

T1521

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

+

PRİMER HİPERTANSİF HASTALARDA BÖBREK  
ZEDELENMESİNİN ERKEN TANISINDA GÜVENİLİR BİR  
GÖSTERGE OLARAK CYSTATİN C'NİN ÖNEMİ

1521

Dr. Betül ALTAY ÖZER

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Aslı BAYKAL

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

“Kaynakça Gösterilerek Tezinden Yararlanılabilir”

Antalya, 2003

## TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. T. Aslan Aksu ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Aslı Baykal başta olmak üzere tüm hocalarıma; tez çalışmamın her aşamasında değerli zamanını ve bilgisini benden esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Gültekin Süleymanlar'a; üzerinde çalıştığım hasta grubunu oluşturmamda bana büyük yardımları bulunan Uzm. Dr. Belda Dursun'a, katkılarından dolayı Türk Nefroloji Derneği'ne ve beraber çalışmaktan onur duyduğum araştırma görevlisi ve uzman arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. Betül ALTAY ÖZER  
Antalya, 2003

## İÇİNDEKİLER

<b>Simgeler ve Kısaltmalar Dizini</b>	<b>v</b>
<b>Şekiller Dizini</b>	<b>vii</b>
<b>Tablolar Dizini</b>	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Hipertansiyon Tanımı ve Sınıflaması</b>	<b>4</b>
<b>2.2. Hipertansiyon Prevalansı</b>	<b>8</b>
<b>2.3. Primer Hipertansiyon Patogenezi</b>	<b>8</b>
2.3.1. Genetik Faktörler	9
2.3.2. Aşırı Sodyum Alımı	11
2.3.3. Renin-Anjiotensin Sistemi	12
2.3.4. Stres ve Aşırı Sempatik Etkinlik	14
2.3.5. Membran Transport Anormalliklerinin Yeri	15
2.3.6. İnsülin Rezistansı ve Hiperinsülinemi	16
2.3.7. Endotel İşlev Bozukluğu	17
2.3.8. Obezite	18
2.3.9. Düşük Doğum Ağırlığı	19
<b>2.4. Hipertansif Nefropati</b>	<b>19</b>
<b>2.5. GFR ve Ölçüm Yöntemleri</b>	<b>21</b>
2.5.1. SCr ve Kreatinin Klirensi	22
<b>2.6. Cystatin C</b>	<b>26</b>
2.6.1. Tarihçe	26
2.6.2. Yapı ve Metabolizma	26
2.6.3. Fonksiyon	28

2.6.4.	Stabilite	28
2.6.5.	Biyolojik Varyasyon	29
2.6.6.	Cys C'yi Etkileyen Faktörler	29
2.6.7.	Ölçüm Yöntemleri	30
2.6.8.	Referans Aralıkları	32
2.6.9.	Renal Fonksiyonun Bir Göstergesi Olarak Cys C	32
2.6.10.	Diğer Klinik Uygulamalar	34
2.7.	N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase (NAG)	36
2.7.1.	Fonksiyon	36
2.7.2.	Yapı ve İzoenzimler	36
2.7.3.	Klinik Kullanım	37
2.7.4.	Ölçüm Yöntemleri	37
2.8.	Beta 2 Mikroglobulin (BMG)	37
2.9.	İdrar Protein, Albümin ve Mikroalbümin	38
3.	GEREÇ ve YÖNTEM	40
3.1.	Bireyler	40
3.2.	Laboratuvar İşlemleri	40
3.3.	Ölçülen Parametreler ve Yöntemleri	41
3.3.1.	Cys C	41
3.3.2.	NAG	43
3.3.3.	Serum ve İdrar Kreatinin Ölçümü ve GFR Hesaplanması	45
3.3.4.	BMG	47
3.3.5.	BUN	48
3.3.6.	Ürik Asit	49
3.3.7.	İdrar Protein	49
3.3.8.	İdrar Albümin	50

3.4.	İstatistiksel Analiz	51
4.	BULGULAR	52
4.1.	Grupların Renal Parametreler Açısından Kıyaslanması	52
4.1.1.	Serum Parametreleri	52
4.1.2.	İdrar Parametreleri	53
4.1.3.	GFR Parametreleri	54
4.2.	Renal Parametrelerin Korelasyonları	55
4.3.	ROC Analizleri	59
5.	TARTIŞMA	63
	ÖZET	79
	KAYNAKLAR	80

## SİMGELER ve KISALTMALAR

ACE	Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
ATI	Anjiotensin I
ATII	Anjiotensin II
AUC	ROC Eğrisi Altında Kalan Alan
BMG	Beta 2 Mikroglobulin
BMI	Vücut Kitle İndeksi
BSA	Vücut Yüzey Alanı
BUN	Kan Üre Azotu
CAPD	Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis
CFAS	Calibrator For Automated Systems
CG	Cockcroft-Gault
CrCl	Kreatinin Klirensi
CV	Varyasyon Katsayısı
Cys C	Cystatin C
DKB	Diastolik Kan Basıncı
EDRF	Endotel Kökenli Vazodilatatör Faktör
EIA	Enzim İmmunoassay
FIA	Fluoroimmunoassay
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HOH	Hedef Organ Hasarı
JNC	Joint National Committee
KKH	Klinik Kardiyovasküler Hastalık
KLL	Kronik Lenfositik Lösemi
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
NAG	N-acetyl-beta-D-Glucosaminidase
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey

NIDDM	İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus
NO	Nitrik Oksit
NPV	Negatif Prediktif Değer
PENIA	Particle Enhanced Nephelometric Immunoassay
PETIA	Particle Enhanced Turbidimetric Immunoassay
PPV	Pozitif Prediktif Değer
RAAS	Renin-Anjiotensin-Aldosteron Sistemi
RIA	Radioimmunoassay
ROC	Receiver Operating Characteristics
SCr	Serum Kreatinin
SE	Standart Hata
SKB	Sistolik Kan Basıncı
SRID	Single Radial Immunodiffusion
UA	Ürik Asit
U <sub>alb</sub>	İdrar Albümin
U <sub>pro</sub>	İdrar Protein
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.1.	Kan Basıncı Kontrolünde Rol Oynayan ve “Kan Basıncı=Kalp Debisi x Periferik Direnç” Şeklindeki Temel Denklemi Etkileyen Bazı Etmenler	9
2.2.	Renin-Anjiotensin Sisteminin Şematik Görünümü	13
2.3.	Kreatin ve Kreatinin Sentezi	23
3.1.	Cys C Standart Grafiği	42
3.2.	Cys C Ölçüm Protokolünün Şematik Gösterimi	42
3.3.	NAG Standart Grafiği	44
4.1.	Çalışma Gruplarının Serum Parametreleri Açısından Kıyaslanması	53
4.2.	Çalışma Gruplarının İdrar Parametreleri Açısından Kıyaslanması	54
4.3.	Çalışma Gruplarının GFR Parametreleri Açısından Kıyaslanması	55
4.4.	Hasta Grubunda MDRD-GFR ile Renal Parametrelerin Korelasyon Grafikleri	57
4.5.	Kontrol Grubunda MDRD-GFR ile Renal Parametrelerin Korelasyon Grafikleri	58
4.6.	GFR Parametrelerinin ROC Eğrileri	60
4.7.	Serum Parametrelerinin ROC Eğrileri	61
4.8.	Bütün Parametrelerin ROC Eğrilerinin Kıyaslamalı Grafiği	62



## TABLULAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
2.1. Erişkinlerin Kan Basıncı Sınıflaması (JNC VI)	5
2.2. Hipertansiyonlu Hastalarda Kardiyovasküler Risk Derecelendirmesi Komponentleri	6
2.3. Risk Faktör Derecelendirmesi ve Tedavi İlkeleri	6
2.4. Hipertansiyonun Tipleri ve Nedenleri	7
2.5. İnsanlarda Hipertansiyon Gelişimine Yol Açan Genetik Mekanizmalar	11
2.6. Cys C'nin Bulunduğu Organ ve Dokular	27
2.7. İnsan Biyolojik Sınırlarında Cys C Düzeyleri	27
2.8. Cys C Ölçüm Yöntemleri	31
2.9. Cys C Referans Aralıkları	33
4.1. Çalışma Gruplarının Genel Özellikleri	52
4.2. Çalışma Gruplarının Serum Parametreleri	53
4.3. Çalışma Gruplarının İdrar Parametreleri	54
4.4. Çalışma Gruplarının GFR Parametreleri	55
4.5. Hasta Grubunda MDRD-GFR ile Serum Parametrelerinin Korelasyonları	56
4.6. Kontrol Grubunda MDRD-GFR ile Serum Parametrelerinin Korelasyonları	56
4.7. Hasta Grubunda MDRD-GFR ile Diğer GFR Parametrelerinin Korelasyonları	56
4.8. Kontrol Grubunda MDRD-GFR ile Diğer GFR Parametrelerinin Korelasyonları	56
4.9. Hasta Grubunda Üriner NAG Aktivitesi ile Korelasyon Gösteren Parametreler	59
4.10. Hasta Grubunda Cys C ile Korelasyon Gösteren Parametreler	59
4.11. Kontrol Grubunda Cys C ile Korelasyon Gösteren Parametreler	59
4.12. Parametrelerin ROC Analiz Sonuçları	60

## 1. GİRİŞ

Arteriyel hipertansiyon; büyük arterlerde ölçülen kan basıncının; sürekli olarak, normal kabul edilen değerlerin üzerinde olmasıdır. Kan basıncını normal fizyolojik sınırlarda düzenleyen sistemlerin bir ya da birkaçının düzenleyici etkisini yitirmesi ve yıllarla vasküler elastisitenin azalmasıyla, kan basıncı yükselme eğilimi gösterir. Resesif geçiş gösteren, genetik faktörlerin de etkili olduğu bu tür hipertansiyona "Esansiyel ya da Primer Hipertansiyon" denir (1).

Hipertansiyon; özellikle vasküler sistemin genel bir hastalığı olduğu için; bu olaydan öncelikle damardan zengin organlar etkilenmektedir. Hipertansiyonda "hedef organ" olarak adlandırılan bu organlar; beyin, kalp, periferik damarlar, gözler ve böbreklerdir (2).

Primer hipertansiyon vakalarında, erkenden ortaya çıkan bir patolojik değişiklik yoktur. Ancak daha sonra kaçınılmaz bir şekilde arteriollerde genel bir skleroz başgösterir. Bu olay kendini özellikle böbreklerde hissettirir. Nefroskleroz; primer hipertansiyonun başlıca özelliğidir ve progresyon göstererek böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilir (3).

Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFR); böbrek harabiyetinin derecesini belirlemede kullanılan önemli bir klinik tanı aracıdır. GFR'nin değerlendirilmesinde altın standart kabul edilen yöntem, inülin klirensidir; ancak teknik zorluklar nedeniyle bu yöntem rutinde çok fazla kullanılamamaktadır. Klinikte en çok kullanılan yöntem ise; serum kreatinin (SCr) ölçümü ve endojen kreatinin klirensidir. Fakat GFR'deki hafif-orta dereceli azalmaların tespitinde yetersiz kalması; yaş, kas kitlesi, cinsiyet, protein alımı gibi böbrek dışı faktörlerden büyük çapta etkilenmesi ve ölçümüyle ilgili çeşitli interferans problemleri nedeniyle; kreatinine alternatif olacak, analitik olarak çok daha güvenilir; klinik olarak da en az onun kadar, hatta daha fazla güvenilirliğe sahip; nefron kaybı için spesifik bir göstergeye ihtiyaç vardır.

<sup>125</sup>I Iothalamate, <sup>51</sup>Cr EDTA ve iohexol klirensleri, güvenilir olmakla beraber; invaziv, zahmetli ve komplike oldukları için; son yıllarda GFR'yi hem güvenilir, hem de kolay bir biçimde yansıtabilecek çok daha iyi bir belirteç bulma yolunda pek çok girişimde bulunulmuş ve yakın zamanda bu özelliklere uygun,

değerli bir gösterge olan Cystatin C (Cys C) öne sürülmüştür. Bir sistein proteinaz inhibitörü olan ve bütün nukleuslu hücreler tarafından sabit bir hızda sentezlenen Cys C'nin, GFR'deki değişiklikleri yansıtması bakımından, SCr'den daha duyarlı bir belirteç olduğu bildirilmiştir (4) Serum Cys C ölçümü için son zamanlarda geliştirilen hızlı, güvenilir ve tam otomatize yöntemler sayesinde; Cys C'nin analitik spesifitesinin de, SCr ölçümlerinden daha üstün olduğu gösterilmiştir (4,5).

N-acetyl-beta-D-Glucosaminidase (NAG); renal proksimal tubulusun S<sub>3</sub> segmentinde ve distal nefronda bulunan, lizozomal bir enzimdir. Üriner NAG atılımı; renal tubuler hasarın bir göstergesi olarak çeşitli klinik durumlarda artar ki bunlardan biri de esansiyel hipertansiyondur. Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda üriner NAG düzeylerinin, kan basıncı ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (6).

