalığı hem patogenezine, hem de tedavi ihtiyacına göre kategorize etmektedir. IDDM tanımı genellikle adolesan çağda görülen formu olan Tip 1 diyabeti, NIDDM ise sıklıkla erişkinlerde saptanan Tip 2 diyabeti temsil etmektedir. Ancak Tip 2 diyabetli hastaların bir çoğunun zaman içinde insüline ihtiyaç göstermesi, tedaviye göre sınıflandırma yapılmasının kavram karmaşasına neden olduğunu ortaya koymuştur. Öte yandan, bu sınıflandırmanın bir diğer eksiği, nadir görülen bazı diyabet tiplerini kapsamamasıdır. Bu nedenlerle, diyabetolojinin gelişmesi ve patogeneze ait bilgilerin de artması ile, 1997'de Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA) tarafından halen güncel olan diyabet sınıflandırması yapılmıştır. Buna göre diyabetin güncel sınıflaması tablo1'de özetlenmiştir (23).

2.1.3. Epidemiyoloji

Dünya genelinde insanların yaşam sürelerinin giderek uzaması, fiziksel aktivitenin azalması ve obezitenin artması, diabetes mellitus insidans ve prevalansında bir patlamaya neden olmuştur (24). Dünya sağlık örgütü, diyabetin prevalansının gelecek 22 yıl içinde tüm dünyada iki katına çıkacağını düşünmektedir. 2025 yılında diyabet prevalansının erişkin

populasyonda %5.4 olacağı ve bu olguların %75'inin gelişmekte olan ülkelerde bulunacağı tahmin edilmektedir (25,26).

Tablo 1. Diyabetin Güncel Sınıflaması

1. Tip 1 diyabet

A.Otoimmün

B.İdiyopatik

2. Tip 2 diyabet

3. Diğer spesifik diyabet tipleri

A.Beta hücre fonksiyonlarına ilişkin genetik defektler

B.İnsülin etkisine ilişkin genetik defektler

C.Ekzokrin pankreas hastalıkları

D.Endokrinopatiler

E.İlaç ve kimyasal ajanlara bağlı diyabet

F.İmmün kaynaklı nadir diyabet formları

G.Diğer genetik sendromlar

4. Gestasyonel diyabet

Diyabet prevalansı ülkeler arasında ve farklı etnik gruplarda belirgin düzeyde değişiklik göstermektedir. Papua Yeni Gine'deki kabilelerde, Eskimolar arasında veya Çin'de %1 olan prevalans, Avustralya yerlilerinde, Mikronezya'daki Naurulularda veya Arizona'daki Pima Kızılderililerinde %20-45'e kadar çıkabilmektedir. Prevalansdaki bu farklılık uluslar arasında daha belirginleşmektedir. Örneğin Beyaz ırka göre Amerika Birleşik Devletleri'nde Afrika kökenli Amerikalılar arasında iki kat, Meksika kökenli Amerikalılar arasında iki buçuk kat ve yerli Amerikalılar arasında 5 kat daha fazla diyabet görülmektedir. Farklı toplumlarda görülen diyabet prevalansındaki bu çeşitlilik büyük olasılıkla genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır (27, 28).

Ülkemizde 1997-1998 yıllarında 270 köy ve 270 mahalle merkezinde gerçekleştirilen ve random olarak seçilmiş 20 yaş üstü 24788 kişiyi kapsayan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP)'nin sonuçlarına göre tip 2 diyabet prevalansı %7.2, IGT prevalansı ise %6.7 bulunmuştur (29). Bu oranlara dayanarak Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2007 yılı

nüfus rakamlarına göre ülkemizde 2.85 milyonun üzerinde tip 2 diyabetli ve 2.6 milyon civarında IGT'linin yaşadığı sanılmaktadır. Çalışma, ülkemizde yaşayan diyabetlilerin %32'sinin hastalığının farkında olmadıklarını ortaya koymuştur. Yine bu çalışmada diyabetin kadınlarda ve kentsel bölgelerde yaşayanlarda daha sık olduğu görülmüştür. Ayrıca diyabet riskinin yaşlanma, obezite, hipertansiyon, ailede diyabet, eğitimsizlik, gelir düzeyi ve alışkanlıklar ile ilişkili olduğu saptanmıştır. TURDEP sonuçları, yakın zamanda yapılmış küçük çaptaki çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olarak ülkemizde diyabet prevalansının artmakta olduğunu kanıtlamıştır (29, 30).

Etnik farklılıklar dışında diyabet için risk altında olan popülasyonlardan biri de yaşlılardır. Ulusal Sağlık ve Beslenme İncelemesi Anketi III (NHANES=National Health and Nutrition Examination Survey) dataları diyabet prevalansının 20-39 yaşları arasındaki erkeklerde %1.6 iken 75 yaş üstü erkeklerde %21.1 olduğunu göstermektedir. Bu da gelecek yıllarda diyabet prevalansında öngörülen artışın en az yarısından yaşlanan dünya popülasyonunun sorumlu olacağına işaret etmektedir (31, 32). Yine NHANES III kohort çalışmasında tip 2 diyabetli hastaların % 67'si fazla kilolu, yaklaşık yarısı obez bulunmuştur (33). Fiziksel aktivitenin azalması ve sedanter yaşayan nüfusun artmasına paralel olarak diyabet daha büyük bir risk olarak karşımıza çıkmaktadır. NHANES verileri orta düzeyde fiziksel aktivitenin diyabet gelişme riskini azalttığını göstermiştir (34). Glisemik yükü fazla olan, yağdan zengin ve liflerden fakir yiyeceklerden oluşan diyet de diyabet gelişimi ile ilişkilidir. PHS (Physicians Health Study) çalışmasında incelenen 42.504 kişiyle yapılan bir analizde yağ oranı fazla olan bir diyetin diyabet gelişimi için rölatif riskinin 1.59 olduğu gösterilmiştir. Buna benzer şekilde NHS çalışmasında diyetinde tahıl kökenli liflerin fazla, doymuş yağların ise az tüketilmesinin tip 2 diyabet riskini %33-50 azalttığı gösterilmiştir (35).

2.1.4. Patogenez

Tip 2 diyabette üç önemli patofizyolojik anormallik mevcuttur: Bozulmuş insülin salınımı, periferik insülin direnci ve karaciğerde glukozun aşırı üretimi. Tip 2 diyabet hastalarında özellikle santral ve visseral obezite çok sıktır. Leptin, TNF-alfa, serbest yağ

asitleri, Resistin ve Adiponektin gibi yağ dokusu hücrelerinden salgılanan biyolojik ürünler insülin sekresyonunun etkisini ve vücut ağırlığını modüle edip insülin rezistansına katkıda bulunabilirler. Hastalığın erken dönemlerinde insülin direncine rağmen glukoz toleransı normaldir, çünkü beta hücreleri insülin üretimini arttırarak bu durumu kompanse eder. İnsülin rezistansı ve kompanse edilebilir hiperinsülinemi ilerledikçe, bazı kişilerde pankreas beta hücreleri bu hiperinsülinemik durumu sürdürmez hale gelir. Tokluk plazma glukozunun yükselmesi ile karakterize bozulmuş glukoz toleransı bu sırada gelişir. İnsülin sekresyonunun daha da azalması ve karaciğer glukoz üretiminin artması aşikar diyabete neden olur (36-38).

Tip 2 diyabetli hastalarda genetik hassasiyet ve obezite nedeniyle perifer dokularda özellikle karaciğer ve kas dokusunda gelişen insülin direnci hastalığın karakteristiğidir. İnsülin direnci insülin duyarlı dokularda glukoz kullanımını azaltırken karaciğer dokusunda glukoz üretimini arttırır. Artmış karaciğer glukoz üretimi temel olarak açlık kan şekeri düzeyini yükseltirken perifer dokularda azalmış glukoz kullanımı postprandiyal kan şekerinin yükselmesine neden olur. İnsüline bağımlı olmayan dokulardaki glukoz metabolizmasında herhangi bir değişiklik olmaz. İnsülin direncinin moleküler mekanizmaları henüz tam açıklığa kavuşmuş değildir. Kas dokularında insülin reseptör düzeyleri ve tirozin kinaz aktivitesi azalmıştır ama bunun hiperglisemiye sekonder olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla postreseptör defektlerin insülin direncinde ana rol oynadıklarına inanılmaktadır (39).

Tip 2 diyabetli hastalarda insülin direncinden dolayı normoglisemiyi sağlamak için başlangıçta insülin sekresyonu artar. İnsülin sekresyon defekti başlangıçta çok hafiftir ancak ilerleyen dönemlerde sekresyon defekti artar ve yetersiz insülin salınmasıyla sonuçlanır. Tip 2 diyabetli hastalardaki insülin sekresyonundaki bu azalmanın nedeni henüz bilinmemektedir. (40). Beta hücrelerinden insülinle beraber salınan amilinin uzun süreli diyabetik hastalarda beta hücrelerinde amiloid depoziti oluşturduğu bilinmektedir. Bunun dışında diyabetin neden olduğu metabolik bozukluklar (glukoz toksisitesi ve lipotoksosite) da beta hücre fonksiyonlarını olumsuz etkilemektedir (41).

Tip 2 diyabetin gelişmesinde güçlü bir genetik etki bulunduğunu şu gözlemler göstermektedir: Aynı çevrede yaşayan etnik gruplar arasında tip 2 diyabetin prevalansında oldukça anlamlı farklılıklar göze çarpmaktadır. Tip 2 diyabet Afrikalı Amerikalılarda, amerikan yerlilerinde, hispanik Amerikalılarda, beyaz ırka göre daha sık görülmektedir (42). Tip 2 diyabetli hastaların %39'unun ebeveynlerinden birinde diyabet vardır (43). Monozigotik ikizlerin birinde diyabet varsa, diğerinde diyabet gelişme %60-90'dır. Tip 2 diyabetli

hastanın, birinci derece akrabasında hastalığın gelişme riski 5 ile 10 kez artmıştır. Hastalıktan sorumlu genleri saptamaya yönelik çalışmalar, glukoz ve insülin sisteminin çeşitli basamaklarında saptanmış bir çok mutasyon tespit etmiş olmasına rağmen bunların hiç biri bütün diyabetlilerde sabit olarak bulunmamaktadır ve tip 2 diyabet için karakteristik değildir. Sadece tip 2 diyabetin bir varyantı olan maturity onset diabetes of the young (gençlerin maturite ile başlayan diyabet) (MODY)'nin otozomal dominant geçiş gösteren bir genetik durum olduğu ispatlanmıştır (44).

2.2. Tip 2 Diyabet ve Kronik Komplikasyonları

Kronik komplikasyonlar tip 2 diyabetin morbidite ve mortalitesinden esas sorumlu olan, birçok organı tutabilen, hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen ve erken ölüme sonuçlanabilen önemli sorunlardır. Tip 2 diyabetle ilişkili kronik komplikasyonlar tablo 2'de sınıflandırılmıştır (45). Biz burada daha çok diyabetik nefropati üzerinde duracağız.

Tablo 2. Tip 2 diyabetle ilişkili kronik komplikasyonlar

<u>Vasküler Komplikasyonlar</u>
Makrovasküler Komplikasyonlar
• Hızlanmış koroner ateroskleroz
• Hızlanmış serebral ateroskleroz
• Hızlanmış periferik vasküler hastalık
Mikrovasküler Komplikasyonlar
• Retinopati
• Nefropati
• Nöropati Sendromları
-Sensörimotor nöropati
-Otonom nöropati
<u>Mixt Vasküler ve Nöropatik Hastalıklar</u>
• Ayak ve bacak ülserleri

2.3. Diyabetik Nefropati

2.3.1. Tanım ve Epidemiyoloji

İlk defa 1936'da Kimmelsteil ve Wilson tarafından tanımlanan diyabetik nefropati (DN), diyabetin en önemli ve yaşam kalitesini bozan komplikasyonlarından birisidir (46,47). DM'un kronik komplikasyonlarının kontrol altına alınmasında önemli gelişmeler kaydedilmiş olmasına rağmen vasküler komplikasyonlar, en önemli morbidite nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Daha iyi glisemik kontrol ve hipertansiyonun daha aktif ve agresif tedavisi nedeniyle gelişmiş ülkelerde, tip 1 diyabete bağlı böbrek yetmezliği insidansının azalmakta olduğunu gösteren çalışmalar vardır (48). Buna karşın çoğu ülkede son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) yol açan en önemli neden DN'dir ve diyabetliler diyaliz uygulanan hastaların büyük bir bölümünü oluşturmaktadır (49,50). Bunun yanında diyabet insidansı dünyada hızla artmakta ve bu durum en çarpıcı biçimde gelişmekte olan ülkelerde tip 2 diyabette gözlenmektedir. DN'li hastaların %50-60'ını tip 2 DM'liler oluşturmaktadır. DN'nin kümülatif insidansı hem tip 1 hem de tip 2 diyabette birbirine benzemektedir. Tip 1 diyabetik hastaların yaklaşık olarak %30-40'ında tanıdan ortalama 20 yıl sonra nefropati ortaya çıkmakta ve bu hastaların çoğunluğunda klinik nefropati geliştikten sonraki 10 yıl içerisinde böbrek yetmezliği ile sonlanmaktadır (51). Toplum çalışmaları, tip 2 diyabetli hastalarda nefropati prevalansının tanı sırasında %5-10, diyabet yaşı 20 olduğunda ise %25-60 olduğunu göstermektedir (51-53).

2.3.2. Risk Faktörleri

En önemlisi hastalığın süresi olmak üzere DN'nin gelişiminde birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Bu risk faktörleri Tablo 3'te gösterilmektedir (54).

Tablo 3. Diyabetik nefropati için risk faktörleri

-
- Albuminüri
 - Genetik elverişlilik
 - Etnik köken
 - ACE geni
 - Aile öyküsü
 - Kan basıncı kontrolü
 - Tanı yaşı ve diyabet süresi
 - Glisemik kontrol
 - Dislipidemi
 - Sigara
 - Diyetteki protein miktarı
-

Hipergliseminin DN'nin gelişmesinde anahtar rolü oynadığı, Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) çalışmasında kanıtlanmıştır (55). Gerek tip 1 gerekse tip 2 DN'nin bazı ailelerde daha çok görülmesi, genetik faktörlerin de belirli roller oynadığını düşündürmektedir (56,57). Tip 1 ve tip 2 diyabetiklerin diyabeti bulunmayan birinci derece yakınlarında kardiyovasküler olaylara toplumun geneline oranla daha sık rastlanmaktadır (58,59). SDBY gelişme riski etnik kökene göre de değişmektedir. Bir çalışmada primer nedeni diyabet olan SDBY hastaları arasında Afrika kökenli yerli Amerikalılar açısından belirgin bir risk artışı dikkati çekmektedir. Yerli Amerikalı popülasyonunda SDBY insidansı 600 olgu/milyon iken, beyaz popülasyonda 100 olgu/milyon olarak bulunmuştur (54,60). Bir başka çalışmada anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) geni intron 16'daki polimorfizm ile nefropati gelişme riski arasında ilişki bulunmuştur. Bu gendeki delesyon varyantları açısından homozigot olanlarda nefropatinin daha hızlı seyrettiği öne sürülmektedir (48,61).