Primer hipertansiyonda, hastalığın hedef organlarından biri olan böbreklerde, strüktürel ve fonksiyonel olumsuz değişiklikler olmaktadır. Bu çalışmada; GFR'yi yansıtması bakımından SCr'ye üstünlüğü pek çok araştırmada gösterilmiş olan Cys C'nin; primer hipertansif hastalarda böbrek tutulumunun erken dönemde saptanmasındaki rolünü değerlendirmeyi ve çalışmamızdan elde edeceğimiz sonuçlar doğrultusunda Cys C ölçümünü hastanemizde rutin uygulamaya kazandırmayı amaçladık.

Ayrıca arteriyel hipertansiyona bağlı glomerüler hasara sekonder olarak; peritubuler kapiller hasar gelişimi sonucu oluşabilecek tubuler fonksiyon bozukluğunun erken bir göstergesi olarak da üriner NAG düzeylerini ölçmeyi hedefledik

Ek olarak; glomerüler filtrasyonla böbreklerden temizlenen ve serum düzeyi ölçümünün GFR'yi değerlendirmek açısından yararlı olduğu öne sürülen bir düşük molekül ağırlıklı protein olan Beta 2 Mikroglobulin (BMG) düzeylerinin; hem Cys C, hem de NAG ile ilişkilerini değerlendirmek istedik

Bütün toplumlarda son derece yaygın bir hastalık olan esansiyel hipertansiyonda; hastalığın en az kendisi kadar, hedef organ tutulumları da mortalite ve morbiditeyi etkilemektedir. Hipertansiyonun olumsuz etkilerinden en çok etkilenmeye aday organlardan biri olan böbreklerdeki kaçınılmaz

hasarlanmanın, mümkün olabilecek en erken dönemde saptanması; hem mortalite, hem de morbiditeyi önemli ölçüde etkileyecektir. Güvenilirliği, ölçüm kolaylığı, analitik sensitivite ve spesifitesi açısından Cys C; bu konuda çığır açmaya aday bir belirteçtir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hipertansiyon Tanımı ve Sınıflaması

Arteriyel kan basıncının normal sayılan sınırların üstüne çıkmasına hipertansiyon denir. Anormal sayılması gereken kan basıncı düzeyi konusunda ise tartışmalar sürmektedir. Hipertansiyon; inme, koroner kalp hastalığı gibi major komplikasyon risklerinde artışı beraberinde getiren kan basıncı yüksekliği olarak da açıklanabilir.

Arteriyel hipertansiyon; "büyük arterlerde ölçülen kan basıncının sürekli olarak normal kabul edilen değerlerin üstünde olması" şeklinde tanımlansa da; aslında hipertansiyon tanımının yapılması, biraz keyfi bir durumdur. Çünkü kan basıncı, toplumda bimodal olarak dağılmadığı için, normotansif ve hipertansif gruplar arasındaki fark belirsizdir. Bunun yerine toplumdaki kan basıncı ölçümlerinin dağılımı unimodal olup, hipertansiyon tanısı konabilmesi için, eşik olarak kararlama bir kan basıncı düzeyinin belirlenmesi gerekmektedir (7).

Normal kan basıncı değerlerinin saptanması için uzun süreli kitlesel araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Her yaş için geçerli olmak üzere sistolik kan basıncı 140 mmHg'nın altında, diyastolik kan basıncı da 90 mmHg'nın altında olmalıdır. Ancak normal sınırlar içinde olsa bile, kaydedilen bütün kan basıncı düzeyleri için, kan basıncı artmasının mortalite üzerinde olumsuz etkileri olmaktadır (7). Yüksek kan basıncının tanı ve tedavisinin amacı, kardiyovasküler hastalığı ve bununla ilgili mortalite ve morbiditeyi azaltmaktır. Bu açıdan; erişkinlerde hipertansiyonun sınıflanması, yüksek riskli hastaların belirlenmesinde ve hipertansiyonun izlem ve tedavi ilkelerinin ortaya konmasında yararlıdır.

Yüksek Kan Basıncı Önleme, Saptama, Değerlendirme ve Tedavisi Birleşik Ulusal Komitesi, erişkin hastalarda yüksek kan basıncı tanı ve sınıflandırma kriterlerini saptamıştır (7). Komitenin 1997 yılında yayınlanan VI. Raporunda (The Sixth Report of the Joint National Committee (JNC VI) on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure); kan basıncı yüksekliğinin geleneksel sınıflamasındaki hafif, orta ve ağır hipertansiyon tanımları yetersiz bulunarak, Tablo 2.1.'de gösterilen ve bir önceki rapor olan JNC V raporundaki sınıflamadan çok az farklılık gösteren yeni bir sınıflama

tekniki önerilmiştir. Buna göre; akut hastalığı olmayan bir kişide optimal kan basıncı 120/80 mmHg'nın altıdır. Normal kan basıncı 130/85 mmHg'nın altı olarak belirlenmiştir. Yüksek-normal kan basıncı 130-139/85-89 mmHg arasındadır. Bu hastalar normotansif olarak tanımlanmalarına karşın, hipertansiyon gelişmesini ekarte etmek için, her yıl tekrar kontrol edilmelidirler. Hipertansiyon, kararlaştırılmış bir düzey olan 140 mmHg ve üzerinde sistolik kan basıncı (SKB) veya 90 mmHg ve üzerinde diyastolik kan basıncı (DKB) ile ya da hastanın antihipertansif ilaç almasına dayalı olarak tanımlanmaktadır. Hipertansiyonun evresi (1-3) hem SKB, hem DKB düzeyleri ile belirlenmektedir. Kişinin kan basıncı sınıflamasında SKB ile DKB farklı kategorilere düşerse, yüksek olan kategori seçilmelidir. İzole sistolik hipertansiyon; 90 mmHg'den düşük DKB ile birlikte 160 mmHg veya daha yüksek SKB olarak tanımlanır ve SKB düzeyine göre evrelenir.

**Tablo 2.1.** Erişkinlerin Kan Basıncı Sınıflaması (JNC VI) (8)

Kategori	Sistolik (mmHg)	Diyastolik (mmHg)
* Optimal	<120	<80
* Normal	<130	<85
* Yüksek-Normal	130-139	85-89
* Hipertansiyon		
Evre 1 (hafif)	140-159	90-99
Evre 2 (orta)	160-179	100-109
Evre 3 (ciddi)	≥180	≥110-119

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) ve Uluslararası Hipertansiyon Cemiyeti'nin 1999 yılı raporunda, Ortak Birleşik Komite'nin raporunda önerilen sınıflama sistemine uyulmakla birlikte, Evre 1 hipertansiyonun alt grubu olarak sınır (borderline) hipertansiyon grubu oluşturulmuştur.

Yine JNC VI, hipertansif hastayı tanımlarken, hastanın evresinin yanısıra sahip olduğu diğer kardiyovasküler risk faktörlerinin (sigara kullanımı, hiperlipidemi, diyabet gibi) ve varsa hedef organ hasarlarının da belirtilmesini önermiştir (8). Hipertansiyonlu hastalarda kardiyovasküler risk derecelendirmesi komponentleri, Tablo 2.2.'de özetlenmiştir.

**Tablo 2.2.** Hipertansiyonlu Hastalarda Kardiyovasküler Risk Derecelendirmesi Komponentleri (7)

<b>Major Kardiyovasküler Hastalık Risk Faktörleri</b> Sigara Hiperlipidemi Diabetes Mellitus Cinsiyet (erkekler veya postmenapozal kadınlar) Ailede erken kardiyovasküler hastalık hikayesi (55 yaştan küçük erkekler; 65 yaştan küçük kadınlar)
<b>Hedef Organ Hasarı/Klinik Kardiyovasküler Hastalık</b> Sol ventrikül hipertrofisi Angina veya geçirilmiş myokard infarktüsü Geçirilmiş koroner revaskülarizasyon işlemi Kalp yetmezliği (sistolik veya diyastolik disfonksiyon) İnme veya geçici iskemik atak hikayesi Böbrek hastalığı (hipertansif nefroskleroz veya primer böbrek hastalığı) Periferik arteriyel damar hastalığı Retinopati

Hipertansif hastaların risk faktörleri, hedef organ hasarı(HOH) ve klinik kardiyovasküler hastalık (KKH) varlığına dayalı olarak; risk gruplarının ampirik şekilde sınıflandırılmasına ve tedavi kararlarının verilmesine rehberlik etmektedir. A risk grubundaki hastalarda başka hiçbir risk faktörü, HOH ve KKH yokken; B risk grubundakilerde diabet hariç en az bir risk faktörü vardır; ancak hiçbir HOH/KKH bulgusu bulunmaz. C risk grubu, HOH veya KKH bulunan veya diabetli tüm hipertansif hastaları içerir (Tablo 2.3 ) (7,8)

**Tablo 2.3.** Risk Faktör Derecelendirmesi ve Tedavi İlkeleri (7)

	A risk grubu (Hiçbir risk faktörü, HOH/KKH yok)	B risk grubu (Diabet hariç, en az bir risk faktörü var, HOH/KKH yok)	C risk grubu (HOH/KKH ve/veya diabet var, diğer risk faktörleri ile birlikte veya değil)
Kan basıncı evresi (mmHg)			
Yüksek normal (130-139/85-89)	Yaşam tarzı değişikliği	Yaşam tarzı değişikliği	İlaç tedavisi
Evre 1 (140-159/ 90-99)	Yaşam tarzı değişikliği (12 aya kadar)	Yaşam tarzı değişikliği (6 aya kadar)	İlaç tedavisi
Evre 2 ve 3 (>160/100)	İlaç tedavisi	İlaç tedavisi	İlaç tedavisi
Hipertansif krizler			İlaç tedavisi

Şiddetine göre sınıflandırılmasının yanında; hipertansiyon, nedenine göre de sınıflandırılabilir. Buna göre esansiyel hipertansiyon, tüm hipertansiyonluların yaklaşık %95'lik kısmını oluşturmaktadır. Hipertansiyonun etyolojik sınıflaması, Tablo 2.4'de gösterilmektedir.

**Tablo 2.4.** Hipertansiyonun Tipleri ve Nedenleri (9)

<b>*Sistolik ve diyastolik hipertansiyon</b>	-Tiramin ve monoamin oksidaz inhibitörleri içeren besinler
1-Primer,esansiyel ya da idiyopatik	-Aort koarktasyonu ve aortitis
2-Saptanabilen nedenler	-Gebeliğe bağlı
-Renal	-Nörolojik hastalıklar
Böbrek parenkim hastalığı	Kafa içi basınç artışı
Akut glomerülonefrit	Uyku apnesi
Kronik nefrit	Kuadripleji
Polikistik böbrek hastalığı	Akut porfiri
Diyabetik nefropati	Ailesel disotonomi
Hidronefroz	Kurşun zehirlenmesi
Renovasküler hastalık	Guillain-Barre sendromu
Renal arter darlığı	-Akut stres (cerrahi girişimler de dahil)
Intrarenal vaskülit	Psikojenik hiperventilasyon
Renin üreten tümörler	Hipoglisemi
Renopriv hipertansiyon	Yanıklar
Primer sodyum retansiyonu	Alkol yoksunluğu
(Liddle sendromu; Gordon sendromu)	Orak hücre krizi
-Endokrin	Resüsitasyon sonrası (perioperatuar)
Akromegali	-Damar içi hacim artışı
Hipotiroidi	Alkol
Hipertiroidi	Nikotin
Hiperkalsemi (hiperparatiroidi)	Siklosporin, takrolimus
Sürrenal hastalıkları	Diğer maddeler
Sürrenal korteks hastalıkları	<b>*Sistolik Hipertansiyon</b>
Cushing sendromu	-Kalp debisi artması
Primer hiperaldosteronizm	Aort yetersizliği
Doğumsal sürrenal hiperplazisi	Arteriovenöz fistül, patent duktus arteriosus
Medulla tümörleri	Tirotoksikoz
(feokromasitoma)	Paget'nin kemik hastalığı
Sürrenaldışı kromaffin tümörleri	Berberi
11-β-hidroksisteroid dehidrogenaz yetersizliği ya da inhibisyonu	-Aort katılığı
Karsinoid	
Eksojen hormonlar	
Östrojen	
Glukokortikoidler	
Mineralokortikoidler	
Sempatomimetikler	
Eritropoetin	



## 2.2. Hipertansiyon Prevalansı

Kan basıncının doğal değişkenliği ve prevalans araştırmalarında kullanılan kan basıncı ölçüm yöntemlerinin farklılığı nedeniyle, farklı popülasyonlardan karşılaştırılabilir prevalans rakamları sağlamak güçtür.

National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) rakamları, Amerika'da hipertansiyon prevalansının %20 civarında olduğunu göstermektedir. Yaşlı popülasyonlarda prevalans, yaşla birlikte artmaktadır (8).

Siyahlarda prevalansın daha fazla olduğu dikkat çekmektedir. Benzer yaş ve cinsiyette olan beyazlara göre, siyahlarda prevalansın yaklaşık iki misli olduğu söylenebilir. Endüstrileşmiş ülkelerde prevalansın Amerika rakamlarına benzer olduğu, buna karşın az gelişmiş ülkelerde rakamların daha düşük olduğu kabul edilir.

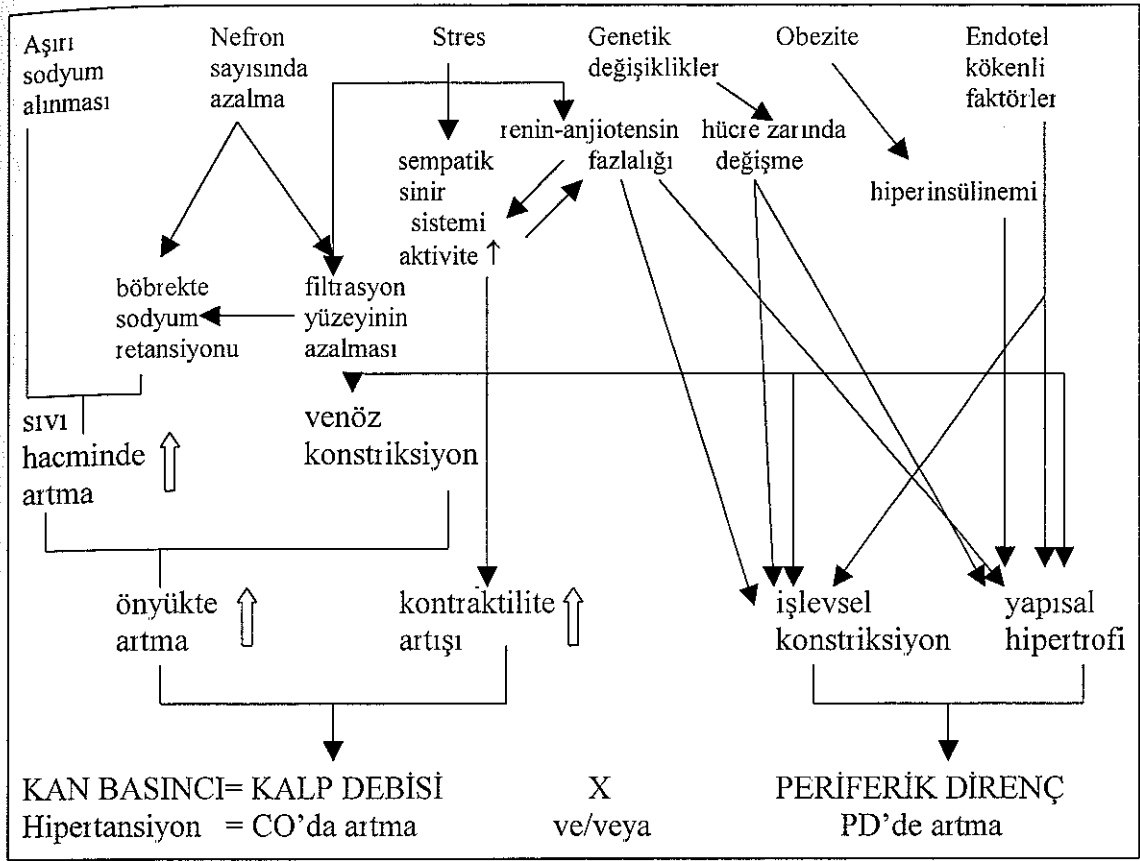
1993 yılı tarama verilerine göre ülkemizdeki kadınların %20'sinde, erkeklerin ise %17'sinde sistol kan basıncı değerlerinin 145 mmHg ve üzerinde olduğu saptanmıştır. Diyastol kan basıncı değerleri ise kadınların %32'sinde, erkeklerin de %33'ünde 85 mmHg ve üzerinde ölçülmüştür (8).

Hipertansiyon sıklığı, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaşa bağlı olarak artış göstermektedir. 25-35 yaş grubunda %10 dolayında olan hipertansiyon sıklığı; 56-65 yaş grubunda %60 gibi çok yüksek değerlere varabilmektedir. Karadeniz, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde hipertansiyon sıklığı, Marmara ve Ege bölgelerine göre daha fazladır. Yine bu bölgelerde diyetle doymuş yağ asidi tüketimi de daha fazla bulunmuştur (8).

## 2.3. Primer Hipertansiyon Patogenezi

Primer hipertansiyon patogenezi, günümüzde hala çok bilinmeyenli bir denklem olma özelliğini sürdürmektedir. Yıllardır bu hastalığın altında tek bir anormallik saptayıp işin içinden çıkma girişimlerinin, genel anlamda başarısız olduğu söylenebilir (8).

Kan basıncının, pek çok sistemin koordine çalışmasıyla kontrol edildiği göz önüne alınarak; patogenezi de birbirlerini etkileyebilen çok sayıda faktörün rol oynadığı görüşü, son zamanlarda kabul görmeye başlamıştır. Kan basıncı kontrolünü sağlayan sistemler, Şekil 2.1.'de özetlenmiştir.



**Şekil 2.1.** Kan Basıncı Kontrolünde Rol Oynayan ve “Kan Basıncı=Kalp Debisi x Periferik Direnç” Şeklindeki Temel Denklemi Etkileyen Bazı Etmenler; *CO* Kardiyak Output, *PD* Periferik Direnç (9)

### 2.3.1. Genetik Faktörler

İnsanlarda kan basıncını kontrol eden mekanizmaların karmaşıklığı ve insanlarda genetik çalışmaların içerdiği güçlükler nedeniyle esansiyel hipertansiyonun genetiği iyi anlaşılamamıştır.

### Kan Basıncının Kalıtımı

Kalıtım, genetik olarak belirlenen kan basıncının varyansının oranı olarak tanımlanır (8). Çoğu hipertansif hastanın aile hikayesinde, anne-babada hipertansiyon vardır. Kan basıncının genetik bileşeni, aile çalışmaları yapılarak incelenir. Aile çalışmalarında da en değerli veriler, tek yumurta ikizleri ve evlat edinilmiş çocuklardan edinilmektedir. Evlat edinilmiş çocuklar, çevresel etkileri çalışmak için; tek yumurta ikizleri ise, genetik etkiyi çalışmak için uygun

denekleri oluşturmaktadırlar. Ancak her iki model de kusursuz değildir çünkü evlat edinilmiş bireylerde genetik, tek yumurta ikizlerinde de çevresel etkiler tümüyle dışlanamaz. Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler ışığında, kan basıncı değişkenliğinin %30-60 oranında genetik belirlendiği söylenebilir (10). Başka bir deyişle, hipertansiyon gelişimine genetik katkı %30 ila 60 arasında değişmektedir.

Kan basıncı dağılımındaki bu genetik etki, gözlemlenerek anlaşılabilmeyle birlikte, altta yatan genetik mekanizmaların kesin olarak aydınlatılabilmesi oldukça zordur. Herşeyden önce kan basıncını belirleyen çok sayıda gen vardır. Bu nedenle de tek bir genetik bozukluktan ziyade, çoklu gen bozuklukları söz konusudur. Üstelik; kan basıncını belirleyen genlerin ürünlerinin bir çoğu da dolaylı etki göstermekte, yani başka genlerin ürünlerinin etkisini kolaylaştırmakta veya zorlaştırmaktadır (8,9). Tüm bu nedenler, hipertansiyon genetiğiyle ilgili araştırmaları güçleştirse de; moleküler biyolojide geliştirilen yeni ve güçlü yöntemler sayesinde, hipertansiyon gelişimine yol açan moleküler bozukluklar anlaşılmaya başlamıştır.

### **Esansiyel Hipertansiyonda Olası Genetik Defektler**

Anjiotensinojen Geni: Hipertansif bireylerde ve hipertansif ebeveynlerin çocuklarında plazma anjiotensinojen düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir (8). Anjiotensinojen gen polimorfizmi, genin iki yanında da tanımlanmıştır. Hipertansif hastalarda tanımlanan polimorfizmin bir tanesi 174'üncü kodonda, diğeri 235'inci kodondadır (11). Renin-Anjiotensin-Aldosteron sistemindeki diğer genetik bozuklukların, hipertansiyon gelişimi ile kesin ilgisi gösterilememiştir.

Adducin Geni: Böbreklerdeki genetik defekti araştıran çalışmalarda, hipertansiyon gelişimi konusunda olası bir aday; "adducin" adı verilen ve hücre iskeletini oluşturan bir proteini kodlayan gendir. Adducin geni ile hipertansiyon arasında bir ilişki olabileceği öne sürülse de; hipertansiyon gelişiminin mekanizması bilinmemektedir. Öne sürülen bir mekanizma, aktin polimerizasyonunda değişme sonucu, hücre içerisine daha fazla sodyum alınması olabilir. Çünkü alfa-adducin geninde çeşitli mutasyonlar içeren hipertansif bireyler, tuz kısıtlamasına daha iyi yanıt vermektedir (12).

İnsanlarda hipertansiyon ile ilişkisi olabilecek diğer olası genler ve hipertansiyon gelişimiyle ilgili genetik değişiklikler, Tablo 2 5 'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.5.** İnsanlarda Hipertansiyon Gelişimine Yol Açan Genetik Mekanizmalar (9)

GENETİK MUTASYON	MEKANİZMA
Glukokortikoid Reseptörleri	Artan Glukokortikoidler
Anjiotensinojen Gen Polimorfizmi	Artan Anjiotensinojen
SA Geni	Bilinmiyor
Lipoprotein Lipaz	İnsülin Rezistansı
Kalıtsal Hiperaldosteronizm	Artan Mineralokortikoid Etki
Konjenital Adrenal Hiperplazi	Artan Mineralokortikoid Etki
Liddle Sendromu	Hipopotasemi
Gitelman Sendromu	Hipopotasemi
Polikistik Böbrek Hastalığı	Böbrek Kistleri

Kan basıncı, karmaşık ve birçok farklı mekanizmayla düzenlenen bir fizyolojik değişkendir ve bu değişkeni denetleyen her bir mekanizma da farklı birçok gen tarafından denetlenmektedir. Ayrıca; hem genler, hem de gen ürünleri arasında karşılıklı iletişim vardır. Bu nedenle esansiyel hipertansiyon genetiği, tek bir gen ve bunun ürünündeki değişikliklerle değil; belki onlarca gen ve yüzlerce gen ürününde oluşan değişiklikler ve bunların kombinasyonları şeklinde yorumlanmalıdır.

### 2.3.2. Aşırı Sodyum Alımı

Epidemiyolojik verilere göre, tuz tüketmeyen ilkel toplumlarda primer hipertansiyon yoktur; yanı sıra bu topluluklarda, endüstrileşmiş ülkelerde izlendiği gibi, yaşla birlikte kan basıncı yüksekliği de izlenmez. Ancak ilkel toplumların üyeleri, endüstrileşmiş batı toplumları içerisinde yaşayıp, anormal tuz tüketmeye başarlarsa, kan basınçları da yükselir. Yine büyük popülasyonlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda; tuz alımı ile kan basıncı yüksekliği ve hipertansiyon sıklığı arasında ilişki saptanmıştır (9).

Klinik ve deneysel çalışmalarda da; diyetsel sodyum kısıtlamasının hipertansiflerde kan basıncını düşürdüğü, genetik predispoze deney hayvanlarında sodyumdan zengin diyetin kan basıncını yükselttiği; artmış sodyum tüketiminin,

hücre içi kalsiyum artışı, su çekerek ozmolalite artışı, plazma katekolaminleri artışı, insülin direnci kötüleşmesi, Atrial Natriüretik Peptid düzeylerinde paradoksal artış gibi hipertansiyojenik stimuluslara neden olduğu saptanmıştır (8,9).

Tuz yüklenmesine, farklı kan basıncı yükselme cevaplarının verilmesi, bazı kişilerin diğerlerine göre tuza daha duyarlı olabileceği gerçeğini ortaya çıkarmıştır. Tuz duyarlılığı gelişiminde farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Sodyum duyarlılığı, ileri yaşta ve kadınlarda daha fazladır; kalıtsal olduğu düşünülmekle birlikte sorumlu bir tek gen anormallığı de gösterilmiş değildir (8).

Normalde kan basıncı yükseldiğinde renal sodyum ve su atılımı artar ve intravasküler volüm, normale getirilmeye çalışılır. Primer hipertansif hastalarda; bu sistemde anormallik olduğu da düşünülmektedir (9).