Sigaranın nefropatinin başlaması ve ilerlemesi üzerinde temel bir etkiye sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Böbrek yetmezliği olan ve sigara içen diyabetiklerdeki filtrasyon kaybı sigara içmeyen diyabetiklerdekini iki katı olarak hesaplanmıştır (62). Nefropati başladıktan sonra tablonun ilerlemesine yol açan en önemli risk faktörü ise hipertansiyondur. Normal bireylerde glomerül mikrodolaşımı sistemik kan basıncındaki değişikliklere karşı glomerül öncesi yüksek direnç tarafından korunur. Diyabetik nefropatili

hastalarda ise afferent arteriyollerde vazodilatasyon nedeni ile aort basıncının önemli bir bölümü glomerül yatağına aktarılır. Böylece glomerül kapiller basıncı normal kan basıncı değerlerinde bile yükselir ve bu artış sistemik hipertansiyon varlığında daha da belirgin hale gelir (63).

2.3.3. Patofizyoloji

Hipergliseminin DN patogenezindeki rolü tablo 4'te gösterilmektedir. Diyabetin erken dönemlerinde morfolojik değişiklikler meydana gelmeden önce böbrek plazma akımında artış, intraglomerüller hidrostatik basınç artışı ve glomerüller basınç hızında artış şeklinde değişiklikler oluşur. Bu değişiklikler glukoz artışının stimüle ettiği bir dizi metabolik, hormonal ve yerel humoral faktörlerin etkileşimi ile birlikte birçok faktöre bağlı olarak meydana gelmektedir (48,64).

Tablo 4. Diyabetik nefropati patogenezinde hiperglisemi ile ilgili mekanizmalar

-
- Proteinlerin nonenzimatik glikozilasyonundaki artış (AGE birikimi)
 - Anormal polyol metabolizması (Aldoz redüktaz aktivasyonu)
 - PKC aktivitesinde artış
 - Glukotoksisite
 - Glukoza bağlı GF-gen ekspresyonu
 - Na reabsorpsiyonunda artış
 - Ekstrasellüler matriks değişikliği
 - Hücre yenilenme ve proliferasyon hızında değişiklik
 - Hücre membranı anyon yükünde azalma
 - Anormal lipid metabolizması
 - Anormal katyon transportu
-

Mezengial matrikste ve glomerül bazal membranda sülfürlenmiş proteoglikanların ve anyonik bölgelerin kaybının bu bölgelerde kondroitin sülfat ve dermatan sülfat gibi

proteoglikanların daha fazla birikmesine yol açtığı gösterilmiştir (65). Bu durum renal elektriksel yük selektivitesinin azalmasına ve bazal membran kalınlaşmasına yol açmaktadır. Glukoz alımının insülden bağımsız olduğu dokularda, fazla olan glukoz sıklıkla polyol yoluyla metabolize edilir ve bu reaksiyon aldoz redüktaz enzimi tarafından katalize edilir (66). Polyol yolunun mikrovasküler komplikasyonların gelişiminde de önemli rolü olduğu ve aldoz redüktaz enzimi inhibitörleri ile önlenebildiği birçok deneysel diyabet modelinde gösterilmiştir (67).

İnsanda polyol yolunun hiperfiltrasyon üzerine etkisi gösterilirken, proteinüri üzerindeki etkisi gösterilememiştir (68). Diaçil gliserolün (DAG) glukozdan yeniden sentezlenmesi ve bu olaya sekonder gelişen proteinkinaz-C (PKC) aktivasyonunun diyabetik komplikasyonların gelişiminde kilit rol oynayabileceği gösterilmiştir (69). PKC aktivasyonu ile fosfolipaz A2 aktivite artışı ve bununla birlikte araşidonik asit, vazodilatör prostaglandinler ve vazokonstriktör tromboksan A2 salınımı artmaktadır. Bu değişiklikler; hem hiperfiltrasyon hem de kan basıncı değişikliklerine renal cevabı değiştirmektedir (48,65,69). Son çalışmalarda erken dönem glomerülopati oluşumunda çeşitli büyüme faktörlerinin önemli rolü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu faktörler vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor beta (TGF- β), growth hormon (GH), insulin like growth factor (IGF-1) ve connective tissue growth factor (CTGF)'dür (70). VEGF retinopatide olduğu gibi nefropati patogenezinde önemli rol oynayan bir büyüme faktörüdür. VEGF yapımını glukoz, hipoksi, anjiyotensin II (AT II), PKC ve AGE artırmaktadır (71). TGF-beta tip 1 kollajen, tip 4 kollajen, fibronektin ve laminini de içeren ekstrasellüler matriks moleküllerinin çoğunun yapımını uyarmaktadır. Bu yolla glomerülde yer alan bir glikoprotein olan fibronektin içeriğinin arttığı da gösterilmiştir (72). Glukoz düzeylerindeki yükseklik glomerüler bazal membranı nonenzimatik olarak glikozillemektedir. Glikozilasyonu izleyen dönemde advanced glycation endproducts (AGE) oluşur. Son yıllarda bu ürünlerin elimine edilmesinde ve doku hasarı oluşturmasında AGE reseptörlerindeki (RAGE) azalmasının önemli rolü olduğu gösterilmiştir (73). Bu durumun daha yüksek derecede kollajen çapraz bağlanmasını içeren yapısal değişimlere yol açarak bazal membran kalınlaşmasından ve permeabilite artışından sorumlu olduğu öne sürülmüştür. Matriks proteoglikanlarının glikozilasyonu negatif yüklerini azaltır ve bu nedenle plazmadan negatif yüklü protein sızıntısını artırır. Glukozun metabolizması esnasında dokularda oksidatif potansiyel oluşumu söz konusudur (74).

2.3.4. Morfolojik Değişiklikler

Morfolojik değişiklikler DN'de tüm renal kompartmanları etkileyerek ortaya çıkabilmektedir. Bu değişikliklerin bir kısmı diyabet için spesifik olmasına karşın bir kısmı da nonspesifiktir (Tablo 5) (48,75).

Tablo 5. Diyabetik nefropatide görülebilen morfolojik değişiklikler

-
- Glomerüller lezyonlar
 - Kapiller bazal membran kalınlaşmaları
 - Diffüz glomerüloskleroz
 - Nodüler glomerüloskleroz
 - Renal vasküler lezyonlar
 - Renal ateroskleroz ve arteriyoskleroz
 - Pyelonefrit
 - Akut ve kronik piyelonefrit
 - Nekrotizan papillit
-

Glomerüler lezyonlardan en önemlileri kapiller bazal membran kalınlaşmaları, diffüz glomerüloskleroz ve nodüler glomerülosklerozdur (Kimmelstiel-Wilson lezyonu). Glomerüler kapiller bazal membran kalınlaşmaları, tüm damar boyunca görülür ve diyabetin başlamasından sonra birkaç yıl içinde de elektron mikroskopik incelemede gözlenebilir. Bazen renal fonksiyonlarda herhangi değişim olmadan da izlenebilir. Diffüz glomerüloskleroz, mezangial hücre proliferasyonu ve beraberinde mezangial matrikste diffüz artış olarak tanımlanabilir ve her zaman membran kalınlaşması ile ilişkilidir. Nodüler glomerüloskleroz veya Kimmelstiel-Wilson lezyonu, lobülün mezangial merkezinde tabakalanmış matriksin top şeklindeki birikimleri ile karakterize bir glomerül lezyonudur. Glomerülün periferinde gelişmeye eğilimi olan nodüller, mezangiumdan kaynaklandıkları için glomerüler kapiller kıvrımlarını daha da perifere iterler. Tubuller, glomerülün efferent arteriyolları ile beslendiklerinden ileri glomerülosklerozda tubullerde iskemi ve interstisyel fibrozis görülür (75).

Diyabetiklerdeki sistemik damar lezyonlarının önemli bölümünü renal ateroskleroz ve arteriyoskleroz oluşturmaktadır. Bu hiyalen arteriyoskleroz sadece afferent arteriyolleri değil, aynı zamanda efferent arteriyolleri de etkiler ki efferent arteriyoskleroz diyabetli olmayan kişilerde nadiren gözlenen bir lezyondur (48,65,75).

Piyelonefritin hem akut hemde kronik tipi diyabetiklerde normal popülasyona göre daha sık olarak ortaya çıkar. Özellikle akut piyelonefritin özel ve şiddetli bir tipi olan nekrotizan papillit diyabetiklerde normal popülasyona göre çok daha sık olarak görülmektedir. Bunun nedeni mikroanjyopatiden kaynaklanan iskemi ve bakteriyel enfeksiyona olan eğilimdir (75).

2.3.5. Klinik seyri ve Evreleri

Diyabetik nefropati fizyopatolojik olarak 5 evre ile seyreder:

1. Glomerüler hiperfiltrasyon
2. Normoalbuminüri
3. Yerleşmekte olan albuminüri
4. Açık nefropati
5. Son dönem böbrek yetersizliği

Glomerüler Hiperfiltrasyon: Erken görülen işlevsel değişikliklerden biridir. Hiperfiltrasyon ve böbrek boyutlarında büyüme hem hiperfiltrasyon hem de metabolik bozukluğun ağırlığı ile ilişkilidir. Hastalarda ağır asidoz ve dehidratasyon durumlarında glomerüler filtrasyon hızı (GFR) düşmektedir. Tanı konulduğu zaman GFR > 150 ml/dk ise nefropati riski yüksektir.

Normoalbuminürik evre: Bu evrede, hasta diyabet süresi ve metabolik kontrolü ne olursa olsun normoalbuminüriktir. Bazı diyabetiklerde kötü metabolik kontrole karşın böbrek yetersizliğinden korunma genetik faktörlerle ilgili olmalıdır.

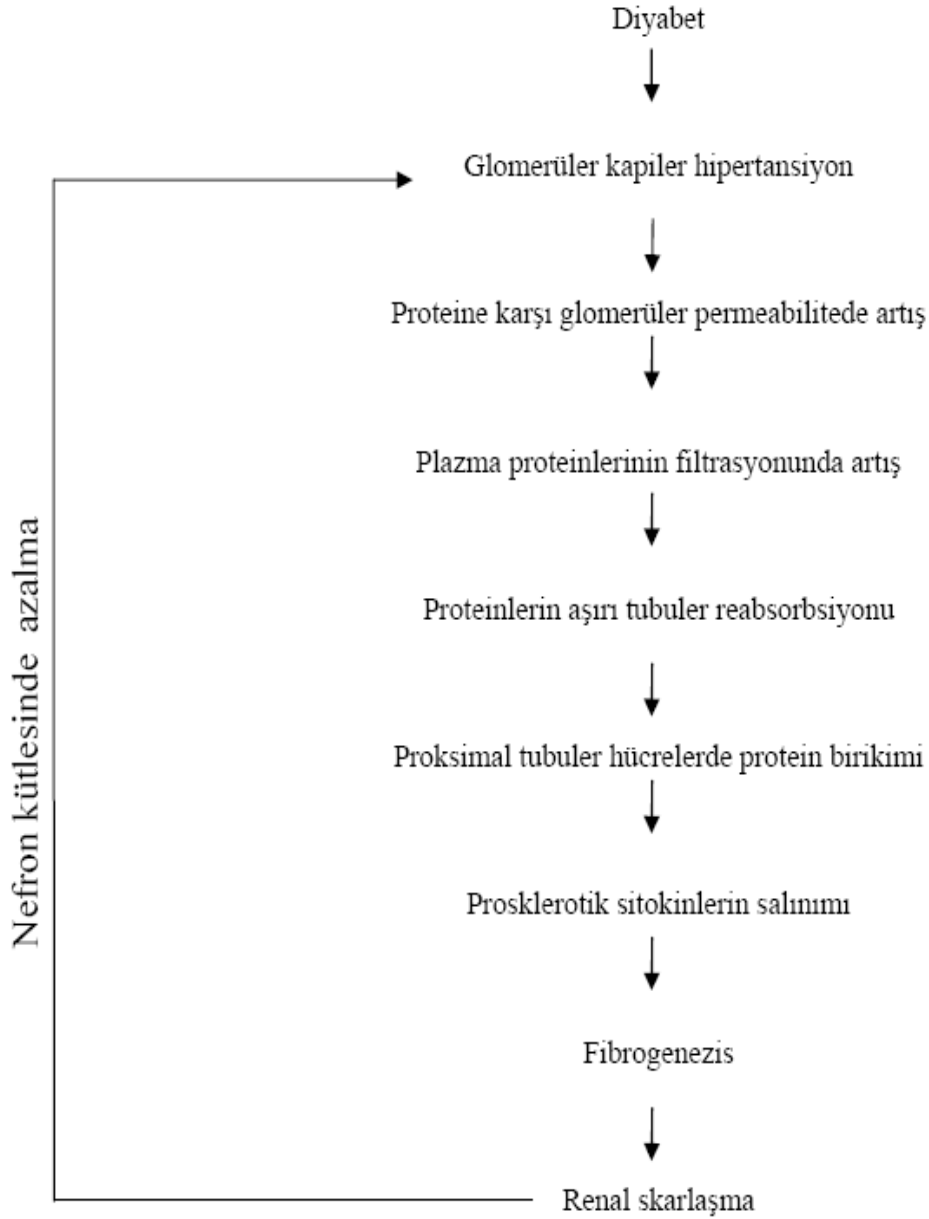
Yerleşmekte olan Diyabetik nefropati evresi: Glomerüler filtrasyon hızı normal veya yüksek olabilir. 20-70 µg/dk mikroalbuminürililerde GFR daha yüksektir. Albuminüri artıp nefropati ilerledikçe GFR azalmaktadır. Bu yüzden mikroalbuminüri nefropatinin ilerlemesini anlamak için önemli bir göstergedir.

Aşık proteinürü evresi: Bu evrede proteinürü >300 mg/gün'dür. Bu düzey eser proteinürü olarak belirtilir. 500 mg/gün'den fazla olmaya başlayınca makroalbuminürü veya proteinürü denir. Proteinürü döneminde GFR ve kreatinin normal bulunabileceğinden hipertansiyon, retinopati gibi diğer anjiyopatik komplikasyonlar da birlikte değerlendirilmelidir. Tip 2 diyabeti olan proteinürüli hastaların prognozu kötüdür, bu durum sadece böbrek hastalığına ve son dönem böbrek yetersizliğine bağlı değil ayrıca kardiyovasküler mortalitedeki artışa da bağlıdır (76). Diyabetik nefropatide, diğer progresif glomerülopatilerde olduğu gibi proteinürü renal fonksiyondaki azalmanın güçlü ve bağımsız bir göstergesidir. Aşırı protein tubulointerstisyel hasarı artırır ve hastalığın progresyonuna neden olur. Özellikle proteinin tubullerden aşırı reabsorpsiyonu ve tubuler epitel hücrelerde birikimi, vazoaaktif ve inflamatuvar sitokinlerin endotelin-1, osteopontin, monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) gibi salınmasına neden olur. Bu faktörler proinflamatuvar ve fibrotik sitokinlerin aşırı ekspresyonuna, mononükleer hücrelerin infiltrasyonuna, tubulointerstisyumun hasarına ve renal skarlaşma ile yetersizliğe neden olurlar. Renal hemodiyamik değişikliklere neden olan bu kaskad hem primer olarak hem de nefron kaybına sekonder olarak proteinürünün artmasına neden olur. Bu durum da interstisyel skarlaşmayı artırır ve daha fazla nefron kaybına neden olur (Şekil 1)(77).