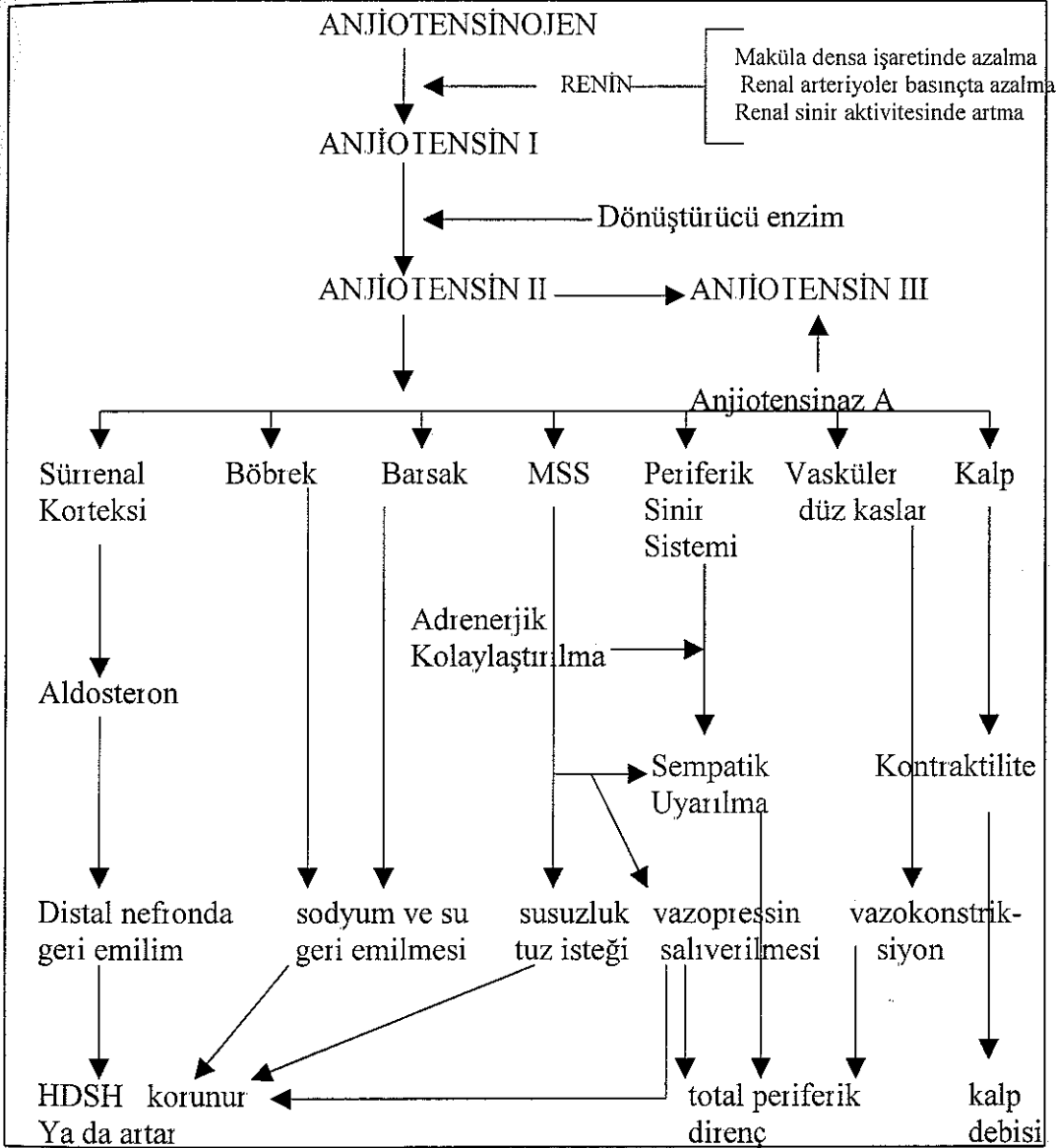
### 2.3.3. Renin-Anjiotensin Sistemi

Renin-Anjiotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS) temelde böbrek ve adrenal korteks tarafından sentezlenen hormonların aktif rol oynadığı; sodyum dengesi, ekstraselüler sıvı hacmi, potasyum dengesi ve arteryel kan basıncının düzenlenmesinde önemli fonksiyona sahip bir sistemdir. RAAS'nin işleyişi ve Anjiotensin II (AT II)'nin ana etkileri; Şekil 2.2.'de özetlenmiştir.

Renin; renal perfüzyon basıncındaki azalmaya, Na azalmasına ve sempatik sinir aktivitesinin artmasına yanıt olarak böbreğin jukstaglomerüler aparatı tarafından sentezlenen bir enzimdir. Renin, substratı olan anjiotensinojen üzerine etki ederek, bir dekapeptid olan anjiotensin I (AT I) oluşumunu sağlar; AT I, Anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından AT II'ye dönüştürülür. AT II, sistemin efektör komponentidir ve kan damarları (kontraksiyon), kalp (hipertrofi), böbrek (glomerüloskleroz) ve adrenal korteks (aldosteron salınımı) üzerinde önemli etkilere sahiptir. Sağlıklı kişilerde aldosteron, böbreklerden sodyum tutulmasını ve potasyum atılmasını sağlayarak dengeyi düzenler (8).

RAAS'ın esansiyel hipertansiyon patogenezindeki kesin rolü bilinmemektedir. Primer hipertansiyonu olan birçok hastada bu mekanizma, anormal şekilde etkinleşmiş olabilir (9). Bu konuya yönelik 3 mekanizma öne sürülmüştür:

1. Nefron heterojenliği sonucu iskemik nefronların renin salınımını artırması
2. Artmış sempatik uyarı.
3. Böbrekler ve sürrenalde RAAS'ın geri beslemeyle düzenlenmesinde bozukluk olması.



**Şekil 2.2.** Renin-anjiotensin sisteminin şematik görünümü: renin salıverilmesinin ana düzenleyicileri, AT II'ye dek giden biyokimyasal olaylar dizisi ve AT II'nin ana etkileri gösterilmektedir. MSS, merkezi sinir sistemi; HDSH, hücre dışı sıvı hacmi (9)

Esansiyel hipertansiyonda plazma renin düzeyleri, düşük olması beklense de oldukça değişkendir (%30 düşük, %50 normal, %20 yüksek). Renini düşük olan hipertansiflerin, genellikle volüme bağlı hipertansiyonu olduğu (renin düzeylerinin bu yüzden baskılandığı); renini yüksek olan hipertansiflerde ise yüksek renin düzeyinin, sempatik sinir sistemi aktivitesindeki artışı yansıttığı düşünülür (13).

RAAS ile ilgili olarak son zamanlarda ilgi çeken diğer bir konu; reninin böbrekler dışında başka dokular tarafından da (adrenal, kalp, damar duvarı ve beyin) sentezlenebildiğinin saptanmasıdır. Doku RAAS'ın; adrenal korteksten mineralokortikoid salınımı, sol ventrikül hipertrofisi, rezistans damar hipertrofisi ve kan basıncının merkezi kontrolü ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (13).

#### 2.3.4. Stres ve Aşırı Sempatik Etkinlik

RAAS'ın aktive olması, sempatik sinir sistemiyle etkileşerek, bu sistemin etkilerinin ortaya çıkmasına yol açabilir. Diğer yandan, stres de sempatik sinir sistemini doğrudan uyarabilir ve sempatik sinir sistemi etkinliğinde aşırı artma; diğer olası mekanizmalardan aşırı sodyum alımı, RAAS ve insülin direnciyle etkileşebilir (9).

Akut mental stres, kan basıncında akut bir yükselme ile ilişkilidir. Batı toplumlarında esansiyel hipertansiyon prevalansının yüksek olması ve yaşla prevalansın artması, diyetel değişiklikler yanında; psikososyal strese bağlanmıştır (14)

Aralıklarla yaşanan streslerin uzun süreli hipertansiyon haline dönmesinde rol oynayan mekanizmalardan biri, adrenal salınımıdır. Surreal medulladan aralıklarla salgılanan adrenal, nöronlardan hem adrenal, hem noradrenalin salıverilmesinde kalıcı bir artışa neden olabilir. Bu da nörojenik vazokonstriksiyona ve kan basıncında kalıcı bir yükselmeye neden olabilir (12)

Baroreseptör işlev bozukluğunun da hipertansiyonda rol oynuyor olabileceği öne sürülmüştür. Baroreseptörler, kan basıncında ya da santral venöz basınçta bir yükselme olduğunda aktif hale gelerek sırasıyla vagal uyarıyla ve sempatik inhibisyonla kalp hızını yavaşlatır ve kan basıncını düşürür. Hipertansif

hastalarda baroreseptör duyarlılığının azalması; olasılıkla kan basıncı değişkenliğindeki artmanın temel belirleyicisidir (12).

İnsanlar yalnızca daha fazla stres altında olduklarında değil, strese değişik şekilde yanıt verdikleri için de hipertansif olabilirler.

Hipertansiyon gelişmesinde mental stresin rolü, belirsizliğini korumaktadır. Stresin etkileri, en az 3 etkenin etkileşimine bağlıdır:

1. Stres faktörlerinin özellikleri
2. Stresin, kişi tarafından nasıl algılandığı
3. Kişinin fizyolojik yatkınlığı (9)

Hipertansiyon patogeneğinde oynadığı özgül rol ne olursa olsun, sempatik sinir sistemi aktivitesinin özellikle sabahın erken saatlerinde artması, hipertansif hastalarda kardiyovasküler mortalite ve morbiditeyi arttırmaktadır. Sempatik sinir sistemi aktivitesindeki artma sonucunda kan basıncı birdenbire ve belirgin biçimde yükselir. Bu yükselme, sabahın erken saatlerinde ani ölüm, kalp krizi ve inmelerdeki artmadan kısmen de olsa sorumludur (9).

### 2.3.5. Membran Transport Anormalliklerinin Yeri

İyonların geçişini sağlayan transmembran proteinleri; kanallar ya da taşıyıcılar şeklinde bulunurlar. Kanallardan geçiş, elektrokimyasal gradyentle olur ve bu geçiş sırasında geçiş yapan maddelerle kanal proteinleri arasında sıkı bir etkileşim olmaz; sadece geçen molekülün büyüklüğü ve yükü önemlidir. Transport proteinleri ise taşınan moleküllerle spesifik kompleksler oluştururlar. Antiporter (countertransport) taşıyıcı sistemler, membranın iki yanında iki farklı molekülü farklı yönlerde taşıyan sistemlerdir. Cotransport (symport) sistemler ise farklı molekülleri aynı yönde taşıyan sistemlerdir (8).

Hipertansiyon patogeneğinde adı geçen sistemler; membrandan sodyum iyonunun geçişini düzenleyen sistemlerdir. Sodyum transportu; aktif ya da pasif transport ile olur. Sodyum pompası olarak da tanımlanan  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPaz}$  aktif transport sistemi; sodyumun hücre içine, potasyumun hücre dışına transferi eğilimine karşı çalışır ve hücre içinde potasyumun yüksek, sodyumun düşük tutulmasını sağlar (8).



Hipertansiflerde hücre içi Na düzeyi, normotansiflerden daha yüksek bulunmuştur. Ancak eritrosit sodyum konsantrasyonu, bazı çevresel ve ırksal faktörlerden de etkilenebilmektedir (9).

Hücre içindeki  $H^+$  ile hücre dışındaki  $Na^+$ 'yı değiştiren  $Na^+-H^+$  pompası; pH'nın, hacmin ve büyümenin düzenlenmesi gibi hücre işlevlerinde rol alır  $Na^+-H^+$  pompası'nın; hem damar tonusunu ve hücre büyümesini uyararak, hem de olasılıkla böbrek proksimal tubulus hücrelerinde sodyum geri emilimini artırarak, hipertansiyon patogeneğinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (15).

Lityum-sodyum countertransport sistemi; pasif bir transport sistemidir ve genetik kontrol altındadır. İlk kez 1980'li yıllarda bu sistemin aktivitesinin hipertansiyonlularda arttığı gösterilmiştir (8).  $Li^+-Na^+$  sistemindeki bu anormalliğin neden hipertansiyon oluşturduğu kesin olarak bilinmemekle birlikte; bu sistem anormalliklerinde insülin direnci, diabetes ve dislipidemi gibi çeşitli metabolik anormalliklerin prevalansı yüksektir (9).

Hipertansiflerin eritrosit membranlarında kolesterol:fosfolipid oranının da yükselmiş olduğu ve yağ asidi metabolitlerinin öncüllere oranının yükselmiş olduğu bulunmuştur (9). Lipidlerdeki bu değişiklikler, membran viskozitesini artırıp sıvılığı azaltabilir ve sonuçta bunlar; Na geçirgenliğinde artma ve Na transportundaki diğer değişikliklerden sorumlu olabilir.