Son dönem böbrek yetmezliği evresi: Üremi ile seyredir. Bu dönemde tedavi diyaliz ve transplantasyondur (76).

DN'nin en erken belirtisi > 30 mg/gün veya 20 µg/dk albuminürünün olmasıdır (Tablo 6). Tip 1 diyabetik hastaların %80'inden fazlasında sürekli mikroalbuminürü yılda %10-20 artarak 10-15 yıllık bir süreçte aşık nefropati şeklinde ilerleme gösterir (76,78,79). Nefropatinin bu şekilde ilerlemesi hem hipertansiyon gelişimini hızlandırır hem de GFR giderek azalmaya başlar. Aşık nefropatili olan Tip 1 diyabetiklerin %50'sinde 10 yıl içinde, %75'den fazlasında ise 20 yıl içinde son dönem böbrek yetersizliği gelişir. Mikroalbuminürüsü olan Tip 2 diyabetiklerde klinik olarak %20-40 oranında aşık nefropatiye gidiş gözlenir. Ancak 20 yıllık süre içinde son dönem böbrek yetersizliği bunlardan %20'sinde gelişir.

Şekil 1. Proteinürinin İndüklediği Renal Hasarın Mekanizması



Mikroalbuminüri ölçüm tekniği olarak 3 yöntem kullanılır:

1. Günün herhangi bir zamanındaki spot idrarda albumin/kreatinin oranının değerlendirilmesi
2. Yirmidört saatlik idrar toplanması yoluyla kreatinin ile birlikte değerlendirilmesi
3. Belli bir zaman diliminde toplanan örnekte albuminürinin ölçülmesi (3-4 saatlik)

Tablo 6. Albuminüri derecelerine göre sınıflandırma

	24 saatlik örnek	Kısa süreli örnek	Spot örnek
Normal	< 30 mg	< 20 µg/dk	< 30 µg/mg kreatinin
Mikroalbuminüri	30-300 mg	20-200 µg/dk	30-300 µg/mg kreatinin
Klinik albuminüri	> 300 mg	> 200 µg/dk	> 300 µg/mg kreatinin

Mikroalbuminüri, ileri böbrek hastalığı riski oluşturmasının yanında, kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin de önemli bir işaretçisidir. Mikroalbuminüri ile ilişkili kardiyovasküler mortalite oranı 2.4 bulunmuştur (80). Tip 2 diyabette mikroalbuminüri aslında son dönem böbrek yetersizliğinden daha çok kardiyovasküler ölümlerin bir habercisidir (81).

2.3.6. Tedavi ve Koruma

Diyabetik nefropatiye yönelik tedavi yaklaşımları üç başlık altında toplanabilir:

1. Diyabetik nefropati riski taşıyan normoalbuminürik hastaların tedavisi primer önleme,
2. Mikroalbuminürik hastanın tedavisi sekonder önleme ve makroalbuminüri ve
3. Aşık nefropatili hastanın tedavisi olan tersiyer önleme şeklinde tanımlanabilir.

Primer Önleme: İyi glisemik kontrol tip 1 ve tip 2 diyabetik hastalarda mikroalbuminüri gelişme riskini azaltmaktadır. Yoğun glisemik kontrol ile mikroalbuminüri gelişiminde elde edilen gerileme tip 1 diyabetlilerde yapılan DCCT çalışmasında %25 iken, tip 2 diyabetlilerde yapılan UKPDS çalışmasında ise %34 olmuştur (82,83). Bunun yanında konvansiyonel ve intensif glisemik kontrolün nefropatinin progresyonu üzerine etkilerini karşılaştıran yedi randomize çalışmayı içeren bir meta analizde, yoğun tedavi yaklaşımının nefropati riskini belirgin olarak azalttığı gösterilmiştir. Bu tedavi biçimiyle elde edilen

faýdanın yalnızca, nefropati ile sınırlı kalmayarak tüm komplikasyonlara bağlı ölümlerde belirgin azalma sağladığı gösterilmiştir (84,85).

Hem sistolik hem de diyastolik hipertansiyon nefropati progresyonunu artırır. UKPDS'de yapılan 6 yıllık izlem sonrasında sıkı kan basıncı kontrolünün mikroalbüminüri riskini %29, makroalbüminüri riskini ise %39 oranında azalttığı gösterilmiştir (82,83). Buna benzer şekilde çoğu çalışmada da bu bulgular elde edilmiştir (86). Sıkı kan basıncı kontrolünün primer önlemede etkin olduğunun gösterilmesi WHO ve Uluslararası Hipertansiyon Cemiyetinin (JNC) hedef kan basıncının 130/80 mm/Hg'dan az olması gerektiği şeklinde önerilerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Daha sonra yapılan JNC-VII toplantısında ise 125/75 mmHg'dan da düşük seviyelerin hedeflenmesi gerektiği öne sürülmüştür (87). Bu hedefe yönelik yapılan çalışmalar tedavide ACE inhibitörü ajanların öncelikli tedavi yaklaşımı olması gerektiğini göstermektedir (82,83,88). İlk önceleri ACE inhibitörlerinin renal koruyucu ve antiproteinürik etkilerinin yalnızca hemodinamik mekanizmayla sağlandığı, yani bu ilaçların efferent arteriyolleri genişleterek glomerül kapiller basıncım azaltması sayesinde elde edildiği düşünölmekteydi. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar ACE inhibitörlerinin hemodinamik etkilerinden bağımsız olarak glomerül boyutlarını ve glomerül geçirgenliğini etkileyerek poliyonik heparan sülfatı artırıp glomerül membranının negatif elektrik yükünü yükselterek glomerül fonksiyonunu etkilediğini göstermiştir. Bu bulgular normotansif normoalbüminürik hastalarda da ACE inhibitörlerinin kullanımının önerilmesine yol açmıştır. Son yıllarda ACE inhibitörü ajanlar ile anjiyotensin 1 reseptör blokörü ajanların tedavide birlikte kullanımına yönelik ilgi giderek artmaktadır. Elde edilecek sinerjist anjiyotensin 2 blokajı ile nefroproteksiyonun daha da güçlendirilmesi hedeflenmektedir (89-91).

Sekonder Önleme: Bu korumada temel hedeflerimiz glisemik kontrol, kan basıncı kontrolü, albümin atılım miktarı ve serum kolesterol düzeyleridir. Tip 1 diyabetik hastalarda ACE inhibitörlerinin kullanımı ile kan basıncı kontrolü yanında diyabetik nefropatinin ilerlemesinin durdurulabildiği gösterilmiştir (92). ACE inhibitörleri anjiyotensin seviyesini düşürerek glomerüler filtrasyonda ve glomerüler kapiller basıncında azalmaya yol açarlar. Aynı zamanda anjiyotensin II'nin glomerüler büyümeyi uyarıcı edici etkisini de bloke ederler. Mikroalbüminüri saptanan tip 2 diyabetik hastaların optimal tedavisi de sadece nefropati progresyonu açısından değil, aynı zamanda kardiyovasküler mortalite açısından da büyük önem taşımaktadır (93). Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial (IDNT) ve RENAAL

çalışmaları anjiyotensin reseptör blokeri ajanların da hem nefropatinin progresyonunu azalttıklarını, hem de kardiyovasküler mortalite hızlarını azaltabileceklerini ortaya koymuşlardır (94,95). Kan basıncında yeterli kontrolün sağlanamadığı durumlarda hastalarda non-dihidropiridin kalsiyum kanal blokerlerinin kullanılması önerilmektedir. Bu ajanların da proteinüriyi azaltarak nefropati ilerlemesini önleyebilecekleri öne sürülmektedir (96).

Proteini düşük bir diyet uygulamasının diyabetik nefropatinin erken döneminde hiperfiltrasyonu azaltabileceği ve aynı zamanda bireysel yanıtlar değişmekle birlikte GFR'deki düşmeyi geciktirebileceği bildirilmiştir. Ancak burada sağlanan yarar ile diyabetik kontrolü kötü ve böbrek fonksiyonları bozulmuş hastalardaki katabolik durumun ağırlaşma olasılığı yanında, diyabetik hastaların gereksinim duyduğu karbonhidratlar ve lipid alımına ilişkin diyetel kısıtlamalar da dikkate alınmalıdır. Genellikle önerilen günlük 0,8g/kg/gün protein alınmasıdır (62,73,86).

DN'si olan hastaların aterosklerotik komplikasyonlara eğilimli ve sıklıkla yüksek düzeyde aterojenik plazma lipid profiline sahip oldukları iyi bilinmektedir. Bu nedenle böbrek hastalığının ilerlemesine ilişkin öne sürülen etkiden bağımsız olarak, lipid düzeyleri izlenmeli ve hedef düzeylerde tutulmalıdır. Bu amaçla sıkı diyet uygulamaları dışında, statinlerin ve fibratların kullanılması önerilmektedir. Hipertansiyonu olmayan diyabetik hastalara simvastatin verilmesini takiben 1 yılsonunda albüminürinin %25 azaltıldığına gösterilmesi, nefropati tedavisinin her aşamasında bu ajanların kullanımının önerilmesine yol açmıştır (97).

Tersiyer Önleme: GFR hızındaki düşmenin önlenmesi bu aşamada temel hedefdir ve bu amaçla kan basıncı kontrolü, glisemik kontrol ve albüminürinin ilerlemesinin önlenmesi sağlanmalıdır. Kötü glisemik kontrol ile GFR hızının azalması ve yoğun tedavi ile bu durumun tersine çevrilebilmesi, nefropati geliştikten sonra glisemik kontrolün renal fonksiyonlar üzerine etkisinin olmadığı görüşünün tamamen terk edilmesine yol açmıştır. Klinik nefropatide hipertansiyon sık görülen bir durumdur. Birçok çalışmada erken ve hızlı bir şekilde antihipertansif tedavi uygulanmasının proteinüride azalma ile birlikte GFR düşme hızını yavaşlattığı görülmüştür. Bu amaçla ACE inhibitörleri, ARB, nondihidropiridin kalsiyum kanal blokerlerinin kombine kullanımı önerilmektedir. Sekonder önleme tedavisinde diyet önerileri açısından protein kısıtlı diyet verilirken, NO prekürsörü L-arjinin kısıtlamasının olmadığı bir listenin tersiyer önlemede de verilmesi önerilmektedir (98).

Son dönem böbrek yetmezliği tedavisi: Diyabetik nefropatinin yeterli tedavi edilmemesi durumunda GFR'de 7-14 ml/dk/yıl azalma beklenir. Sıkı glisemik kontrol ve ACE

inhibitörlerinin kullanımı bu azalmayı 3-5 ml/dk/yıl düzeylerine indirebilir. Üreminin başladığını belirten bulgular genellikle diyabetik bulgular ile örtüşerek tabloyu daha karmaşık hale getirebilir. Diyabetik otonom nöropati bulantı ve kusmaya yol açtığında üremik dönemi işaret edebilir. Üremi ve diyabete sekonder gelişen komplikasyonlar ayırt edilemezse, diyabetik hastalar sıklıkla daha erken dönemde diyalize alınırlar. Nondiyabetiklerin genellikle 10 ml/dk, diyabetik hastaların ise 15-20 ml/dk düzeylerinde diyalize alındığı bildirilmiştir (99). ABD'deki hastaların %70'i hemodiyalizi böbrek replasman tedavisi olarak seçmektedirler (100).

İleri derecede kalp hastalığı ve otonomik nöropati hemodiyalize toleransı azaltır ve diyaliz sırasında hipotansiyon gelişebilir, ilerlemiş damar hastalığı damar yolu ile diyalizi riskli hale getirebilir. Periton diyalizinin de kendine özgü riskleri vardır. Çıkış yeri enfeksiyonları ve peritonit, morbidite ve mortalite artışına yol açabilir. Fazla protein kayıpları malnütrisyon oluşturabilir. Görme bozuklukları SAPD uygulamasını zorlaştırabilir. Glukoz emilimi kan glukozunu yükseltebilir ve lipid profilini kötüleştirir. Sonuçta hiçbir tedavi biçimi sağ kalım için avantaj sağlayamayabilir. Seçim hastanın tercihlerine, hayat tarzına ve bireysel klinik durumuna göre yapılmalıdır (99,100).

Transplantasyonun renal replasman tedavisi olarak seçilmesi çoğu ülkede donör azlığı ve uygun donör bulma güçlüğü nedeniyle sorun olmaya devam etmektedir. ABD'de renal transplantasyon yapılan hastalar arasında diyabetik hastaların oranı %16'dır. Bu hastaların büyük bir kısmını da tip 1 diyabetik hastalar oluşturmaktadır. Böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda eş zamanlı uygulanan pankreas transplantasyonun, yaşam kalitesini artırıcı etkisi dışında, sekonder komplikasyon gelişim riskini de azalttığı gösterilmiştir (101).

2.4. Prolidaz

2.4.1. Tanım

Prolidaz bir çok memeli dokusunda ve mikroorganizmalarda dağılım gösteren, sitoplazmik, hidrolazlar sınıfına ait bir enzimdir. Hidrolazlar çeşitli bağların hidrolizini kataliz

ederler. Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyonundaki prolin veya hidroksiprolin içeren dipeptitlerin hidrolizini katalizler. Uluslararası sınıflandırmaya göre; EC 3.4.13.9 sınıfında yer alır. Yaklaşık 60 yıl önce bulunmasına rağmen önemi 25 yıl önce eksikliği çalışmaları yapıldığında anlaşılmıştır (102,103).