### 2.3.6. İnsülin Rezistansı ve Hiperinsülinemi

Metabolik ve kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde insülin rezistansı önemli rol oynamaktadır. İnsülin rezistansı; hücresel bir defekt sonucu oluşur ve kompansatuvar hiperinsülinemiyle birlikte hipertansiyon, ateroskleroz, dislipidemi, NIDDM (insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus) ve obeziteye neden olur (8)

İnsülin rezistansı, hiperinsülinemi ve hipertansiyon arasındaki ilişkiyi gösteren pek çok klinik çalışma yapılmıştır ve bunların sonucunda insülin rezistansının, sistolik ve diyastolik kan basıncı yükselmesinden sorumlu olabileceği sonucuna varılmıştır. Hipertansiyon ve insülin rezistansı/ hiperinsülinemi arasındaki ilişki, çeşitli şekillerde açıklanmaya çalışılmış ve

hiperinsülineminin hipertansiyon geliştirme mekanizmaları için şu hipotezler öne sürülmüştür:

- Böbrekten sodyum ve su geri emiliminde artma
- Diyetle tuz alımına kan basıncı duyarlılığında artma
- AT II'ye karşı pressör ve aldosteron yanıtlarında güçlenme
- Transmembran elektrolit taşınmasında değişiklikler
  - Hücre içi sodyumunda artma
  - $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesinde azalma
  - $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$  pompası aktivitesinde artma
- Hücre içi  $\text{Ca}^{2+}$  birikiminde artma
- Başta damar düz kasları olmak üzere büyüme faktörlerinin uyarılması
- Sempatik sinir etkinliğinin uyarılması
- Vazodilatatör prostoglandinlerin üretiminde azalma
- Vazodilatasyonun bozulması
- Endotelin salgısında artma (9)

### 2.3.7. Endotel İşlev Bozukluğu

Damar endotelinin primer görevi, trombositler ve diğer kan hücrelerinin adezyonunu ve kümeleşmesini inhibe etmek, ve akışı sürdürürebilmek için kan damarlarını dilate durumda tutmaktır. Endotelden salınan en güçlü maddelerden birisi Nitrik Oksit (NO)'dir. Endotel kökenli vazodilatatör faktör (EDRF) olarak da tanımlanan NO'nun inhibisyonunun, hipotetik olarak hipertansiyon yaratabileceği düşünülmüştür. Primer hipertansiflerde endotel kökenli vazodilatasyonun bozulması ve deneysel modellerde NO inhibisyonunun hipertansiyona neden olduğunun gösterilmesi de bu hipotezi güçlendirmiştir (8,9).

Endotel kaynaklı bir kasılma faktörü olan Endotelin'in hipertansiyondaki rolü kesin olarak bilinmemekle birlikte, hipertansiflerde plazma düzeylerinin yüksek olduğu, bazı hipertansif hastalarda da Endotelin I geninin endotelial ekspresyonunun artmış olduğu saptanmış ve Endotelin'in vasküler hipertrofiye rolü olabileceği düşünülmüştür (8,9).

### 2.3.8. Obezite

Epidemiyolojik çalışmalarda vücut ağırlığı ile kan basıncı arasında tutarlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (14). Endüstriyel ülke toplumlarında obezite hızla yaygınlaşmakta ve bunun sonucunda hipertansiyon insidansı da yükselmektedir.

Framingham çalışmasında vücut ağırlığındaki değişikliğin, kan basıncındaki değişikliğı gösterdiği; ağırlıktaki bir artışın (ideal ağırlığın %20 üzerinde) hipertansiyon riskini 8 kat arttırdığı saptanmıştır (14). Ancak bunun tersi de söz konusudur. Yani hipertansif bir bireyin zaman içinde kilo alma olasılığı; normotansiflere göre daha yüksektir. Bunun olası bir açıklaması, vücut ağırlığının artmasına ve hipertansiyona neden olan metabolik bozukluklar arasında genetik ilişki olmasıdır. Bu durum; diyabet ve hipertansiyonda gözlenmektedir. Ayrıca epidemiyolojik olarak; yüksek kan basıncı, obezite, serum trigliserid ve LDL (düşük dansiteli lipoprotein) kolesterol düzeylerinin artması ve HDL (yüksek dansiteli lipoprotein) kolesterol düzeylerinin azalması arasında da ilişki vardır (14)

Araştırmaların çoğunda; hipertansiyonun, gövdenin üst bölümünde obezite bulunanlarda (android ya da viseral obezite) daha sık görüldüğü ve kardiyovasküler risk faktörlerinin de bu kişilerde daha fazla olduğu saptanmıştır (9). Bu durum; aradaki ilişkinin en azından bir kısmının, vücut özelliklerinin belirlenmesinde rolü olan cinsiyet hormonlarına ait olduğunu düşündürmektedir (14)

Obez hipertansifler, strese karşı daha fazla kan basıncı artışı ile cevap verirler. Obeziteyle ilişkili hipertansiyonun bir açıklaması da, bu kişilerde sempatik sinir sisteminin aşırı aktif olmasıdır (14). Obez kişilerde, hipertansif olsunlar ya da olmasınlar, daha yüksek oranda sempatik sinir aktivitesi saptanmıştır (9).

Hemen hemen bütün obezlerde insülin direnci vardır ve vücudun üst bölümünde obezite bulunanlarda insülin direnci daha güçlüdür. Daha yüksek insülin düzeyleri, daha fazla hipertansiyonla ilişkilidir (9)

Obez kişilerde dislipideminin ve dolaşımdaki serbest yağ asitlerinin de çeşitli mekanizmalarla hipertansiyona katkıda bulunduğu bildirilmiştir (9).

### 2.3.9. Düşük Doğum Ağırlığı

Hipertansiyon patogeneziyle ilgili olarak son on yılda sık konuşulan konu başlıklarından birisi de düşük doğum ağırlığı-hipertansiyon ilişkisidir. İlk kez 1988 yılında, düşük doğum ağırlığına sahip çocukların, erişkin yaşamlarında daha sık hipertansif oldukları rapor edilmiştir. Yine bu çocukların, ilerideki yaşamlarında diabetes mellitus, hiperlipidemi ve viseral obeziteye sahip olma riskinin de; normal doğum ağırlığına sahip olanlara göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (8,9).

Düşük doğum ağırlığının; hangi mekanizma ile hipertansiyon yarattığı konusunda kesin görüşler olmamakla birlikte, düşük doğum ağırlığı olanlarda nefron sayısının da az olduğu ve buna bağlı olarak, böbrek yetmezliğindeki mekanizmalara benzer biçimde hipertansiyon gelişebileceği speküle edilmiştir (8).

### 2.4. Hipertansif Nefropati

Etyolojik açıdan multifaktöryel özellik gösteren primer hipertansiyon, özellikle vasküler sistemin genel bir hastalığı olduğu için; bu olaydan öncelikle damardan zengin organlar etkilenmektedir. Hipertansiyonda "hedef organ" olarak tanımlanan bu organlar; beyin, kalp, gözler, periferik damarlar ve böbreklerdir.

Primer hipertansiyon vakalarında, erkenden ortaya çıkan bir patolojik değişiklik yoktur. Ancak daha sonra kaçınılmaz bir şekilde arteriyollerde genel bir skleroz ortaya çıkar ve bu da kendini özellikle böbreklerde hissettirir.

İlk kez 19. yy sonlarında Mahomed adlı araştırmacı, arteriyel hipertansiyonun renal skarlaşmaya neden olabileceğini öne sürmüştür. "Hipertansif Nefroskleroz" terimi ise Volhard ve Fahr tarafından 1914'de ortaya atılmış ve o tarihten itibaren de, hipertansiyonun böbrekte oluşturduğu hasarı tanımlamak üzere, yaygın olarak kullanılmıştır (16)

Nefrosklerozun kelime anlamı, böbreklerin sertleşmesidir (Yunanca nephros=böbrek; sclerosis=sertleşme) Normal renal parenkimin yerini, yoğun kollagen dokunun almasının ya da skarlaşmanın sonucu meydana gelir. Nefroskleroz; preglomerüler mikro damarlarda ve sekonder olarak glomerül ve interstisyumda meydana gelen predominant patolojik değişikliklerle ilgilidir (17).

Primer hipertansiyonun başlıca özelliği olan hipertansif nefrosklerozu;

benign ve malign olarak ikiye ayırmak mümkündür. Benign nefroskleroz, orta ve küçük böbrek arterlerinde fibröz intima kalınlaşması ve lümen daralması yapmaktadır. Renal arteriyollerde ise hyalin ve eozinofilik kalınlaşma (arterioskleroz); permeabilitesi artmış damara C<sub>3b</sub> ve diğer proteinlerin çökmesiyle meydana gelir. Yerleşmiş benign nefrosklerozda, çeşitli büyüklükteki damarlar, arteriosklerotik olurlar. Glomerüllerde tipik olarak hyalinizasyon oluşur. Malign nefrosklerozda ise; hem vasküler, hem glomerüler lezyon beraberdir. Fibrinoid nekroz; bu tür nefroskleroz için en erken bulgudur ve kan basıncı değerlerinde ani bir yükselme sonucu damar endotelinin ruptürü ve fibrin, trombosit ve plazma içeriğinin damar duvarına oturmasıyla meydana gelir (3).

Primer hipertansiyonun erken evrelerinden itibaren insanlarda en yaygın gözlenen renal fonksiyonel değişiklik; renal vazokonstriksiyondur. Buna; hiperürisemi, NAG gibi üriner enzimlerin atılımında ve albumin ve BMG gibi proteinlerin atılımında artış, eşlik eder. Daha sonra eğer kan basıncı yüksekliği devam ederse, proteinüri ile birlikte ya da birlikte olmaksızın; GFR'de progresif bir azalma meydana gelir (18).

Hipertansif renal zedelenmede iki patogenetik modelden söz edilmektedir. Geleneksel görüş; hipertansiyonun, preglomerüler arter ve arteriyollerde progresif luminal daralma ve ardından glomerüler kan akımında azalma yaparak, glomerüler iskemiye neden olduğu yönündedir (18,19). Burada afferent arteriyoller daralmanın, fonksiyonel komponentinin de olduğu düşünülmekte ve bu anormalliğin, hipertansif anne-babanın normotansif çocuklarında da izlenebileceği rapor edilmektedir. Bu fonksiyonel anormalliğin; artmış sempatik aktivite ya da AT II'ye değişmiş cevapla ilgili olabileceği ve genetik olarak belirlenebileceği düşünülmektedir (8). Alternatif bir bakış açısı ise; hipertansif renal hasarın; artmış sistemik basıncın, direkt olarak glomerüle aktarılmasından kaynaklandığı şeklindedir. Bu durum, daha sonra glomerüler hiperperfüzyon ve hipertansiyonu kolaylaştırır (19); mezangiyal makromolekül trafiği hızlanır, proteinüri gelişir ve renal hasar sürüp gider (8).

Mekanizması ne olursa olsun; primer hipertansiyonda, hastalığın hedef organlarından biri olan böbreklerde, yapısal ve fonksiyonel olumsuz değişiklikler olmaktadır. Bu değişiklikler, mortalite ve morbiditeyi de olumsuz etkilediği için;

erken dönemde saptanması ve gerekli tedavi protokollerinin uygulanması, önem arz etmektedir.

## 2.5. GFR ve Ölçüm Yöntemleri

Vücuttaki pek çok vital fonksiyonu gerçekleştiren böbreğin anahtar rollerinden ikisi; atık ürünlerin uzaklaştırılması ve su dengesinin sağlanmasıdır. Bu; glomerüler filtrasyon ve tubuler reabsorpsiyon ya da sekresyon ile olur. Bir maddenin klirensinin ölçümü; böbreklerin, ekstraselüler sıvıda bulunan bir maddenin konsantrasyonunu kontrol edebilme yeteneğini gösteren en güvenilir metod kabul edilir (20).

Bir maddenin klirensi  $UXV/P$  eşitliğiyle ölçülür. (U=Maddenin idrar konsantrasyonu, V=Dakikalık idrar hacmi, P=Maddenin plazma konsantrasyonu) Bu eşitlikte, filtre edilen maddenin reabsorbe veya katabolize edilmediği kabul edilir (20).

GFR, böbrekler tarafından birim zamanda belli bir maddeden tamamen temizlenen plazma volümü olarak tanımlanır.

GFR ölçümü için eksojen maddeleri kullanan metodlar, plazma ve/veya idrarda konsantrasyonu ölçülen bir maddenin, bolus injeksiyonuna ya da sabit infüzyonuna dayanır. İlk eksojen maddelerden biri, inülinidir. Daha sonra bunun yerini; ölçümü daha elverişli olan, izotopik olarak işaretli bileşikler (Iothalamate, Iodothalamate,  $^{51}\text{Cr-EDTA}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$  gibi) ve iohexol almıştır (20).

GFR ölçümünde çeşitli endojen maddeler de; ya klirensi olarak, ya da direkt plazma konsantrasyonu ölçülerek, kullanılmaktadır.

Renal fonksiyonun değerlendirilmesi amacıyla serum ya da plazmada ölçülen ilk endojen madde, kan üre azotudur. Protein metabolizmasının bir ürünü olan bu maddenin %90'ından fazlası, böbrekler yoluyla temizlenir. Üre, glomerüllerden serbestçe süzülür ve tubuluslardan sekrete edilmez. Ancak büyük bir kısmı (%40-70) renal tubullardan pasif olarak reabsorbe olur; bu yüzden renal perfüzyonun azaldığı durumlarda, süzülen ürenin bir kısmı tekrar kan akımına geri döneceği için, GFR'yi doğru olarak yansıtmaz. Ayrıca kandaki üre düzeyi; diyet, hepatik fonksiyon ve bazı hastalık durumlarına bağlı olarak da değişebilmektedir (21).