2.4.2. Prolidazın Yapısı

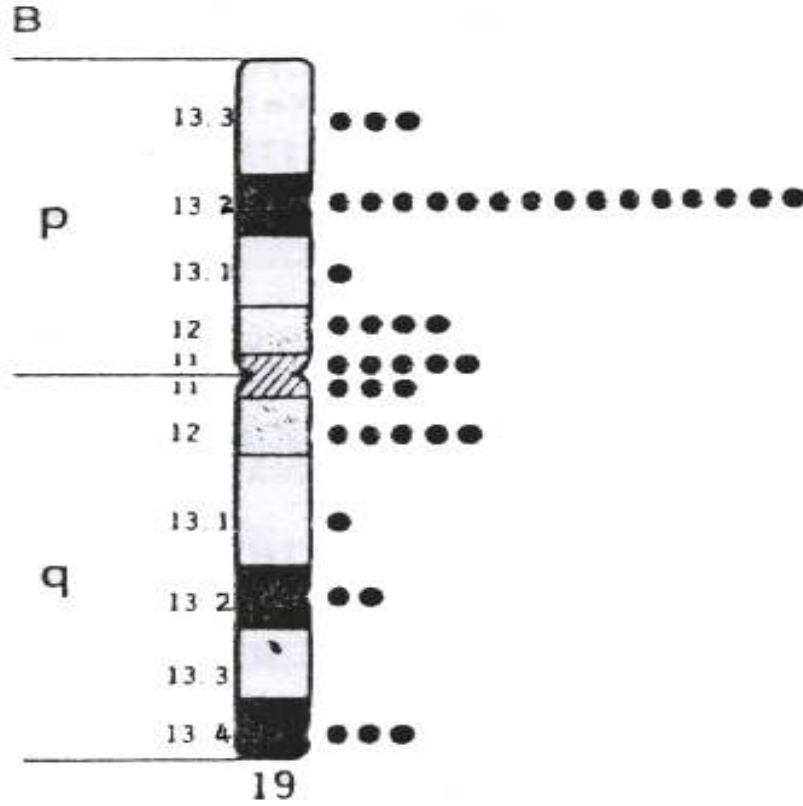
Prolidaz glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir (102). Mn^{+2} prolidaz enzimi aktivitesini 5-10 kat arttırmaktadır. Mn^{+2} 'a ek olarak enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arjinin ve anyonik amino asit artıklarının olması gerekir (104).

Proteazlar hep monomer yapıda olmasına rağmen prolidaz dimer yapı gösterir ve ancak bu şekilde katalitik aktivite gösterir. Prolidaz enziminin aktif merkezinde tiyol grubu yer alır ve bu grup bloke edilirse aktivite düşer. Buda sisteinin enzimin aktivitesi için gerekli olduğunu gösterir. Doğal enzim için optimum Ph:7,6-7,8'dir ve izoelektirik nokta pH:4,4-4,5 olarak saptanmış olup bu değer yapıdaki asidik amino asitlerin varlığını belirtmektedir (105).

2.4.3. İnsanda Prolidazın Gen Lokalizasyonu

Prolidaz insanda 19 numaralı kromozomun kısa kolunda lokalizedir (19p 13,2 bölgesi) ve geninin sembolü PEPD'dir. Enzim amino asit sırası olarak X-Ala-Ala-Ala ile başlamaktadır. Amino asit sırasının saptanması ve gen lokalizasyonu, enzimin eksikliğinin sebep olduğu kalıtsal hastalığın temelini anlaşılması bakımından önemlidir. Prolidazın genomik sırası oldukça geniştir ve en az 130 kb ve 15 ekson içermektedir. Ekson intron bağlantılarındaki tüm konformasyonlar GT/AG kuralıyla uyumludur (105,106). Prolidaz geninin bulunduğu kromozom 19 Şekil 2'de gösterilmektedir (102).

Şekil 2. İnsan Prolidaz Genini İçeren 19. Kromozom



2.4.4. Prolidazın İzoenzimleri

Dietiaminoetil selüloz dizi kromatografisi (DEAE) ile kültürlü deri fibroblast kültürlerinden ve normal insan eritrositlerinden ayrıştırılan prolidazın 2 formunun olduğu görülmüştür. Bunlar prolidaz I ve prolidaz II olarak isimlendirilmiştir. Bu iki izoenzim substrat spesifitesi ile bazı kimyasal özellikler bakımından farklılıklar gösterirler (107).

Prolidaz I'in molekül ağırlığı 112 kDa olup ve birbirini tamamlayan eşit molekül ağırlığında 2 subüniteden oluşur (56kDa) ve tüm insan dokularında bulunur. İminodipeptitlerin tamamıyla reaksiyona girmesine rağmen gly-pro dipeptitini tercih eder. Prolidaz II 'nin ise molekül ağırlığının 185 kDa'dur ve birbirine eş iki subüniteden (95 kDa) oluşmuştur. Prolidaz II'nin gly-pro dipeptidine karşı düşük bir aktivite gösterirken en yüksek

aktiviteyi met-pro dipeptidine karşı gösterdiği saptanmıştır. Prolidaz II plazmada bulunmamaktadır (108). Cosson ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda prolidaz I ve prolidaz II'yi kromatografik olarak ayırdıktan sonra izoenzimlerin farklı doku dağılımları gösterdiklerini bulmuşlardır (Tablo 2)(109).

Tablo 7. İnsan Prolidaz I ve Prolidaz II İzoenzimlerinin Doku Dağılımları (%)

	Prolidaz I	Prolidaz II
Karaciğer	53	47
Böbrek	62	38
İleum	53	47
Jejenum	53	47
Duadenum	42	58
Pankreas	22	78
Mide	42	58
Dalak	52	48
Beyin	36	64
Beyincik	44	56
Kalp	37	63
İskelet kası	34	66
Eritrositler	51	49

2.4.5.Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri

Enzimin aktivasyonu için gerekli olan Mn⁺² iyonu yerine başka metal iyonlarının ilavesi ile inhibisyon olduğu yapılan çalışmalarda gözlenmiştir. Bu çalışmalar domuz böbreği prolidazı üzerinde 1957 yılında yapılmıştır. Fe⁺², Co⁺², Ni⁺², Cu⁺², Zn ⁺², Cd⁺², Ag⁺¹, Hg⁺², Pb⁺² ve Pt⁺⁴ iyonlarının prolidazı inhibe ettiği bulunmuştur. Ortalama 0,001-0,0004 M aralığındaki konsantrasyonlarda glutatyon kullanıldığında optimal stabilizasyon ve aktivite sağlandığı ancak glutatyonun yüksek konsantrasyonunun inhibisyona sebep olduğu

bulunmuştur. Aynı araştırmacılar iyodoasetamin ve p-kloromerküri benzoatın da enzimi inhibe ettiğine değinmişlerdir (110).

Prolidazın substrat analogu olan asetilprolin ve trans-1,2 siklopentadikarboksilik asit tarafından kompetatif inhibisyonunda K₁'in pH 'ya bağlı olarak izledikleri yolu araştırdıklarında enzimin fonksiyonel grubu ile substratın pK_a: 6,6' da bağlandığını bununla birlikte bu maddelerin inhibisyonunun farklı yollar izlediğini görmüşlerdir (111).

1988 yılında ise yapılan bir çalışmaya göre Mn⁺² ve Fe⁺² metal iyonlarının enzim aktivitesine önemli bir etkisi olmadığı bulunmuştur. Bundan başka Co'nin Leu-Pro dışındaki substratlara karşı prolidazı inhibe eder. Cu⁺², Hg⁺², Cd⁺², Zn⁺², Pb⁺² iyonlarının da enzimi önemli derecede inhibe ettiği gözlenmiştir (112).

2.4.6. Kollajen

Yapısında yaklaşık her beş amino asitten biri prolin veya hidroksiprolin olan kollajen, önemli bir destek proteindir. Kemik, diş, tendon, deri, damarlar gibi birçok dokuda yer almaktadır ve total vücut kollajeninin yaklaşık yarısı kemikte bulunmaktadır. Kemik yıkımı sürecinde osteoidler tarafından kollajen üretimi söz konusudur. Öte yandan kemik yapımı osteoblastlar tarafından tip I kollajen ve osteoidin ekstrasellüler formunu oluşturan diğer proteinlerin salgılanması ile başlatılır. Tip I kollajenin sentezindeki ilk basamak kollajenin alfa-1 ve alfa-2 zincirlerinin sentezinden sonra, kollajen zincirdeki pek çok prolin ve lizin kalıntısı hidroksillenerek hidroksiprolin ve hidroksilizin haline dönüşürler (113).

2.4.7. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımındaki Önemi

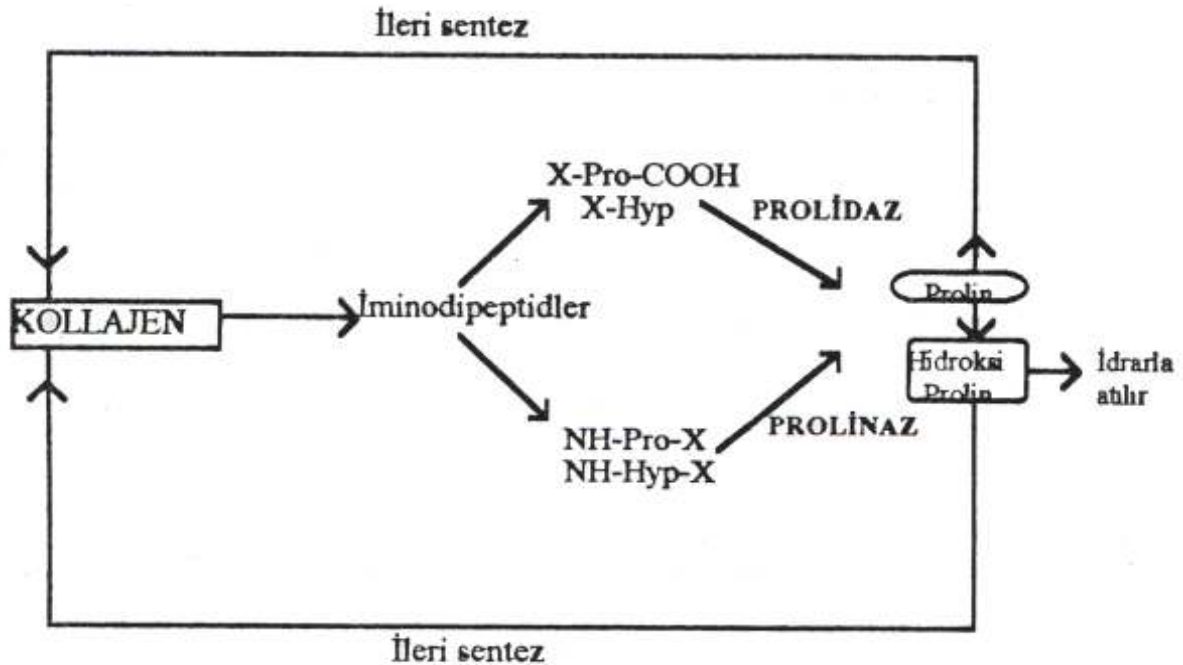
İnterstisyel kollajenaz enziminin kollajen molekülünün amino ucuna yakın bir yüzeyine bağlanmasıyla kollajen yıkımı başlar. Kollajen molekülüne etkili enzim orijinal kollajen molekülünün üçlü sarmal yapıdaki %25 ve %75 kadarını taşıyan iki adet sarmal yapıda molekül açığa çıkarmaktadır. Sarmal yapıları dayanıklı olmayan bu küçük

moleküllerin vücutta parçalanması ile elde edilen polipeptitler, proteazlar tarafından daha küçük petitler veya serbest aminoasitlere yıkılmaktadır.

Prolidazın bütün bu biyolojik fonksiyonunun prolin döngüsüyle beraber kollajen dejenerasyon ürünleri ve diğer Xaa – Pro dipeptidlerin metabolizması olduğu düşünülmektedir. Prolidaz C-terminalinde prolin veya hidroksiprolin bulunan dipeptidleri hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye katılır ve yeni protein sentezinde kullanılırken hidroksiprolin idrarla atılmaktadır (114,115).

Kollajen dokudaki aminoasitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksiprolin oluşturduğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli rol oynamaktadır. Kemik, tendon ve destekleyici membran dokularını ana bileşeni olan kollejen prolinin yapısal özelliklerine belirgin bir şekilde ilişkilidir. Prolidaz hücre içi protein yıkımının son basamağında, özellikle yüksek miktarda prolin içeren prekollajenin yıkımı aşamasında ve prolinin kollajen yapımı döngüsüne yeniden katılımında rol oynamaktadır (103,116). Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri aşağıdaki şekilde görülmektedir (Şekil 3)(117).

Şekil 3. Kollajen Yıkımında Prolidaz ve Prolinazın Yeri



2.4.8. Prolin ve Hidroksiprolin

Prolin ve hidroksiprolin prolidino halkasındaki azot atomuna bir hidrojen atomunun girmesi ile oluşmaktadır. Bunlar genelde imino asit ismiyle adlandırılır. L-prolin amino asitlerin hücre dışı havuzunun temel bileşenidir. Bunu sadece glutamin ve alanin amino asitleri takip eder. Hidroksiprolin öncelikle vücut sıvılarında oligopeptitlerde bulunmaktadır. İnsanlarda hidroksiprolinin yapısı 4-hidroksi-L-prolin şeklindedir ve vücut sıvılarında daha az bulunur. Protein yapısında bulunan hidroksiprolin peptide bağlı prolinin hidroksillenmesi ile oluşmaktadır (104).

Prolin ve hidroksiprolin, kollajen yapısında yer alan en önemli amino asitlerdir. Prolin türevleri olan 3-hidroksiprolin ve 4-hidroksiprolin karışık fonksiyonlu oksijenazlar kullanılarak polipeptit zincirinde bulunan prolin kalıntılarında elde edilmektedir. Hidroksiprolinin hidroksiprolin oksidaz ile parçalanması sonucunda glioksalat ve pirüvat oluşmaktadır. Hidroksiprolin hidrojen yapım ve yıkımında açığa çıkar (118).

2.4.9. Prolidaz Eksikliği Hastalığı

Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır. Prolidaz eksikliğinde büyük miktarda prolin ve hidroksiprolin üre ile dışarı atılır. İmino peptidler gibi amniyon asitleri bağlar ve sonuç olarak toplam prolin eksikliği oluşur. Etkilenen hasta bireylerde prolidaz enzim aktivitesi saptanamaz. İmino peptidüri, aynı zamanda raşitizm, hiperparatiroidizm ve paget hastalığı gibi durumlarda tanımlanır. Fakat İmino peptidüri prolidaz eksikliğinde çok daha yüksektir. Prolidaz eksikliği cilt ve diğer kollajen dokulardaki anormalliklerle karakterize bir sendromla sonuçlanır. Bu nadir genetik prolidaz eksikliği otozomal resesiftir. Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental gerilik, tekrarlayan infeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir (103,107,119).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Hasta Grubu ve Çalışma Protokolü

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Dahiliye ve Endokrinoloji Polikliniğinde izlenen 30 mikroalbuminürik tip 2 DM'li olgu, 30 normoalbuminürik tip 2 DM'li olgu ve 28 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak alındı. Normoalbuminürik grupta 15 bayan 15 erkek, mikroalbuminürik grupta 15 bayan 15 erkek, sağlıklı kontrol grubunda ise 14 bayan 14 erkek olmak üzere toplam 88 kişiye çalışma hakkında bilgi verilip, yazılı ve sözlü onayları alınarak çalışmaya dahil edildi. Harran Üniversitesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Hastalar yaş, beden kütle indeksi (BKİ) ve cinsiyet açısından benzer üç gruba ayrıldı. Eşlik eden kronik hastalık, akut MI, aşikar koroner arter hastalığı, periferik arter hastalığı, hematüri, mensturasyon, akut ateşli hastalıklar, gebelik, obezite, ACEI ve ARB kullanımı, sigara ve alkol kullanma öyküsü, 30 yaşından küçük ve 55 yaşından büyük hastalar çalışma dışı bırakıldı.

3.2. Yöntem ve Ölçümler

Hastaların ve sağlıklı grubun Beden Kütle İndeksi (BKİ): vücut ağırlığı (kg)/boy (m²) formülü ile hesaplandı. BKİ >30 olan obez olgular çalışmaya alınmadı.

Diyabetik nefropati, idrar kreatinin ve mikroalbuminüri düzeylerine bakılıp hesaplandı. Mikroalbuminüri düzeylerine sabah alınan ilk idrarlardan, turbidimetrik yöntemle Beck-man nefalometri cihazı ile bakıldı. Tip 2 diabetli hastalarda takipte yılda bir rutin olarak bakılan idrar albumin atılımı miktarına göre; spot idrarda mikroalbumin/kreatinin oranı <30 µg/mg

olan hastalar normoalbuminüri ve spot idrarda mikroalbumin/kreatinin oranı 30-300 µg/mg olan hastalar mikroalbuminüri grubuna dahil edildi.

Çalışma için seçilen hastalardan ve sağlıklı gruptan venöz yoldan, asepsi ve antisepsi kurallarına ve tekniğine uygun bir şekilde 5 ml kan örneği biyokimya tüpüne alınıp, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve örnekler analize dek -80 °C'de prolidaz enzim ölçümü için saklandı. Çalışma yapılacağı zaman tüm serum örnekleri oda ısısına getirilerek çözüldükten sonra biyokimya laboratuvarında manuel olarak modifiye optimize Chinard metodu ile prolidaz enzim düzeyleri çalışıldı.

3.2.1. Prolidaz Aktivitesi

3.2.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- 1- Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
- 2- Spektroflorometre (Shimadzu RF-1501 MODEL, Japon)
- 3- Derin dondurucu (New Brunswick Scientific, C54285 model)
- 4- Hassas terazi (Sartorius marka 0,0001 g'a duyarlı)
- 5- Dijital pH-metre (Hanna, pH 211 model Japon)
- 6- Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset, USA)
- 7- Vorteks (DCA-VF-2)
- 8- Visible spektrofotometre (Jasco V-530 UV/Vİ3 Spektrofotometre)
- 9- Su banyosu (Nüve BM 402)

3.2.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Madde Adı	Formülü	Firma ve Katalog no
L-Prolin	$C_5 H_2NO_2$	Sigma®
Glisil-Prolin	$C_7 H_2N_2O_3$	Sigma®
Magnezyum klorür	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Riedel®
Glasiyel asetik asit	CH_3COOH	Merck®
Ortofosforik asit	H_3PO_4	Merck®
Trizma HCl	$C_4H_{11}NO_3HCl$	Sigma®
Trizma BASE	$C_4H_{11}NO_3$	Sigma®
Ninhidrin	$C_9H_6O_4$	Sigma®
Manganklorür (II)hidrat	$MnCl_2 \cdot 2H_2O$	Merck®
Glutasyon	GSH	Merck®
Sülfürik asit	H_2SO_4	Merck®
Sodyum klorür	NaCl	Merck®
O-Dianisidine dihydrochloride	$C_{14}H_{16}N_2O_2 \cdot 2HCl$	Sigma®
Hidroklorik asit	HCl	Merck®
Ferroz amonyum sülfat	$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$	Merck®
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Merck®
Xylenol orange	$C_{31}H_{32}N_2O_{13}S$	Sigma®
Glycerol	$CH_2OHCHOHCH_2OH$	Merck®

3.2.1.3. Prolidaz Aktivitesi Ölçümünde Kullanılan Ayraçlar

Ön inkübasyon çözeltisi : pH:7'de 50 mmol/L Tris HCl tamponu içerisinde, 1 mmol/L GSH ,50 mmol/LMnCl₂ çözdürüldü.

1. Substrat çözeltisi: Ön inkübasyon çözeltisi içerisinde 144 mmol/L glisil-L-prolindipeptidi çözdürüldü. Ancak substrat çözeltisi için pH:7.8'lik Tris HCl tampon kullanıldı.

2. Tepkimeyi durdurma çözeltisi : 1 mL glasiyal asetik asit kullanıldı.

3. Ninhidrin çözeltisi (modifiye (optimize) chinard çözeltisi) : 0.5 mol/L'lik ortofosforik asit içerisinde 3 g/dL olacak şekilde ninhidrin manyetik karıştırıcı ve ısı yadımıyla 70 °C'de eritildi. Prolin standartı : 5 mg L-prolin bir miktar deiyonize su içerisinde çözdürülüp son hacmi 100 mL ye tamamlandı.

3.2.1.4. Serum Prolidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi [Modifiye (optimize) chinard metodu]

Substrat olarak glisil-prolin kullanılarak enzim aracılığı ile oluşan prolinin asidik ortamda ısı etkisiyle ninhidrin ile renkli bir bileşik (pembe renk) oluşturma ilkesine dayanarak serum prolidaz düzeyi ölçülür. Rengin şiddeti prolin konsantrasyonuna bağlıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülür.



Deney 3 basamaktan oluşur:

1. Enzim aktivasyonu için; Numunenin Tris-HCl MnCl₂ ile preinkübasyonu
2. Örnek ile glisil - prolinin inkübasyonu
3. Serbestleşen prolinin spektrofotometrik olarak modifiye (optimize) chinard metodu ile ölçülmesi

İşlem

a-) Yöntemde, 100 uL serum ile 100 uL serum fizyolojik karıştırılıp bu karışımdan 25 uL alınıp, 1 mmol/L GSH ve 50 mmol/L MnCl₂ pH 7 'de 50 mmol/L Tris HCl tampondan oluşan ön inkübasyon solüsyonundan 75 uL alınarak 37 °C' de 30 dakika inkübe edildi.

b-) Karışımın üzerine 144 mmol/L Gly-pro içeren ön inkübasyon çözeltisinden (pH 7.8) 100 uL eklenerek 37 °C' de 5 dakika inkübe edildi.

c-) Daha sonra inkübasyonlu ve inkübasyonsuz (sıfır zaman) olacak şekilde iki grup tüp hazırlandı. İnkübasyonlu tüplere inkübasyonun sonunda 1mL glasiyal asetik asit ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Sıfır zaman tüplerine ise aynı hacimde preinkübe edilmiş örnek eklenerek 1mL glasiyal asetik asit ilave edilip reaksiyon durduruldu.

<u>Ayırklar</u>	<u>İnkübasyonlu</u>	<u>İnkübasyonsuz</u>
Serum Fizyolojik (uL)	100	100
Ön inkübasyon çözeltisi	75	75
Substrat (uL)	100	100
Glasiyal asetik asit (mL)	1	1

d-) İnkübasyonlu ve inkübasyonsuz (sıfır zaman) tüplerin üzerine 300uL Tris HCL tamponu (pH:7.8) ve 1 ml Ninhidrin çözeltisi eklendi.

<u>Ayırklar</u>	<u>Kör</u>	<u>Standart</u>	<u>İnkübasyonlu</u>	<u>İnkübasyonsuz</u>
Ön işlemden geçen çözelti			1.2	1.2
toplam hacmi (mL)				
Glasiyal asetik asit (ml)	1	1	1	1
Tris HCL pH 7.8 (uL)	300	300	300	300
Ninhidrin çözeltisi (modifiye (optimize) chinard çözeltisi)(mL)	1	1	1	1
Standart		1		

e-) Yukardaki işlemler uygulandıktan sonra tüplerin ağzı kapatılarak 90 °C' de su banyosunda 20 dakika bekletildi. Daha sonra buzlu su banyosunda soğutulup beklenmeden

515 nm'deki absorbanslar substratın katılmadığı örnek körüne karşı okutuldu. Ölçülen prolin derişimleri standart olarak kullanılan 5 mg/dL'lik L-prolin ile karşılaştırılarak hesaplandı.

3.2.1.5. Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması

Prolidaz aktivite düzeyi : $(A-B) \times [S] \times \text{Faktör} / S$

A: İnkübasyon tüpü absorbans değeri

B: Sıfır zaman tüpü absorbans değeri (inkübasyonsuz)

[S]: Standart konsantrasyonu (mmol/L)

S: Standart absorbans değeri

Prolidaz aktivite düzeyi : $(A-B) \times [S] \times \text{Faktör} / S$: 1 litrede 1 dakikada oluşan mmol prolin miktarı veya $(A-B) \times [S] \times \text{Faktör} \times 60 / S$: 1 litrede 1 saatte oluşan mmol prolin miktarı

Serumda aktivite tanımı : 1µmol substratı 1 dakikada değışikliğe uğratan enzim miktarı olarak yapılmıştır. Birim U/L olarak tanımlanmıştır.

3.3. İstatistik

Veriler Windows ile uyumlu SPSS 11.5 programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arası kategorik değışkenlerin karşılaştırılması Ki-kare testi ile yapıldı. Üç grup arasındaki sürekli değışkenlerin karşılaştırılması One-Way ANOVA testi ile yapıldı. Gruplar arası istatistik Scheffe ile belirlendi. İkili gruplarda normal dağılım gösteren değışkenlerin analizi student-t test ile, normal dağılım göstermeyen değışkenlerin analizi ise Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Prolidaz düzeyi ile ilişkili olabilecek değışkenlerin korelasyonuna Pearson analizi ve Regresyon analizi ile bakıldı. Sonuçlar ortalama±standard deviasyon olarak belirtildi ve $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 88 kişiden birinci gruptaki 30 diyabetik mikroalbuminürik hastanın yaş ortalaması $48,2\pm6,4$ olup, 15'i kadın, 15'i erkekti. İkinci gruptaki 30 diyabetik normoalbuminürik hastanın yaş ortalaması $46,3\pm6,0$ olup 15'i kadın, 15'i erkekti. Üçüncü gruptaki 28 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunun yaş ortalaması $45,0\pm6,4$ olup 14'ü kadın, 14'ü erkekti. Beden Kütle İndeksi (BKİ) olarak mikroalbuminürik birinci grubun ortalaması 27,3 iken, normoalbuminürik ikinci grubun 27,2 ve sağlıklı kontrol üçüncü grubun ise 26,3'tü. Gruplar arasında yaş, cinsiyet ve beden kütle indeksi ile tablo 8'de özetlendiği üzere diğer demografik özellikler açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 8. Grupların Demografik ve Klinik Özellikleri*

	Mikroalbuminürik (n=30)	Normoalbuminürik (n=30)	Kontrol (n=28)
Yaş (yıl)	48,2±6,4	46,3±6,0	45,0±6,4
Cinsiyet (K/E)	15/15	15/15	14/14
Kilo (kg)	73,9±8,2	74,6±9,5	72,5±10,5
Beden Kütle İndeksi (kg/m ²)	26,7±2,3	26,7±1,8	25,8±1,9
Sistolik kan basıncı (mmHg)	119,3±7,6	118,2±5,5	118,1±8,9
Diastolik kan basıncı (mmHg)	75,5±4,6	76,0±4,3	75,6±6,9
İnsülin Kullanımı (+/-)	9/21	3/27	-
Diyabet Süresi (yıl)	6,6±5,9	4,1±3,4	-

*; Tüm veriler için $p>0,05$

Diyabetik gruplar arasında; İnsülin kullanımı, diyabet süresi (Tablo 8), HbA1c, glukoz ve c-peptid (Tablo 9) düzeylerinde anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).

Üç grup arasında laboratuvar parametrelerden üre, kreatinin, AST, ALT, albumin, total kolesterol ve LDL düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Diğer laboratuvar parametrelerden, glukoz, trigliserid, HDL, idrar microalbuminüri/kreatinin oranı ve prolidaz değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptandı ve Tablo 9'da özetlendi.

Tablo 9. Grupların Prolidaz ve Diğer Laboratuvar Değerleri

	Mikroalbuminürik (n=30)	Normoalbuminürik (n=30)	Kontrol (n=28)
Glukoz (mg/dl)	205,9±94,4 ^a	190,6±74,8 ^a	89,5±7,9
HbA1c (%)	9,3±2,6	9,5±2,7	-
C-Peptid (ng/ml)	2,9±1,5	3,1±1,9	-
Üre (mg/dl)	30,7±8,4	27,4±7,5	27,6±6,2
Kreatinin (mg/dl)	0,84±0,17	0,82±0,14	0,83±0,11
AST (SGOT) (U/L)	21,5±7,9	19,2±5,8	21,5±6,3
ALT (SGPT) (U/L)	27,4±8,3	25,7±8,3	25,0±8,8
Albumin (g/dl)	4,4±0,3	4,6±0,3	4,4±0,3
Trigliserid (mg/dl)	174±84,5 ^b	150,6±57,1	120±60,4
Total Kolesterol (mg/dl)	174,7±34,8	182±35,9	186,2±38,9
HDL (mg/dl)	34,2±6,6 ^c	37,5±7,7	41,8±10
LDL (mg/dl)	105,2±25,8	113,8±31,8	120±33
İdrar m.alb/kre (µg/mg)	91,8±70 ^{a,d}	10,2±4,5	8,8±5,6
Prolidaz (U/L)	668±14 ^{a,e}	660±11,4	654±10,4

a; kontrol grup ile $p<0,001$

b; kontrol grubu ile $p=0,014$

c; kontrol grubu ile $p=0,030$

d;normoalbuminürik grup ile $p<0,001$

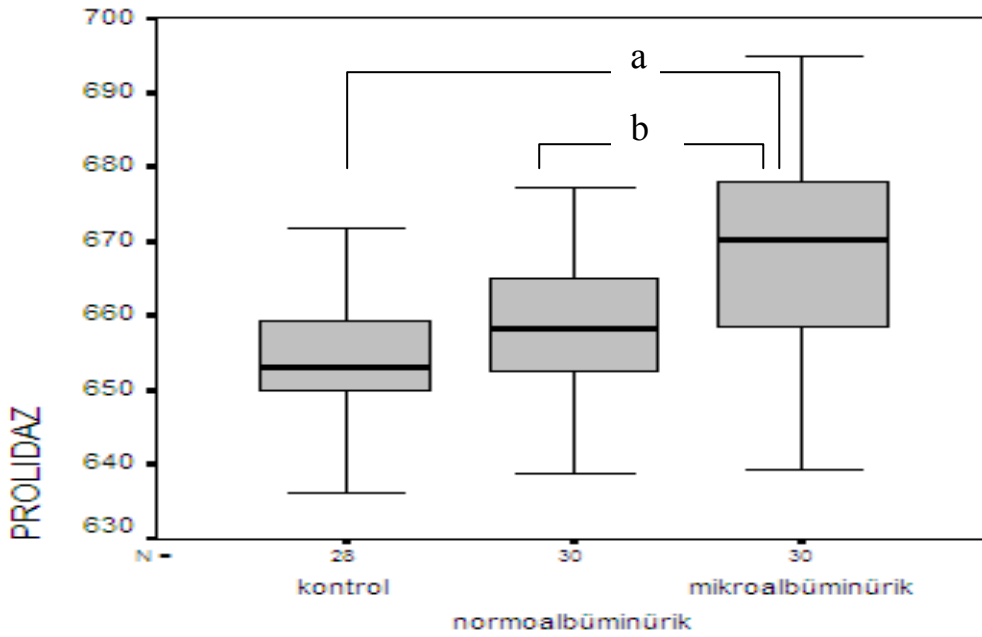
e;normoalbuminürik grup ile $p=0,043$

Ortalama Prolidaz değerleri mikroalbuminürik grupta 668±14 U/L, normoalbuminürik grupta 660±11.4 U/L ve kontrol grubunda 654±10.4 U/L olarak saptandı. Mikroalbuminürik

grubun ortalama prolidaz aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti ($p<0,001$). Mikroalbuminürik grubun ortalama prolidaz aktivitesi normoalbuminürik gruba göre de istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti ($p=0,043$). Normoalbuminürik grubun ortalama prolidaz aktivitesi ise kontrol grubundan daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

Prolidaz ile idrar mikroalbuminüri/kreatinin oranı arasında anlamlı pozitif korelasyon mevcuttu ($r=0.39$, $P<0.001$), HDL ile anlamlı negatif korelasyon mevcuttu ($r= -0.22$, $p<0.05$). Regresyon analiziyle değerlendirildiğinde prolidaz düzeyi ile sadece idrar mikroalbuminüri/kreatinin oranının anlamlı ilişki gösterdiğini ($t=2.8$, $p=0,007$) , HDL ile ilişkinin kaybolduğu saptandı.