Son 40 yılda serum ya da plazma kreatinin düzeyi, renal fonksiyonu değerlendirmede en yaygın kullanılan göstergeler olmuştur. S<sub>Cr</sub>; kas dokusunda kreatin ve fosfokreatin'in bir metabolik ürünüdür. Kandaki düzeyi, kas dokusuyla ilişkilidir. Ayrıca yaş ve cinsiyetten de etkilenir. Dolaşımdaki kreatinin, herhangi bir plazma proteinine bağlanmaz ve glomerüllerden serbestçe süzülür. Proksimal tubullerden reabsorbe edilmez ancak az miktarda sekresyona uğrar (21).

GFR'yi yansıması bakımından direkt serum düzeyleri ölçülen endojen maddeler arasında, düşük molekül ağırlıklı proteinler (BMG, Retinol Bağlayıcı Protein, Alfa 1 Mikroglobulin gibi) de sayılabilir. Düşük molekül ağırlıklı proteinler, glomerülden serbestçe süzülür; daha sonra ya reabsorbe ve metabolize edilirler, ya da idrara salınırlar. Sonuçta dolaşımdan temizlenirler ve eğer üretim hızları sabit kalırsa; dolaşımdaki düzeyleri, GFR'yi yansıtır (22)

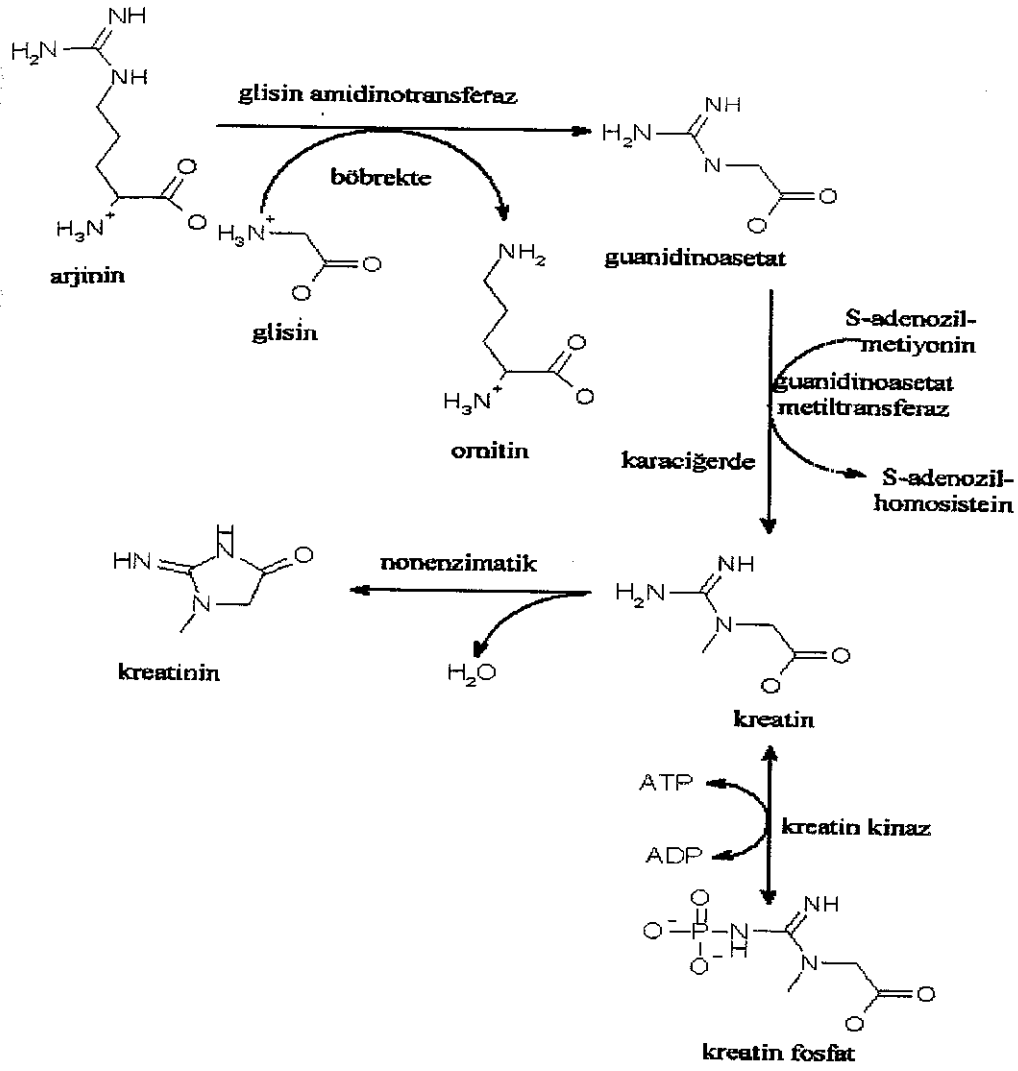
GFR tayininde altın standart kabul edilen yöntemler ise; inülin, iohexol, <sup>51</sup>Cr-EDTA, <sup>99m</sup>Tc-DTPA ve <sup>125</sup>I-Iothalamate gibi eksojen maddelerin klirensini ölçmektir. Ancak bu yöntemler; rutin kullanım için uygun olmayan, oldukça zahmetli, uygulaması zor, pahalı ve zaman kaybettiricidirler (20,21). Bu yüzden klinik uygulamada, daha çok endojen maddelerin ölçümü tercih edilmektedir.

### 2.5.1. S<sub>Cr</sub> ve Kreatinin Klirensi

Rutin uygulamada renal fonksiyonu değerlendirmek amacıyla en çok kullanılan parametre; S<sub>Cr</sub>'dir.

Kreatin, kas metabolizması için oldukça önemli bir moleküldür. Fosfokreatin sentezi sırasında; yüksek enerjili fosfat deposu olarak iş görür. Kreatin; böbrek, karaciğer, ve pankreasta 2 enzimatik reaksiyonla sentezlenir (Şekil 2.3.).

1. Birinci basamakta, guanidoasetat sentezlenir. Kreatin düzeyi arttığı zaman, reaksiyonu katalizleyen enzim, negatif feedback ile inhibe olur.
2. Oluşan guanidoasetat, karaciğere gider ve burada metilasyona uğrar; böylece kreatin oluşur (23).



Şekil 2.3. Kreatin ve Kreatinin Sentezi

(<http://www.med.unibs.it/~marchesi/aminoacidderivatives.html>)

Kreatin, dolaşıma geçer ve kas ve beyin gibi diğer organlara taşınır. Burada yüksek enerjili bir bileşik olan fosfokreatin'e fosforillenir.

Fosfokreatin ve kreatin arasındaki dönüşüm, kas kasılmasındaki metabolik süreçlerden biridir. Kastaki serbest kreatin'in bir kısmı, nonenzimatik dehidrasyonla, spontan olarak kreatinine dönüşür. Yani kreatinin; kreatin'in anhidritidir.

Sağlıklı kişilerde kreatinin turnoveri sabittir ve kreatin'in %1.6-1.7'si her gün kreatinin'e dönüştürülür. Üretilen endojen kreatinin miktarı, kas kitlesiyle orantılı olduğu için; üretim, yaş ve cinsiyetle değişir. Böbreklerle ilgili bir patoloji



yoksa; her bireyde günlük kreatinin atılım miktarı sabittir ve endojen üretime paraleldir (23)

Dolaşımdaki kreatinin, herhangi bir plazma proteinine bağlanmaz ve glomerüllerden serbestçe süzülür. Proksimal tubullerden reabsorbe edilmez ancak az miktarda sekrete edilir. Plazma düzeyleri yükseldiğinde, tubuler sekresyonu da artar; bu da GFR'nin, gerçek değerinden daha yüksek bulunmasına neden olur (21).

SCr; ideal bir endojen GFR göstergesinde aranan özelliklerden sadece birine sahiptir: glomerüllerden serbestçe süzülür. Kreatinin üretim hızının, kas kitlesi ve diyetten etkilenmesi; renal atılıma ek olarak az miktarda da olsa deri ve barsak yoluyla da temizlenmesi; hepsinden önemlisi, özellikle düşük GFR'lerde hem reabsorpsiyon hem de tubuler sekresyona uğraması gibi dezavantajları; SCr'nin GFR değerlendirmesinde kullanımını sınırlamaktadır (25).

Bu problemlerin kısmen de olsa üstesinden gelmek amacıyla, direkt SCr ölçümü yerine; 24 saatlik idrar örneğindeki kreatinin düzeyi de ölçülerek kreatinin klirensi hesaplaması yoluna gidilmiştir

$$\text{Kreatinin Klirensi (ml/dk)} = \frac{\text{İdrar kreatinini (mg/dl)} \times \text{İdrar Volümü (ml)}}{\text{Plazma kreatinini (mg/dl)} \times 1440 \text{ (dk)}}$$

(1440 dk= 24 saat)

Kreatinin klirensinin; eksojen maddeler kullanılarak ölçülen GFR ile korelasyonu, SCr'den daha iyidir (21) Ancak zamanlı idrar örneği toplanması, hem zor ve zahmetli bir iştir, hem de çoğu zaman idrar, düzgün bir şekilde toplanamadığı için; hatalara neden olabilmektedir

Araştırmacılar; SCr konsantrasyonu üzerine etki eden cinsiyet, yaş, ve kas kitlesinden kaynaklanan varyasyonları dikkate alan algoritmalar da geliştirmişler ve bunların, direkt ölçümlerden daha uygun olacağını öne sürmüşlerdir (25). Bunlardan en sık kullanılanı, Cockcroft ve Gault formülüdür. Bu formülde kişinin yaşı, vücut ağırlığı ve SCr değeri kullanılarak GFR'si tahmin edilmeye çalışılır. Kreatinin üretimi, kas kitlesiyle yakın ilişkide olduğu için; erkeklerde SCr

düzeyleri kadınlardan daha yüksektir. Ayrıca kas kitlesi ve GFR, yaş ilerledikçe azalır (23).

Bu faktörler; algoritmada şu şekilde yer alır:

$$\text{Kreatinin klirensi (ml/dk/1.73 m}^2\text{)} = \frac{(140\text{-yaş}) \times 2.12 \times \text{ağırlık (kg)} \times K}{\text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times \text{BSA (m}^2\text{)}} \quad (23)$$

K= Kadınlar için 0.85, erkekler için 1.00; BSA= Vücut yüzey alanı

Ayrıca yakın zamanda; Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) çalışma grubu; 1628 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada, demografik verileri ve bazı serum değişkenlerini kullanarak, GFR'i gösteren yeni bir denklem geliştirmiştir (24). Bu denklemle saptanan GFR, <sup>125</sup>I-iothalamate ile ölçülen GFR ile çok iyi korelasyon göstermiştir ( $r^2=0.90,3$ )

MDRD çalışmasından elde edilen formül; GFR tayininde kullanılmakta olan kreatinin klirensinden ve diğer formüllerden daha güvenlidir. Kreatinin atılımını etkileyen yaş, cinsiyet, ırk gibi faktörlerin MDRD formülünde yer alması; formülün güvenilirliğini artırmaktadır.

ırk faktörünün de değerlendirmeye alınması, özellikle kronik böbrek yetmezliğinin siyahlarda daha sık görüldüğü düşünülürse, avantajlı bir durumdur.

Adı geçen değişkenler, formülde şu şekilde yer almaktadır:

$$\text{GFR} = 170 \times [\text{P}_{\text{cr}}]^{-0.999} \times [\text{yaş}]^{-0.176} \times [0,762; \text{eğer kadınsa}] \times [1,180; \text{eğer siyah ırksa}] \times [\text{BUN}]^{-0.170} \times [\text{Alb}]^{+0.318}$$

$\text{P}_{\text{cr}}$ : Plazma kreatinin düzeyi (mg/dl)

BUN: Serum üre azotu düzeyi (mg/dl)

Alb: Serum albümin düzeyi (g/dl)

## 2.6. Cystatin C

### 2.6.1. Tarihçe

1961'de Clausen, serebrospinal sıvıda bir elektroforetik bant keşfetti ve bunu "γ trace" olarak adlandırdı. Aynı yıl Butler ve Flynn, benzer bir bandı idrarda ayırdettiler (25).

1962'de serebrospinal sıvıda, kanda, idrarda, asit ve plevra sıvılarında γ elektroforetik mobilitesi olan bir protein bulundu. Proteine; aynı proteini belirten γ trace, γ-CSF, post- γ protein, post- γ globulin, γ<sub>c</sub>-globulin ve δ<sub>a</sub>I gibi isimler verildi.

1984'de yeni bir sistein proteinaz inhibitörü, human cystatin, serumda izole edildi ve bunun, human γ-trace ile aynı protein olduğu bulundu. Human cystatin; tavuk yumurta akı ve memeli cystatin A ve B'si ile çok benzer olduğunu yansıtmak amacıyla cystatin C (Cys C) olarak adlandırıldı (26)

İlk kez 1985'de Simonsen ve arkadaşları; bu proteinin serumdaki konsantrasyonunun GFR ile güçlü negatif korelasyon gösterdiğini buldu ve o tarihten itibaren, bir GFR göstergesi olarak Cys C'ye olan ilgi, giderek arttı (25).

### 2.6.2. Yapı ve Metabolizma

Cys C; 120 aminoasit kalıntısından oluşan, bazik, non-glikozile bir polipeptid zincirine sahiptir ve iki disülfid köprüsü içerir. Molekül ağırlığı 13359 kDa'dır ve izoelektrik noktası 9.3'tür (26).

Cys C, 20. kromozomun kısa kolunda lokalize olan CST3 geni tarafından kodlanır (27). Genin yapısı "housekeeping" türündedir yani pek çok nukleuslu hücre tarafından stabil bir hızda üretilir. Cys C'yi kodlayan gendeki bir nokta mutasyonun, amiloid anjiopatinin herediter bir formundan sorumlu olduğu bildirilmiştir (25,26).

Molekül ağırlığının düşük olması ve fizyolojik pH'da pozitif yüklü olması nedeniyle Cys C, renal glomerüllerden serbestçe süzülür; daha sonra proksimal tubul hücreleri tarafından geri emilir ve yıkılır (28).

Normalde üriner Cys C konsantrasyonu oldukça düşüktür ve 0.03-0.3 mg/L olarak bildirilmiştir (26).

Hem immunositokimyasal yöntemler, hem de in situ hibridizasyon kullanılarak; pek çok organda ve hücre tipinde Cys C bulunmuştur. Bu organ ve dokular, Tablo 2.6.'da gösterilmiştir.

**Tablo 2.6.** Cys C'nin Bulunduğu Organ ve Dokular (25)

Doku	Tür
Koroid pleksus epitelyal hücreleri	İnsan
Serebral ve serebellar nöronlar	İnsan
Astrositler	İnsan
Makrofajlar	İnsan
Ön hipofiz	İnsan
Pankreas ada hücreleri	İnsan
Gastrik nöroendokrin hücreler	İnsan
Adrenal medulla kromaffin hücreleri	İnsan
Renal korteks ve medulla	Rat
Tiroid	Rat
Uterus	Rat
Mide	Rat
Akciğer	Rat
Karaciğer	Rat
Kalp	Rat
Over/Testis	Rat
Osteoblastlar	Rat

Cys C ayrıca birçok biyolojik sıvıda da ölçülmüştür ve en yüksek seminal sıvıda, serebrospinal sıvıda ve sinovyal sıvıda bulunmuştur (27). Vücut sıvılarındaki Cys C düzeyleri, Tablo 2.7.'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.7.** İnsan Biyolojik Sıvılarında Cys C Düzeyleri (25)

	Cys C konsantrasyonu (mg/L)
Serebrospinal sıvı	3,2-12,5
Seminal plazma	41-62
Tükürük	0,36-4,8
İdrar	0,03-0,29
Süt	~2,0
Amniyotik sıvı	~1,0
Sinovyal sıvı	~2,0
Serum	0,5-1,2
Gözyaşı	~1,0

### 2.6.3. Fonksiyon

Cys C bir sistein proteinaz inhibitörüdür (26). Sistein proteinazlar; bitkiler, bakteriler, virüsler, protozoalar ve memelilerde bulunan ve bazı patolojik olaylarda önemli rol oynayan proteolitik enzimlerdir. Bakterilerde doku invazyonunda yer alarak organizmanın patojenitesini etkilerler; virüslerde yeni virion partiküllerinin oluşumunda rol alırlar. Memelilerde ise, hücrelerin lizozomlarında bulunurlar (27).

Sistein proteinazların rolü normal hücre metabolizması için çok önemlidir; hücre içi protein döngüsü, kollagenin degradasyonu ve prekürsör proteinlerin bölünmesi gibi fonksiyonlar için gereklidirler. Bütün proteolitik enzimlerin, aktivitelerini düzenleyen spesifik inhibitörleri vardır. Eğer düzenlenmezse; sistein proteinaz aktivitesi irreversibl hasara neden olabilir.

Sistein proteinaz inhibitörleri, enzimlerin en son düzenleyici basamağını temsil ederler. Bu grupta en çok araştırılmış olan üye, Cys C'dir (27).

Cys C'nin fonksiyonu genellikle koruyucu gibi görünmektedir. Ölen hücrelerden açığa çıkan ya da malign hücrelerden sekrete olan hücre içi enzimlerin, bağ dokusunu yıkmasını önler. Ek olarak Cys C'nin; mikrobiyal infeksiyonlara karşı savunmada rolü olduğu ve antiviral fonksiyona da sahip olduğu öne sürülmüştür (26).

### 2.6.4. Stabilite

Cys C; oda sıcaklığında 2-5 gün, 4°C'de 1 hafta ve -25°C'de en az 1 ay stabildir. Serum örneklerinde -80°C'de saklandığı zaman ise en az 6 ay stabil olduğu saptanmıştır. İdrar örneklerinde Cys C genellikle proteolitik enzimler tarafından yıkılır, bu nedenle stabilitesini sağlamak oldukça zordur. Serin proteinaz inhibitörlerinin ve koruyucuların eklenmesi, Cys C stabilitesini artırır. Serum örneklerinde stabilitenin yüksek, idrar örneklerinde ise düşük olması; kanda alfa-2 makroglobulin, alfa-1 antitripsin ve doğal koruyucuların bulunmasına bağlıdır (26,27). EDTA'lı plazma örnekleri ve serum arasında Cys C düzeyleri açısından önemli fark yoktur (27). Cys C'nin ayrıca en az 7 dondurma/çözme siklusuna dayanıklı olduğu gösterilmiştir. Yani genel olarak Cys C oldukça dayanıklı bir yapıya sahiptir (25).

### 2.6.5. Biyolojik Varyasyon

Cys C'nin biyolojik varyasyonu ile ilgili oldukça az bilgi bulunmaktadır. Galteau ve ark.; Cys C'nin biyolojik varyasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada; puberte, oral kontraseptif kullanımı ve menapoz gibi hormonal değişim durumlarının; vücut kitle indeksinin (BMI); alkol ve sigara kullanımının ve genetik faktörlerin; serum Cys C düzeylerini etkilemediğini bulmuşlardır (29). Keevil ve ark. ise, sağlıklı kişilerde bu proteinin çok az bireysel farklılık gösterdiğini, bu nedenle GFR için bir takip parametresi olabileceğini bildirmişlerdir (30). Nilsson-Ehle ve ark. da serum Cys C'nin, normal ve azalmış GFR'yi ayırtma ve bireylerde zaman içinde meydana gelebilecek GFR değişikliklerini gösterme açısından tatmin edici bir parametre olduğunu öne sürmüşlerdir (26)

### 2.6.6. Cys C'yi Etkileyen Faktörler

Cys C üretim hızı inflamatuvar hastalıklarda değişmemektedir (26). Randers ve ark., akut şiddetli enfeksiyöz hastalıkları olan ve CRP'leri yüksek olan erişkinler üzerinde yaptıkları bir çalışmada; günler içinde CRP düzeylerinin düştüğünü ancak serum Cys C düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadığını saptamışlar; bu nedenle Cys C'nin bir akut faz reaktanı olmadığını öne sürmüşlerdir (31). Collè ve ark. ise HIV (Human Immunodeficiency Virus) ile enfeksiyonda serum Cys C düzeylerinin yüksek olduğunu bulmuşlardır ancak araştırmacılar, kesin GFR ölçümü için izotop tekniklerini kullanmaksızın sadece SCr düzeylerini değerlendirmişlerdir (26)

Önceki yayınlarda Cys C'nin malignensiden etkilenmediği bildirilmiştir ancak son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda melanomlu ve kolorektal kanserli hastalarda serum Cys C düzeylerinin yükseldiği tespit edilmiştir; fakat bu çalışmalarda renal fonksiyon sadece SCr ile değerlendirilmiş, Cys C düzeylerini etkileyebilecek böbrek dışı faktörleri elimine etmek amacıyla GFR ölçümü için referans bir yöntem kullanılmamıştır (32).

Literatüre göre klinikte kullanılan ilaçlardan Metilprednizolon Cys C düzeyini yükseltmekte, Siklosporin A ise düşürmektedir. İn vitro bir çalışmada Dekametazon uygulamasının Cys C üretiminde anlamlı ve doza bağlı artışa

neden olduğu bulunmuş ve Cys C üretiminde glukokortikoidlerin önemli rolü olduğu öne sürülmüştür (26) Lipopolisakkaridlerin, interferon  $\gamma$ 'nın, sigara içiminin ve TGF- $\beta$ 'nin etkilerini inceleyen in vitro çalışmalar da mevcuttur (26).

### 2.6.7. Ölçüm Yöntemleri

Cys C'nin ilk kantitatif ölçümü; 1979'da Löfberg ve Grubb tarafından, enzim-amplifiye SRID (single radial immunodiffusion) yöntemi kullanılarak yapıldı. Bu yöntemde primer standart olarak pürifiye protein, antikor olarak da spesifik tavşan anti-serumu kullanıldı, ancak prosedür oldukça zaman kaybettirici idi ve düşük Cys C düzeylerini tespit etmede yetersizdi (21, 25, 27).

Sonraki yıllarda RIA (radioimmunoassay), FIA (fluoroimmunoassay) ve EIA (enzim immunoassay) yöntemleri de geliştirilerek kantitatif Cys C ölçümleri yapıldı; ancak bu metodlar da güvenilir olmalarının yanında rutin analiz için çok yavaşlardı (26)

1993'de Pergande ve Jung; serumda Cys C ölçümü için, bir "sandwich enzyme immunoassay" geliştirdiler (33); fakat bu yöntemde de ölçüm süresi, özellikle acil durumlarda, rutin kullanım için ideal olmaktan uzaktı.

1994'den 1997'ye kadar iki tam otomatize yöntem; PETIA (particle-enhanced turbidimetric immunoassay) ve PENIA (particle-enhanced nephelometric immunoassay) geliştirildi (4,5). Bunlar Cys C'ye spesifik antikorlarla kaplı lateks veya polystrene partikülleri kullanan, hızlı, güvenilir ve günlük rutin uygulama için elverişli, tam otomatize yöntemlerdir.

PETIA yönteminde kalibratörleri hazırlamak için, üreticilerin talimatlarına uygun şekilde, liyofilize rekombinant human Cys C kullanılır. Metodun CV'si (varyasyon katsayısı) %1,3-3,2'dir ve ölçüm aralığı 0,4-14,1 mg/L'dir (26)

PETIA yöntemine dayalı ticari kitler, herhangi bir otomatize spektrofotometreye ya da klinik analizöre applike edilebilecek şekilde formüle edilmiştir. Kyhse-Andersen ve ark.'nın yayınından sonra, literatürde otomatize analizörlerden bazılarında adaptasyon bildirilmiştir (25).

PENIA yönteminde ise; insan orijinli pürifiye Cys C'den oluşan bir Cys C kalibratörü kullanılır. Bu yöntemin CV'si %3-5; ölçüm aralığı ise 0,23-7,25 mg/L'dir (26).

PETIA ve PENIA metodları; hemoglobın, bilirubin, trigliserid, Romatoid Faktör gibi parametrelerle interferansları bakımından da test edilmiş ve her iki yöntemin de ilgili parametrelerle interferans göstermediği bulunmuştur (4,5).

Bu metodlar genel olarak öncekilerden daha güvenlidir ve referans aralıkları da önceki yöntemlerde belirtilenlere kıyasla daha tutarlıdır (21). Türbidimetrik ve nefelometrik metodlar arasındaki korelasyon da oldukça iyidir (20)

PETIA metodundaki referans değerlerinin genel olarak PENIA metodundakinden daha yüksek bulunması; kullanılan kalibratör materyallerinin, üzerinde çalışılan popülasyonun yaş ve sağlık durumlarının farklı olmasına bağlanmıştır. Katılımcıların dikkatle seçildiği, mevcut sağlık durumlarının ve medikasyon hikayelerinin daha fazla dikkate alındığı çalışmalarda; aynı metodlarla oldukça benzer sonuçlar elde edilmiştir (21).

Cys C ölçüm yöntemleri; tarihsel aşamalarıyla ve kullanılan antikor çeşitleriyle birlikte, genel hatlarıyla Tablo 2.8 'de özetlenmiştir.

**Tablo 2.8.** Cys C Ölçüm Yöntemleri (25)

Tarih	Metod	Kullanılan Antikor
1979	Enzim amplifiye SRID	Poliklonal
	EIA	Poliklonal
1983	RIA	Poliklonal
1986	FIA	Poliklonal
1988	EIA	Monoklonal
1989	ELISA	Monoklonal
1990	RIA	Poliklonal
1991	Partikül sayımlı (PACIA)	Poliklonal
1992	ELISA	Poliklonal
1993	ELISA	Poliklonal
	PETIA (DAKO A/S )	Poliklonal
1994	Cobas Mira	
1998	Hitachi 717	
1998	CX-7 Delta, Beckman	
1995	PETIA	Poliklonal
	PINC-ELISA	
1997	ELISA (KRKA)	Poliklonal
	ELISA (Fujirebio)	Poliklonal
1997	PENIA (Dade Behring)	Poliklonal

*EIA*: enzyme immunoassay, *RIA*: radioimmunoassay, *ELISA*: enzyme-labelled immunosorbent assay, *PETIA*: particle-enhanced turbidimetric immunoassay, *PINC*: proteinase-inhibitor-based capture, *PENIA*: particle-enhanced nephelometric immunoassay



### 2.6.8. Referans Aralıkları

Prematüre infantlarda Cys C; bütün gestasyonel yaşlarda, anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (34). Doğumdan sonra serum Cys C düzeyleri en yüksek değerdedir. Cys C plasental bariyeri geçemez, yani neonatal Cys C yenidoğanın kendisinden kaynaklanır. Doğumdan sonra serum düzeylerinin yüksek olması, muhtemelen renal matürasyonun henüz yetersiz ve GFR'nin düşük olmasına bağlıdır. Yaşamın ilk dört ayında Cys C düzeyinde hızlı bir düşüş olur (26). Çocuklarda Cys C düzeyleri ilk yılın sonunda erişkin düzeylerine ulaşır (29).