Şekil 4. Grupların Ortalama Prolidaz Aktiviteleri farkının, dağılım ve standart sapmalarının grafiksel gösterimi



a; kontrol grubu ile $p<0,001$

b; normoalbuminürik grup ile $p=0,043$

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Diabetes Mellitus en sık karşılaşılan endokrin metabolik bozukluklardan biridir. Mikro ve makroanjyopatinin neden olduğu geç komplikasyonları nedeniyle sağlık ve ekonomik açısından ciddi yükler getirmekle birlikte; Körlük, böbrek yetersizliği, ekstremitte amputasyonu gibi istenmeyen durumların oluşmasında majör nedenlerdendir (120).

Diyabetik nefropati son dönem böbrek yetersizliğinin en sık nedeni olarak günümüzde giderek artan bir öneme sahiptir. Diyabetik nefropati idrarla atılan proteinin miktarında artış ile ilişkilidir. Proteinürideki artış sadece nefropatinin gelişeceğinin habercisi olmakla kalmayıp beraberinde diyabetik hastaların kardiyovasküler hastalık nedeni ile erken dönemde ölme olasılıklarını güçlü bir biçimde ortaya koyar (121).

Kollajen vücudumuzda oldukça fazla miktarda bulunur ve birçok dokuda fibroblastlar tarafından sentezlenir. Bağ doku iskeletinin temelini oluşturur ve inflamasyon, hücre hareketi ve yara iyileşmesi için önemlidir (122,123). Kollajenin yapısındaki amino asitlerin %25'ini prolin ve hidroksoprolin oluşturmaktadır. Prolidaz bu aminoasitleri içeren dipeptidleri yıkan tek enzim olması nedeniyle önem arz etmektedir (10). Literatürde prolidazın çeşitli hastalıklarla ilişkisi yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir;

Demirbağ ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sol ventrikül hipertrofisinden bağımsız olarak hipertansiyonun kollajen turn-overını arttırarak serum prolidaz aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir (124). Yapılan diğer bir çalışmada ise kardiyak hipertrofi hastalarda prolidaz enzim aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (119). Demirbağ ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada da kapak replasmanı yapılmış atrial fibrilasyonlu veya fibrilasyonsuz mitral stenozlu vakalarda plazma prolidaz değerindeki değişim incelenmiş ve atrial fibrilasyonlu hastalarda prolidaz aktivitesinin düştüğü gösterilmiştir (125).

Çelik ve arkadaşları siroz hastalarında serum prolidaz aktivitesini sağlıklı gruba göre anlamlı olarak düşük bulmuşlar ve prolidaz aktivitesinin bu dejeneratif karaciğer hastalığında

kollajen metabolizması bozukluklarını yansıtabileceği şeklinde yorumlamışlardır (126). Bunun aksine Myara ve arkadaşları yaptıkları çalışmada serum prolidaz aktivitesinin karaciğer sirozunda arttığını bildirmişlerdir (117).

Yıldız ve arkadaşları kronik yaralarda uygulanan hiperbarik oksijen tedavisinde serum ve doku örneklerinde, prolidaz enzim değerleri ölçüldüğünde tedavi sonrasında, tedavi öncesine göre azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (18). Oono ve arkadaşları ise kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzimi değerinin yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister oluşan hastalıklarda, blister içi sıvı örneklerinde arttığını bildirmişlerdir (127).

Aslan ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, H.Pylori (+) olguların H.Pylori (-) olgulara göre prolidaz aktivitelerinin belirgin olarak yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. H.Pylori (+) olgularda artmış oksidatif strese bağlı oluşan gastrik mukozal inflamasyonun, hücrelerde kollajen sentezini artırmasıyla ve gastrik fibrozise neden olmasıyla ilişkilendirilmiştir (128). Kaleli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise bronşiyal astımda prolidaz aktivitesinin artmış olduğu, bunun respiratuvar bronşiyollerdeki submukozal hücrelerde gelişen inflamasyon ve fibrozise bağlı olduğu tespit edilmiştir (129).

Altındağ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, dizde osteoartriti olan hastalarda, serum prolidaz aktivitesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu tespit edilmiştir (130). İyidoğan ve arkadaşları yaptığı çalışma sonucunda, serum prolidaz aktivitesinin klinik laboratuvarlarda kemik yapım ve yıkımının bir göstergesi olabileceğini göstermişlerdir (131). Namıduru ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, postmenapozal osteoporozda serum polidaz aktivitesinin değişmediği ve diğer kemik yapım ve yıkım göstergeleri ile ilişkili olmadığı (132); Evrenkaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, son dönem böbrek yetmezliğinde görülen yüksek ve düşük döngülü kemik hastalığının tespitinde prolidazın değerli olmadığını (133) tespit etmişlerdir.

Erbağcı ve arkadaşları, osteoporozlu diyabetik hastaların prolidaz aktivitesinin osteoporozu olmayan diyabetik gruba göre mikrovasküler komplikasyonların ve kemik resorpsiyonunun muhtemelen daha fazla olmasından dolayı arttığını göstermişler ve prolidazın, diyabetik hastalardaki osteoporozun tespitinde iyi bir belirteç olabileceğini ileri sürmüşlerdir (134).

Literatürde prolidazın diyabetik nefropati ile ilişkisini gösteren çalışma yoktur. Çalışmamız bu konuda başlatılan ilk araştırmadır. Sonuçlarımıza göre mikroalbuminürik diyabetik hastalarda prolidaz aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda

yüksek bulundu. Bu da yukarıda belirtmiş olduğumuz Erbağcı ve arkadaşlarının bulgularını teyit etmekte ve bu hastalarda mikroanjiyopatik patolojilerin ortaya çıkmasına bağlı olarak vücudumuzda en yaygın ve özellikle de vasküler tabakalarda fazlaca bulunan yapısal bir protein olan kollajenin turn-overının (yıkılıp yeniden sentez edilmesi) hızlandığını yansıtmaları bakımından önem taşımaktadır. Yine sonuçlarımıza göre normoalbuminürik olanlara göre diyabetik hastalardan, mikroalbuminürik grupta prolidaz aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksekti. Literatüre göre nefropatili hastalarda glomeruler bazal membran kalınlaşması ile mezengiyal artış meydana gelmektedir ve bunlar hastalığın ilerlemesiyle daha da belirginleşmektedir (12,13). Bunun nedeni olarak da bu dokularda kollajenin fazlaca birikmesi gösterilmektedir (16,17). Bu çalışmaların sonucuyla da bizim çalışmamız uyuşmakta ve birbirini doğrulamaktadır. Çünkü, kollajenin bu dokularda birikmesi bu proteinin metabolizmasının değişikliğe uğradığını, turn-overının hızlandığını göstermektedir. Prolidaz enzimi de kollajen proteininin hem yıkımında hem de yeniden sentez edilebilmesi için prolin amino asitinin temin edilmesinde esas enzim olması itibarıyla artmış bulunmaktadır.

Literatürde diyabetik nefropati vakalarında prolidaz enzim aktivitesi ilk kez bu çalışmada ele alınmasına rağmen bu vakalarda kollajen metabolizmasını inceleyen çeşitli çalışmalar mevcuttur.

Lijima ve arkadaşları ile Yagame ve arkadaşlarının ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda tip IV kollajenin üriner atılımının normoalbuminürik ve/veya sağlıklılarla karşılaştırıldığında mikroalbuminürik diyabetli hastalarda anlamlı olarak arttığını tespit etmişlerdir (135,136). Bununla beraber birçok çalışmada da idrar tip IV kollajen atılımının idrar albumin atılımıyla korele olduğu gösterilmiş olup idrar tip IV kollajenin diyabetik renal hasarda belirteç olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir (135-142). Üstelik tip IV kollajenin üriner atılımının artmasının diyabetik normoalbuminürik hastalarda glomeruler hasarı erken saptamada albuminden daha duyarlı olduğu düşünülmektedir (138,139,141).

Xu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serum tip IV kollajen seviyesinin mikroalbuminürik diyabetlilerde artmış olduğu gösterilmiştir (143). Yine birçok çalışmada Tip III veya tip IV kollajenin serum konsantrasyonlarının insülin bağımlı olmayan diyabet ile ilişkili erken nefropatide prognostik bir belirteç olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir (144-152). Ellis ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tip I diyabetli hastalarda tip III kollajenin

üriner atılımının diyabetik mikroalbuminüriyelerde arttığını ve diyabetik nefropatide gösterge olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (153)

Carboxy-Terminal Propeptide Type I Procollagen (P1CP), tip I kollajenin sentez ve depolanmasında görev almaktadır (154). İnukai ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tip II diyabetli hastalarda P1CP düzeyinin idrar albumin atılımıyla korele olduğunu tespit etmişlerdir (155).

TGF-beta ekstrasellüler matriks moleküllerinin çoğunun yapımını uyarmaktadır. Bunlar arasında tip 1 kollajen, tip 4 kollajen, fibronektin ve laminin vardır (72). Pfeiffer ve arkadaşları ile Houlihan ve arkadaşlarının yaptıkları ayrı ayrı çalışmalarda hem serumda hemde idrarda artmış TGF-beta düzeyleri ile diyabetik nefropati arasında olan ilişkiyi göstermişlerdir (156,157). Ha ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normoalbuminürik ve/veya sağlıklılarla karşılaştırıldığında mikroalbuminürik tip II diyabetli hastalarda idrarda TGF-beta seviyelerinin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (158).

Laminin ekstrasellüler matriksin bir bileşenidir (72). Jackle-Meyer ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada laminin'in idrar ve serum konsantrasyonlarının diyabetik nefropatili hastalarda değişmediği ancak kollajen tip IV seviyesinin idrarla atılımına bağlı olarak serumda azaldığı ve idrarda arttığı tespit edilmiştir (159). Başka bir çalışmada Banu ve arkadaşları nefropati derecesi arttıkça idrar tip IV kollajen ve laminin konsantrasyonlarının arttığını göstermişlerdir (160)

Fibronektin başlıca karaciğerde olmak üzere endotel ve trombositlerde üretilen ekstrasellüler matriksin bir komponenti olup, Hong ve arkadaşları tarafından üriner fibronektin atılımının diyabetik nefropatide yararlı bir biyomarkır olabileceği söylenmiştir (161). Tip II diyabetli hastalarda kontrol grubuna göre üriner fibronektin düzeylerinin arttığı (161,162) ve glomeruler lezyon ve albuminürinin derecesine bağlı olarak üriner fibronektin artışının da olduğu rapor edilmiştir (162,163).

Betaig-h3 bir ekstrasellüler matriks proteini olup TGF-beta tarafından üretilmektedir. Ha ve arkadaşları ilk kez Betaig-h3 / kreatinin oranının tip II diyabetli hastalarda yükseldiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada üriner Betaig-h3 ve albumin atılım oranları arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur (163). Cha ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada diyabetik hastalarda üriner Betaig-h3 seviyesinin arttığı ve renal komplikasyonların erken saptanmasında Betaig-h3'ün yararlı olabileceği gösterilmiştir (164).

Glomeruler ekstrasellüler matriks dejenerasyonunun ana fizyolojik regülasyonunu matriks metalloproteinase'lar sağlar. Ebihara ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada MMP-9'un serum konsantrasyonlarının tip II diyabetli hastalarda mikroalbuminüri gelişiminin belirteci olabileceği gösterilmiştir (165). Fakat matriks metalloproteinazların sadece kollajene spesifik olmaması, tek bir enzim aktivitesini ifade etmemesi ve diyabet gibi mikroanjiopatik komplikasyonlarla seyreden durumlarda sensitivite ve spesifitesinin çok yüksek olmaması nedeniyle prolidaz etiopatogenezinde mikroanjiopatik olayların yer aldığı diyabet ve benzeri hastalıkların ve komplikasyonlarının tanı ve takipleri açısından daha avantajlı gözükmektedir.

Sonuç olarak; Çalışmamızda tip 2 diyabetli mikroalbuminürik grupta prolidaz enzim aktivitesinin tip 2 diyabetli normoalbuminürik ve sağlıklı kontrol gruba göre anlamlı olarak yüksek tespit ettik. Prolidaz enzim aktivitesindeki bu yükseklik, mikroalbuminürik hastalarda kollajenin birikimiyle birlikte mikroanjiopatik patolojilerin ortaya çıktığını ve kollajenin metabolizmasının değişikliğe uğrayıp, turn-overının (yıkılıp yeniden sentez edilmesi) hızlandığını göstermektedir. Bununla birlikte prolidaz enzim aktivitesinin diyabet ve onun nefropati veya diğer komplikasyonlarının erken tanı ve klinik seyirlerinin takibi açısından rutin bir parametre olarak kullanılabilirliğini ortaya koyabilmek için daha kapsamlı ve detaylı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Altuntaş Y. Diabetes Mellitus'un Tanımı Tanısı ve Sınıflaması, Her Yönüyle Diabetes Mellitus, Yenigün M, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, 2001; 51-62.
2. Narayan KM, Boyle JP, Thompson TJ, et al. Lifetime risk for diabetes mellitus in the United States. JAMA 2003; 290: 1884-1890.
3. Budzikowski A. Obesity, diabetes and hypertension: a growing epidemic. Cardiol Rev 2003; 20: 9-10.
4. Cosentino F, Ryden L, Francia P. Diabetes Mellitus ve Metabolik Sendrom. ESC Textbook Kardiyovasküler Hastalıkları Kitabında. Kozan Ö (çeviri editörü). Birinci baskı. CSA Global Publishing Yayıncılık İstanbul 2007; 301-324.
5. Boden G. Pathogenesis of type 2 diabetes: insulin resistance. Endocrinol Metab Clin North Am 2001; 30: 801-815.
6. Cohen RA. Dysfunction of vascular endothelium in diabetes mellitus. Circulation 1993; 87: 67-76.
7. Boden G. Pathogenesis of type 2 diabetes: insulin resistance. Endocrinol Metab Clin North Am 2001; 30: 801-815.
8. Burant CF. Tip 2 diabetin tıbbi tedavisi, 5. baskı, ADA. Port City Pres, 2004; 100.
9. Milligan A, Brown G. Prolidase Deficiency: a Case Report and Literature Review. Brit J. Dermatol 1989; 121:405 –409.
10. Aksoy N, Çelik H, Selek Ş, Güzel S, Aslan M, Elçi K. Evaluation of Prolidase Activity in Diabetic Patients. Turk J Biochem 2005; 30 (1) 49-50.
11. Nadasdy T, Silva FG. Adult renal diseases. Stenberg's Diagnostic Surgical Patology, Cilt 3, 4.baskı; Editörler: SE Mills, D Carter, JK Greenson, HA Oberman, V Reuter, MH Stoller; Lippincott Williams, 2004, ss:1864-1954.
12. Farquar A, Mac Donald MK, Ireland JT. The role of fibrin deposition in diabetic glomerulosclerosis:A light, electron and immunoflorecence microscopy study. J Clin Pathol 1972; 25:657-667.

13. Kimmelstiel P, Kim OJ, Beres J. Studies on renal biopsy specimens, with the aid of the electron microscope: I. Glomeruli in diabetes. *Am J Clin Pathol* 1962; 38:270-296.
14. Büyükdevrim S, Büyükmeşe MA, Davutoğlu M. *Diyabetik Nefropati*, Turgut Yayıncılık 2005; s:116.
15. Bangstad HJ, Osterby R, Dahl-Jørgensen K, Berg KJ, Hartmann A, Nyberg G, Frahm Bjørn S, Hanssen KF. Early glomerulopathy is present in young, type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetologia*. 1993; 36(6): 523-529.
16. Böhle A, Wehrmann M, Bogenschutz O, Batz C, Muller C, Muller GA. The pathogenesis of chronic renal failure in diabetic nephropathy: investigation of 488 cases of glomerulosclerosis. *Pathol Res Pract* 1991; 187:251-259.
17. Osterby R, Bangstad HJ, Nyberg G, Walker JD, Viberty G. A quantitative ultrastructural study of juxtaglomerular arterioles in IDDM patients with micro- and macroalbuminuria. *Diabetologia* 1995; 38:1320-1327.
18. Yıldız Ş, Ay H, Dündar K, Elbüken M.E, Caymaz O. *Gülhane Tıp Dergisi* 2004; 46 (2) : 144 –148.
19. Goldman L, Ausiello D. *Cecil Textbook of Medicine*, Serhat Ünal (çeviri editörü), Güneş Tıp Kitabevi Ltd. Şti., 22.baskı, 2006;1424
20. Yılmaz C, Yılmaz T, İmamoğlu Ş. In *Diabetes Mellitus 2000*, *Diabetes Mellitus'un Tarihçesi*. Gri Tasarım mayıs 2000, pp:13-15
21. Yılmaz C, Yılmaz T, İmamoğlu Ş. In *Diabetes Mellitus 2000*, *Diabetes Mellitus'ta tanı testleri ve sınıflaması*. Gri Tasarım mayıs 2000, pp:17-26
22. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 15-35.
23. Yılmaz TM. *Diabetes Mellitus'un tanı kriterleri ve sınıflaması*, *Diabetes mellitusun modern tedavisi*, Yılmaz MT, Bahçeci M, Büyükbeşe MA, 1. Baskı, Türk Diyabet Vakfı, İstanbul, 2003; (1): 1-9.
24. Eschwege E, Simon D, Balkau B. The growing burden of diabetes in the world population. *International diabetes federation Bulletin* 1997;42:14-19.
25. Boyle JP, Honeycutt AA, Narayan KM et al. Projection of diabetes burden through 2050: impact of changing demography and disease prevalence in the US. *Diabetes Care* 2001;24:1936-1940.
26. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care* 1998;21:1414-1431.
27. Laakso M. Tip 2 diyabetin epidemiyolojisi ve tanısı. In: *Tip 2 Diyabet*, ed. Goldstein BJ, Wieland DM, AND, 2003, İstanbul, pp: 2-12.

28. Orhan Y. Diabetes Mellitus. In: Endokrinoloji, Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları, ed. Sencer E, Nobel, 2001, İstanbul, sayfa 246-86.
29. Satman I, Yılmaz MT, Şengül A, et al and The TURDEP Group. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: result of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care* 2002; 25: 1551-1556.
30. Keleştimur F, Çetin M, Paşaoğlu H, Çoksevım B, Çetinkaya F, Ünlühazırcı K. The prevalence and identification of risk factors for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Kayseri, central Anatolia, Turkey. *Acta Diabetologica* 1999; 36:85-91
31. Haris MI, Flegal KM, Cowie CC et al. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in US adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Diabetes Care* 1998;21:518-524.
32. Kenny SJ, Aubert RE, Geiss LS. Prevalence and incidence of non-insulin independent diabetes. In: National Diabetes Group, ed. *Diabetes in America*, Bethesda, MD: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 1995:47-68.
33. National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. Overweight, obesity, and health risk. *Arch Intern Med* 2000; 160: 898-904.
34. Hu FB, Sigal RJ, Rich-Edwards JW et al. Walking compared with vigorous physical activity and risk of type 2 diabetes in women: a prospective study. *JAMA* 1999; 282: 1433-1439.
35. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ et al. Diet, lifestyle, and the risk of tip 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 2001; 345: 790-797.
36. Beck-Nielsen, H, Groop, LC. Metabolic and genetic characterization of prediabetic states. Sequence of events leading to non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1994; 94:1714.
37. Kahn, CR. Banting Lecture: Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. *Diabetes* 1994; 43:1066.
38. Robertson, RP. Antagonist: diabetes and insulin resistance -- philosophy, science, and the multiplier hypothesis. *J Lab Clin Med* 1995; 125:560.
39. Kahn CR. Banting Lecture. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. *Diabetes* 1994 Aug;43(8):1066-1084.
40. Roder ME; Dinesen B; Hartling SG; Houssa P; Vestergaard H; Sodoyez-Goffaux F; Binder C. Intact proinsulin and beta-cell function in lean and obese subjects with and without type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999 Apr;22(4):609-614.

41. Makimattila S; Fineman MS; Yki-Jarvinen H. Deficiency of total and nonglycosylated amylin in plasma characterizes subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 Aug;85(8):2822-2827.
42. Carter, JS, Pugh, JA, Monterrosa, A. Non-insulin-dependent diabetes mellitus in minorities in the United States. *Ann Intern Med* 1996; 125:221.
43. Klein, BE, Klein R, Moss SE, et al. Parental history of diabetes in a populationbased study. *Diabetes Care* 1996; 819:827.
44. Froguel, P, Zouali, H, Vionnet, N, et al. Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase: Definition of a subtype of diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 328:697.
45. Burant CF. Tip 2 diabetin tıbbi tedavisi, Beşinci baskı, ADA. Port City Pres, 2004; 100.
46. Orhan Y. Diabetes Mellitus. In: Endokrinoloji, Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları, ed. Sencer E, Nobel İstanbul, 2001; S246-286.
47. Candeğer Yılmaz, Temel Yılmaz, Şazi İmamoğlu. Diyabetik Nefropati. In: Diabetes Mellitus 2000, Gri Tasarım, Mayıs 2000; pp: 139-144.
48. Wolf G. New insights into the pathophysiology of diabetic nephropathy: from haemodynamics to molecular pathology. *Eur J Clin Invest* 2004; 34: 785-796.
49. Parving HH. Diabetic nephropathy: prevention and treatment. *Kidney Int* 2001; 60: 2041-2055.
50. Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenenti P. Nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2002; 346: 1145-1151.
51. Mogensen CE. Preventing end-stage renal disease. *DiabetMed* 1998; 15(Suppl 4):551-556.
52. Ibrahim HAA, Vora JP. Diabetic nephropathy. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1999; 13; 239-264.
53. The Epidemic of diabetes mellitus in the ESRD population, 2001. Available at URL: http://www.usrds.org/2001_pres/html_talks/2001
54. Marso SP. Diabetic nephropathy. In: Marso SP, ed. *The Handbook of Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease*. 1st ed. London: Remedica Group; 2003. p. 113-127.
55. Diabetes Control and Complications Trial Research Groups. 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; 329: 977-986.
56. Berger M, Monks D, Wanner C, Linder TH. Diabetic nephropathy: an inherited disease or just a diabetic complication? *Kidney Blood Press Res* 2003; 26: 143-154.

57. Pettitt DJ, Saad MF, Benneth PH, Nelson RG, Knowler WC. Familial predisposition to renal disease in two generations of Pima Indians with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990; 33: 438-443.
58. Earle K, Walker J, Hill Q, Viberti GC. Familial clustering of cardiovascular disease in patients with insulin dependent diabetes and nephropathy. *N Eng J Med* 1992; 326: 673-677.
59. Keller C, Bergis KH, Fliser D, Ritz E. Renal findings in patients with short term type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 2627-2635.
60. Feehally J. Ethnicity and renal disease: questions and challenges. *Clin Med* 2003; 3: 578-582.
61. Marre M, Mode, Bernadet P, Gallois Y, Savanger F, Tham-Tam G, Hallab M. Relationships between angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic renal complications. *Diabetes* 1994; 43: 384-388.
62. Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramon ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care* 2005; 28: 164-176.
63. Arima S, Ito S. The mechanisms underlying altered vascular resistance of glomerular afferent and efferent arterioles in diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1966-1969.
64. Thomson SC, Vallon V, Blantz RC. Kidney function in early diabetes: the tubular hypothesis of glomerular filtration. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: F8-15.
65. Van Dijk C, Berl T. Pathogenesis of diabetic nephropathy. *Rev Endocr Metab Disord* 2004; 5: 237-248.
66. Haneda M, Koya D, Isono M, Kikkawa R. Overview of glucose signaling in mesangial cells in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1374-1382.
67. Chang W, Dimitriadis E, Allen T, Dunlop ME, Cooper M, Larkins RG. The effect of aldose reductase inhibitors on glomerular prostaglandin production and urinary albumin excretion in experimental diabetes mellitus. *Diabetologia* 1991; 34: 225-231.
68. Pederson M, Christiansen J, Mogensen C. Reduction of glomerular hyperfiltration in normoalbuminuric IDDM patients by 6 month of aldose reductase inhibition. *Diabetes* 1991; 40: 527-531.
69. Tuttle KR, Anderson PW. A novel potential therapy for diabetic nephropathy and vascular complications: protein kinase C beta inhibition. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 456-465.
70. Brosius FC 3rd. Trophic factors and cytokines in early diabetic glomerulopathy. *Exp Diabetes Res* 2003; 4: 225-233.

71. Khamaisi M, Schrijvers BF, De Vriese AS, Raz I, Flyvbjerg A. The emerging role of VEGF in diabetic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1427-1430.
72. Ziyadeh FN. Mediators of diabetic renal disease: the case for tgf-beta as the major mediator. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 Suppl 1: S55-77.
73. Sakurai S, Yonekura H, Yamamoto Y, et al. The AGE-RAGE system and diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(8 Suppl 3): S259-263
74. Lee HB, Yu MR, Yang Y, Jiang Z, Ha H. Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(8 Suppl 3): S241-245.
75. Clare-Salzler MJ, Crawford JM, Kumar V. Pankreas. Diabetes mellitusu morfolojisi ve ge komplikasyonları. Robbins Temel Patoloji. 7. Baskı. (vr ed. evikbaş U). İstanbul: Nobel Tıp KitapevleriLtd. şti; 2003. p. 650-651.
76. Candeğer Yılmaz, Temel Yılmaz, şazi İmamoğlu. Diyabetik Nefropati. In: Diabetes Mellitus 2000, Gri Tasarım, Mayıs 2000;pp: 139-144.
77. Bennett PH and Knowler W. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis. In: Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ. Joslin's Diabetes Mellitus, 14th ed, Philadelphia, PA, Lippincott Williams&Wilkins 2005; 331-341.
78. Viberti GC, Hill RD, Jarret RJ et al. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1982;i.1430-1432.
79. Mogensen CE, Keane WF, Benneth PH et al. Prevention of diabetic renal disease with special reference to microalbuminuria. *Lancet* 1995;346:1080-1084.
80. Dinen SF, Gerstein HC. The association of microalbuminuria and mortality in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 1997;157:1413-1418.
81. Schmitz A, Vaeth M. Microalbuminuria: a major risk factor in non-insulin dependent diabetes. A 10 year follow up study of 503 patients. *DiabetMed* 1988;5:126-134.
82. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the diabetes control and complications trial. *Kidney Int* 1995; 47: 1703-1720.
83. United Kingdom Prospective Diabetes Study Group. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet* 1998; 352: 837-853.
84. Wang PH, Chalmers TC. Metaanalysis of effects of intensive blood-glucose control on the late complications of type 1 diabetes. *Lancet* 1993; 341: 1306-1309.

85. Nosadini R, Tonolo G. Relation ship between blood glucose control, pathogenesis and progression of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 Suppl 1: S1-5.
86. Hollenberg NK. Treatment of the patient with diabetes mellitus and risk of nephropathy: what do we know, and what do we need to learn? *Arch Intern Med* 2004; 164: 125-130.
87. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al; National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluati-on,and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Comment in: The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289: 2560-2572.
88. Inzucchi SE, *Diabetes Mellitus El Kitabı 6. Baskı (Çev. Edr: Demiriz İŞ, Demiriz B.) Nobel Tıp Kitap Evleri* 2009 ; 334.
89. Wade VL, Gleason BL. Dual blockade of the renin-angiotensin system in diabetic nephropathy. *Ann Pharmacother* 2004; 38: 1278-1282.
90. Azizi M, Menard J. Combined blockade of the renin-angiotensin system with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type 1 receptor antagonists. *Circulation* 2004; 109: 2492-2499.
91. Lewis EJ, Lewis JB. ACE inhibitors versus angiotensin receptor blockers in diabetic nephropathy: is there a winner? *Jtw Soc Nephrol* 2004; 15: 1358-1360.
92. Abbott K, Basta E, Bakris GL. Blood pressure control and nephroprotection in diabetes. *J Clin Pharmacol* 2004; 44: 431-438.
93. Lane JT. Microalbuminuria as a marker of cardiovascular and renal risk in type 2 diabetes mellitus: a temporal perspective. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: F442-450.
94. Lewis EJ, Hunsicker LJ, Clarke WR, et al. Renopro-TECTIVE effect of the angiotensin receptor antagonist irbesatan in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001; 345: 851-858.
95. Brenner BM, Goper ME, de Zeeuw D, et al; RENAAL Study Investigators. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2001; 345:861-869.
96. Bakris GL, Coopley JB, Vicknair N, Sadler R. Leurgans S. Calcium channel blockers versus other antihypertensive therapies on progression of NIDDM associated nephropathy. *Kidney bit* 1996;50: 1641-1650.
97. Tonolo G, Ciccarese M, Brizzi P, et al. Reduction albumin excretion rate in normotensive microalbumi-nuric type 2 diabetic patients during long term simvastatin treatment. *Diabetes Care* 1997; 20: 1891-1895.

98. Prabhakar SS. Role of nitric oxide in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2004; 24: 333-344.
99. Stein G, Fiinfstiick R, Schiel R. Diabetes mellitus and dialysis. *Minerva UrolNefrol* 2004; 56: 289-303.
100. Locatelli F, Pozzoni P, Del Vecchio L. Renal replacement therapy in patients with diabetes and end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 Suppl 1: S25-29.
101. Matas AJ, McHugh L, Payne WD, et al. Long term quality of life after kidney and simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Clin Transplant* 1998; 12: 233-242.
102. End of Tanoue A. :Primary Structure and Gene Localization of Human. Prolidase. *J Biol Chem.* 1989;264: 4476- 4481.
103. Alparslan S, Gültepe M: Serum Prolidase Activity: Its Value as an Indicator of Collagen Accumulation in Chronic Liver Diseases. *Biyokimya Dergisi.* 1993;18(1):1-9.
104. Phang JM., Yeh GC., Scriver.: Disorders of Proline and Hydroxyproline Metabolism. In: *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, (7th Ed) Scriver RC., Blandet al., Sly WS., (Eds) Mc Graw Hill, Montreal 1995: 1125-1141.
105. Mock WL, Zhuang H.: Chemical Modification Locates Guanidinyl and Carboxylate Groups Within The Active site of prolidase *Biochem biophys Res Commun.* 1991;180(1): 401-406.
106. Lifton RP. Molecular genetics of human blood pressure variation. *Science.* 1996;272(5262): 676-680
107. Sugahara K. Ohno T. The Use of liquid chromatography Mass spectrometry for the identification and Quantification of Urinary immunodipeptides in prolidase deficiency *Eur J clin Chem Clin Biochem.* 1993;31(5): 317-322
108. Ohhashi T. Ohno T. : Characterization of prolidase I and II From erythrocytes of a control patient with prolidase deficiency and her Mother. *Clin Chim Acta.* 1990;187(1):1-9
109. Cesson C, Myara I. : Only prolidase I Activity is present in human plasma. *Int. J Biochem.* 1992;24(3): 427-432
110. Borigt A, Scriver CR: Prolidase Deficiency: Biochemical Classification of Alleles *Am J Hum Genet* 1989;44: 731-740
111. Mock WL., Green PC.: Mechanism and Inhibition of prolidase. *J Biol Chem,* 1990;265 (32): 19606-19610.
112. Oono T , Arata J. Characteristics of prolidase and prolidase in prolidase-deficient patients with some preliminary studies of their role in Skin. *J dermatol.* 1988;15: 212-219.

113. Taylor AK, Lueken SA, Libanati C, Baylink DJ. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism. *Rheum Dis Clin North Am* 1994;20(3): 589-607.
114. Chamson A, Voigtlander V. Collagen Biosynthesis Anomalies in Prolidase Deficiency. Effect of Glycyl-L-Proline on the Degradation of Newly Synthesized Collagen *Clin. Physiol Biochem.* 1989;7(3-4): 128-136.
115. Elçi K Hipertansiyonun Kollajen Doku Üzerindeki Etkilerini Prolidaz Enzim Aktivitesini Ölçerek Belirlemeye Çalışmak Uzmanlık Tezi Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Dalı Şanlıurfa.2007
116. Taylor AK, Lueken SA, Libanati C, Baylink DJ. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism. *Rheum Dis Clin North Am* 1994;20(3): 589-607.
117. Myara I, Myara A. Bone metabolism. *Rheum Dis Clin North Am* 1994;20(3): 589-607. plasma prolidase activity: A Possible Index of Collagen Catabolism in Chronic Liver Disease. *Clin Chem.* 1984;30(2):211-215
118. Onat T, Emerk K, Sözman EY. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık,Ankara,2002
119. Göçebe M. Prolidaz Enziminin Serum Aktivite Değerlerini Kardiyak Hipertrofi Hastalarda Tespit Ederek Hastalığın Erken Tanısı Açısından Prolidaz Enzim Aktivitesinin Bir Rolü Olup Olamayacağını İncelemek Uzmanlık Tezi. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Bilim Dalı Şanlıurfa. 2007.
120. Laakso M. Tip 2 diyabetin patogenezi. In: *Tip 2 Diyabet*, ed. Goldstein BJ, Wieland DM, AND, İstanbul, pp. 2003: 13-28.
121. Mogensen CE. Prevention end stage renal disease. *Diabetic Medicine* 1998;15(suppl4): 551-556.
122. Oono T, Yasutomi H, Ohhahi T, Kodama H, Arata J. Characterization of fibroblast derived prolidase. The presence of two forms of prolidase. *J Dermatol. Sci* 1990; 1: 319-323.
123. Butterworth J, Priestman DA. Presence in human cells and tissues of two prolidasases and their alteration in prolidase deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 1985; 8: 193.
124. Demirbag R. Yıldız A, Gür M. Serum prolidase activity in patients with hypertension and its relation with left ventricular hypertrophy *Clinical Biochemistry* 2007;40: 1020-1025
125. Rabus M. Demirbag R. Yıldız A. Association of prolidase activity, oxidative parameters and presence of atrial fibrillation in patients with mitral stenosis *Archives of Medical Research* 2008; 39: 519- 524.
126. Çelik H, Aksoy N, Aslan M, Nalgül Y, Barut Ş *Turk J Biochem.* 2005; 29 (1): 1-172.

127. Oono T, Fujiwara Y, Arata J. Prolidase activity in chronic wound and blister fluids. *J Dermatol.* 1997;24(10):626-629.
128. Aslan M, Nazligul Y, Horoz M, Bolukbas C, Bolukbas FF, Aksoy N, Celik H, Erel O. Serum prolidase activity and oxidative status in *Helicobacter pylori* infection. *Clin Biochem.* 2007 Jan;40(1-2):37-40.
129. Kaleli S, Akaya A, Akdoğan M, Gültekin F. The Effects of different treatments on prolidase and antioxidant enzyme activities in patients with bronchial asthma. *Environmental Toxicology and pharmacology* 2006;22 (2006) 35-39.
130. Altındag O, Erel O, Aksoy N, Selek S, Celik H, Karaoglanoglu M Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis. *Rheumatol Int.* 2007 Feb;27(4):339-44. Epub 2006 Nov 10.
131. İyidoğan YÖ, Gürdöl F, Öner P: Serum prolidaz I aktivitesinin kemik yapım-yıkım indeksi olarak değerlendirilmesi. *İst Tıp Fak Mecmuası.* 1999; 62: 2.
132. Namiduru ES, Binnur Erbagci A, Celik A, Yilmaz M, Tarakçioğlu M. Serum prolidase activity in postmenopausal osteoporosis *Minerva Med.* 2007 Dec;98(6):647-651.
133. Evrenkaya TR, Atasoyu EM, Kara M, Unver S, Gultepe M The role of prolidase activity in the diagnosis of uremic bone disease *Ren Fail.* 2006;28(4):271-274.
134. Erbağci AB, Araz M, Erbağci A, Tarakçioğlu M, Namiduru ES Serum prolidase activity as a marker of osteoporosis in type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009 Mar;70(3):469-474. Epub 2008 Aug 22
135. Iijima T, Suzuki S, Sekizuka K, et al. Follow-up study on urinary type IV collagen in patients with early stage diabetic nephropathy. *J Clin Lab Anal* 1998; 12(6): 378–382.
136. Yagame M, Suzuki D, Jinde K, et al. Significance of urinary type IV collagen in patients with diabetic nephropathy using a highly sensitive one-step sandwich enzyme immunoassay. *J Clin Lab Anal* 1997; 11(2): 110–116.
137. Kotajima N, Kimura T, Kanda T, et al. Type IV collagen as an early marker for diabetic nephropathy in non-insulindependent diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2000; 14(1): 13–17.
138. Banu N, Hara H, Okamura M, et al. Urinary excretion of type IV collagen and laminin in the evaluation of nephropathy in NIDDM: comparison with urinary albumin and markers of tubular dysfunction and/or damage. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; 29(1): 57–67.
139. Kotajima N, Fukumura Y, Obata K, et al. The significance of determination of urinary type IV collagen concentrations from a random urine collection in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Rinsho Byori* 1998; 46(3): 277–282.

140. Cohen MP, Lautenslager GT, Shearman CW. Increased collagen IV excretion in diabetes. A marker of compromised filtration function. *Diabetes Care* 2001; 24(5): 914–918.
141. Kado S, Aoki A, Wada S, et al. Urinary type IV collagen as a marker for early diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 1996; 31(1–3): 103–108.
142. Okonogi H, Nishimura M, Utsunomiya Y, et al. Urinary type IV collagen excretion reflects renal morphological alterations and type IV collagen expression in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Nephrol* 2001; 55(5): 357–364.
143. Xu X, Wu Z, Zhou Q, et al. The role of determining the levels of serum kollagen type IV in diagnosing early diabetic nephropathy. *Ren Fail* 2002;24;747-753.
144. Okazaki R., Matsuoka K., Horiuchi A., Maruyama K., & Okazaki, I. Assays of serum laminin and type III procollagen peptide for monitoring the clinical course of diabetic microangiopathy. *Diabetic Res Clin Pract* 1988;5: 163-170.
145. Matsumoto E., Matsumoto G., Ooshima A., Kikuoka H., Bessho H., Miyamura K., & Nanjo, K. Serum type IV collagen concentrations in diabetic patients with microangiopathy as determined by enzyme immunoassay with monoclonal antibodies. *Diabetes* 1990;39: 885-890.
146. Matsumoto E., Matsumoto G., Bessho H., Kikuoka H., & Nanjo, K. Serum concentrations of intact type IV collagen in diabetics. *J Diabetic Complication* 1991;5: 189-190.
147. Hayashi Y., Makino H., Shikata K., Haramoto T., Yamasaki Y., Kumagai I., & Ota, Z. Increased concentrations of the basement membrane component type IV collagen in sera and urine pf diabetics. *J Diabetic Complication* 1991;5: 195-196.
148. Hayashi Y., Makino H., & Ota, Z. Serum and urinary concentrations of type IV collagen and laminin as a marker of microangiopathy in diabetes. *Diabetic Med* 1992;9: 366-370.
149. Tomono S., Kawazu S., Kato N., Ohno T., Utsugi T., & Murata, K. Clinical implications of serum levels of basement membrane components in diabetic patients with and without albuminuria. *J Diabetic Complication* 1991;5: 193-194.
150. Watanabe T., Negisghi K., Katayama S., Ishii J., & Kawazu, S. Serum or urinary concentration of type IV collagen in diabetics. *J Diabetic Complication* 1991;5: 191-192.
151. Okazaki R., Matsuoka K., Atsumi Y., Maruyama K., Matsuki H., & Okazaki, I. Serum concentrations of basement membrane proteins in NIDDM as a prognostic marker for nephropathy. *Diabetic Res Clin Pract* 1995;27: 39-49.
152. Ishimura E., Nishizawa Y., Shoji S., & Mori, H. Serum type III, IV collagens and timp in patients with type II diabetes mellitus. *Life Sci* 1996;58: 1331-1337.

153. Ellis D., Forrest K., Erbey J. & Orchard T.J. Urinary measurement of transforming growth factor- β and type IV collagen as new markers of renal injury: application in diabetic nephropathy. *Clinical Chemistry* 1998;44,5: 950–956.
154. Risteli J and Risteli L. Analysing connective tissue metabolites in human serum. Biochemical, physiological and methodological aspects. *J Hepatol* 1995; 22: 77-80.
155. Inukai T, Fujiwara Y, Tayama K, et al. Serum levels of carboxy-terminal propeptide of human type I procollagen are an indicator for the progression of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2000;48: 23-28.
156. Pfeiffer A, Middelberg-Bispinig K, Drewes C, et al. Elevated plasma levels of transforming growth factor- β I in NIDDM. *Diabetes Care* 1996;19:1113-1117.
157. Houlihan CA, Akdeniz A, Tsalamandris C, et al. Urinary transforming growth factor- β excretion in patients with hypertension, type 2 diabetes, and elevated albumin excretion rate: effects of angiotensin receptor blockade and sodium restriction. *Diabetes Care* 2002;25:1072-1077.
158. Ha SW, Kim HJ, Bae JS et al. Elevation of urinary β ig-h3, transforming growth factor- β -induced protein in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 65: 167–173.
159. Jäckle-Meyer I, Szukics B, Neubauer K, Metze V, Petzoldt R, Stolte H. Extracellular matrix proteins as early markers in diabetic nephropathy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1995 Apr;33(4): 211-219.
160. Banu N, Hara H, Okamura M, Egusa G, Yamakido M. Urinary excretion of type IV collagen and laminin in the evaluation of nephropathy in NIDDM: comparison with urinary albumin and markers of tubular dysfunction and/or damage. *Diabetes Res Clin Pract.* 1995 Jul;29(1): 57-67.
161. Hong CY, Chia KS. Markers of diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications* 1998; 12(1): 43–60.
162. Takahashi M. Increased urinary fibronectin excretion in type II diabetic patients with microalbuminuria. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1995; 37(6): 336–342.
163. Kanauchi M, Nishioka H, Dohi K. Diagnostic significance of urinary fibronectin in diabetic nephropathy. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1995; 37(2): 127–133.
164. Cha DR, Kim IS, Kang YS et al. Urinary concentration of transforming growth factor- β -inducible gene-3(β ig-h3) in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2005; 22: 14–20.
165. Ebihara I, Nakamura T, Shimada N, Koide H. Increased plasma metalloproteinase-9 concentrations precede development of microalbuminuria in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Am J Kid Dis* 1998;32: 544–550.