Erişkinlerde referans aralıklarının tespitine yönelik bir çok çalışma vardır ama genellikle bu çalışmalar, sınırlı sayıda birey üzerinde yapılmıştır. Bildirilen referans aralıkları arasındaki küçük farklılıklar; metodların standardizasyon prosedürlerinin, antikor spesifitelerinin ve güvenilirliklerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Genel olarak erişkinlerde farklı çalışmalar sonucu elde edilen referans aralıklarının oldukça benzer olduğu söylenebilir. Çoğu araştırmacı, cinsiyete bağlı farklılık bulmazken; bazıları, kadınlar ve erkekler için farklı referans değerleri vermişlerdir (26).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda serum Cys C'de yaşa bağlı bir değişkenlik olduğu saptanmıştır. Özellikle 60 yaşın üzerindeki kişilerde serum Cys C düzeyleri artmaktadır; bu da muhtemelen yaşa bağlı olarak renal fonksiyonda meydana gelen fizyolojik azalmanın bir sonucudur (26,29)

Farklı metodlarla, değişik yaş grupları üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen referans aralıkları, yöntemleriyle birlikte Tablo 2.9.'da özetlenmiştir.

### 2.6.9. Renal Fonksiyonun Bir Göstergesi Olarak Cys C

Cys C'nin bir GFR göstergesi olarak ilk kez öne sürülmesi; 1985 yılında Simonsen ve arkadaşları tarafından olmuştur. Bu araştırmacılar; çeşitli derecelerde böbrek yetmezliği olan farklı böbrek hastalıklarına sahip bir grup hastada, Cys C düzeylerini <sup>51</sup>Cr-EDTA klirensi ile kıyaslamışlar ve serum Cys C konsantrasyonlarının, SCr düzeyleri gibi GFR ile yakın korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır (26)

Serum Cys C, azalan GFR değerlerine karşılık artış gösterir. Renal fonksiyonu normal ile şiddetli renal yetmezlik arasında değişen hastalar üzerinde

Ayrıca GFR'deki hafif azalmaların tespitinde Cys C ölçümünün yararlı olduğunu; bu durumun, erken tedavinin önemli olduğu çeşitli renal hastalıklarda erken tutulumun tespitinde önem kazanacağını öne sürmüşlerdir (35). Çocuklar ve yaşlılar üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (36,37).

Diyaliz hastalarında; şiddetli renal yetmezliği olan hastalardaki serum düzeyleriyle kıyaslandığında, serum Cys C düzeylerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Hemodiyaliz ve CAPD (continuous ambulatory peritoneal dialysis) hastaları arasında serum Cys C düzeyleri açısından anlamlı fark olmadığı, yani farklı diyaliz membranları kullanımının Cys C düzeylerini etkilemediği tespit edilmiştir (26).

Renal transplantasyondan sonra hastalar, rejeksiyon ya da immunsupresif tedaviden kaynaklanan toksisiteye bağlı olarak, transplante böbreğin akut hasarlanması riskiyle karşı karşıyadırlar. Dolayısıyla renal hasarın erken tespiti, daha efektif yaklaşımları beraberinde getirecektir (21). Renal transplantlı hastalardaki Cys C düzeyleriyle ilgili yapılan çalışmalarda da Cys C'nin güvenilir bir GFR göstergesi olduğu ve Cys C düzeylerindeki bir yükselmenin, akut rejeksiyon ya da tedaviye bağlı nefrotoksisite tanısının hızla konmasını sağlayacağı rapor edilmiştir (38,39,40).

#### 2.6.10. Diğer Klinik Uygulamalar

Hereditör Cys C Amiloid Anjiopatisi: Önceleri amiloidozlu hereditör serebral hemoraji olarak bilinen bu hastalık, otozomal dominant geçiş gösterir ve korteks ve leptomeninklerdeki damarlarda amiloid ve Cys C birikimiyle karakterizedir. Cys C genindeki bir nokta mutasyon, posttranslasyonel modifikasyonda bir hata sonucu lösin yerine glutamin geçmesine neden olur. Sonuçta oluşan Cys C varyantları, agregat yapmaya meyillidir ve ağır amiloid birikimleri oluşturur. Bu hastaların BOS Cys C düzeyleri çok düşüktür, bu durum hastalığın tanısında oldukça önemlidir (27)

Tümör Büyümesi ve Metastaz: Sistein proteazlardan Cathepsin B, H ve L'nin; tümör büyümesi, vaskülarizasyonu, invazyonu ve metastazında rol oynadığı gösterilmiştir. Kos ve ark.; bunların endojen inhibitörleri olan Cys C ve Stefin'lerin ölçümünün, prognoz hakkında fikir verebileceğini öne sürmüşlerdir.

Aynı araştırmacılar; melanom ve kolorektal kanserli hastalarda Stefin A ve B ve Cys C düzeyleri yüksek olanlarda iyileşme ihtimali yüksek iken; serum Cathepsin B ve H düzeyleri yüksek olanlarda ise yaşam süresinin daha kısa olduğunu saptamışlardır (41).

Poteryaeva ve ark. ise; tümör dokusunda ve plazmada Cys C düzeylerinin ölçümünün, tümör büyüme hızını göstermede ve antitümör tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde yardımcı olacağını öne sürmüşlerdir (42)

Cys C ölçümüyle ilgili yeni öne sürülen bir kullanım alanı da, myeloma gibi lenfoproliferatif bozukluklarda tümör büyümesini monitörize etmek için; BMG ve Cys C oranının, bir hücre proliferasyon indeksi olarak kullanılmasındır (25).

Ateroskleroz ve Aort Anevrizması: Ateroskleroz ve abdominal aort anevrizması patogenezinde, elastik laminanın bozulması önemlidir. Elastolitik sistein proteazlar, arteriyel elastin hasar bölgelerinde aşırı eksprese olurlar Normalde damar duvarı düz kas hücrelerinde sentezlenen Cys C'nin; hem aterosklerotik, hem de anevrizmal aortik lezyonlarda çok azaldığı saptanmıştır Abdominal aort çapı ile serum Cys C düzeyleri arasında ters korelasyon bulunmuştur Shi ve ark.'na göre; arter duvarı tamirinde Cys C ile sistein proteinazları arasındaki denge önemli rol oynar ve vasküler hastalıklarda Cys C yetersizliği ortaya çıkar. Cys C yetersizliği, anevrizma boyutları ve genişleme hızındaki artış ile bağlantılıdır ve bunun muhtemel nedeni, sistein proteinazların inhibisyonunun yetersiz olmasıdır (43)

Siroz: Takeuchi ve ark., serum Cys C'nin; kronik karaciğer hastalıklarının progresyonu ile arttığını ve karaciğer fibrozu için potansiyel bir gösterge olabileceğini bildirmişlerdir (44) Demirtaş ve ark. ise; beslenmesi kötü olan sirozlu hastalarda protein alımı ve kas kitlesinin azalmış olabileceğini, ayrıca bu hastaların kreatini kreatinine dönüştürme kapasitesinden yoksun olduklarını öne sürmüşler; bu yüzden sirozlu hastalarda GFR tayini için kreatinin yerine serum Cys C ölçümünün daha iyi olacağını bildirmişlerdir (45). Benzer şekilde Woitas ve ark. da; ileri düzeyde renal bozukluğu olan sirozlu hastalarda, azalmış GFR'nin tespiti açısından serum Cys C'nin sensitivitesinin, kreatininden yüksek olduğunu bulmuşlardır (46)

Romatoid Artrit: Hansen ve ark., Romatoid Artrit'li hastaların sinoviositlerinde hem Cys C hem de Cathepsin B'nin fazlaca eksprese edildiğini bulmuşlardır. Araştırmacılar; romatoid sinovyumda hem matriksi yıkan sistein proteinazı Cathepsin B, hem de sistein proteinaz inhibitörü olan Cys C eksprese edilmesine rağmen; Cys C'nin, Cathepsin B tarafından matriksin yıkılmasını önlemeye yeterli olmadığını ileri sürmüşlerdir (47)

## 2.7. N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase (NAG)

### 2.7.1. Fonksiyon

NAG, vücutta yaygın dağılım gösteren ve esas olarak proksimal renal tubulus hücrelerinin lizozomal fraksiyonunda, az bir kısmı da mikrozomal fraksiyonunda bulunan hidrolitik bir enzimdir (48,49). Bir başka deyişle NAG, glikoproteinleri ve glikozaminoglikanları yıkan bir lizozomal glikozidazdır.

### 2.7.2. Yapı ve İzoenzimler

NAG'ın dokularda ve biyolojik sıvılarda A ve B olmak üzere 2 major izoenzimi ve birkaç tane de minör izoenzimleri (I, P, S) olduğu bulunmuştur. A izoenzimi  $\alpha$  ve  $\beta$  alt birimlerinden, B izoenzimi ise iki  $\beta$  alt biriminden oluşur (50). A'nın ayrıca kan damarlarından kaynaklanan A<sup>S</sup> ve tubuluslardan kaynaklanan A<sup>I</sup> isimli iki formu da tanımlanmıştır (51).

NAG A ve B'nin kinetik özellikleri çok benzerdir ancak elektroforetik mobiliteleri, termal stabiliteleri, substrat spesifiteleri ve pI'ları birbirinden farklıdır (50). A formu ısıya daha duyarlıdır ve anoda B'den daha hızlı göç eder. Bu izoenzimler farklı genlerle kodlanırlar. Tay-Sachs hastalığında A formu defisitliyken, Sandhoff hastalığında her iki form da yoktur.

A ile B arasında iki veya daha fazla ara form da olduğu bildirilmiştir. Bu ara formlar, normal dokularda ve vücut sıvılarında total aktivitenin çok küçük bir kısmını oluştururlar fakat patolojik durumlarda artabilirler. NAG C, embriyonik dokudan elde edilmiş ancak insan serumunda bulunamamıştır. P formu hamile kadınların serumunda bulunmuştur. Serumdaki I<sub>1</sub> ve I<sub>2</sub> formları, NAG A'nın ısıtılması ya da saklanması sonrası oluşabilir (52)

### 2.7.3. Klinik Kullanım

Molekül ağırlığı büyük olduğu için (130 bin-140 bin Da) glomerül membranından geçemez. Glomerüler bir lezyon ya da tubuler hasar olduğunda üriner NAG artar. Benign esansiyel hipertansiyon, renovasküler hipertansiyon ve renal parenkimal hipertansiyon da dahil olmak üzere çeşitli renal hasar durumlarında üriner NAG aktivitesinde artış olduğu bildirilmiştir (49).

Çeşitli primer ya da sekonder renal patolojileri değerlendirmek için üriner aktivite ölçümleri dışında, serum NAG aktiviteleri de ölçülmüş ve serumdaki aktivitenin; hipertansiyon, diabet, ateroskleroz gibi klinik durumlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca serum NAG aktivitesinin genel popülasyonda çeşitli kardiyovasküler risk faktörleriyle (yaş, yüksek kan basıncı, artmış serum kolesterol düzeyi, obezite, artmış ürik asit ve düşük HDL düzeyleri gibi) de bağlantılı olduğu öne sürülmüştür (53).

### 2.7.4. Ölçüm Yöntemleri

NAG aktivitesi fluorometrik ve kolorimetrik yöntemlerle ölçülebilmektedir. İzoenzimleri ise iyon değişim kromatografisi, elektroforez ve NAG A'nın ısıya duyarlılığına dayalı metodlarla ayrıştırılabilmektedir. Ayrıca Numata ve ark., NAG B'nin kantitatif ölçümü için bir ELISA yöntemi geliştirmişlerdir (50).

### 2.8. Beta 2 Mikroglobulin (BMG)

BMG; molekül ağırlığı 11800 Da olan ve bütün nukleuslu hücrelerin yüzeyinde HLA kompleksinin bir komponenti olarak bulunan bir proteindir. Tek bir polipeptid zinciri ve bir disülfid köprüsü içerir. Yapısında karbonhidrat bulunmaz. Yarı ömrü 107 dk'dır. Küçük bir molekül olması nedeniyle glomerüler membrandan serbestçe süzülebilir. Fakat normalde süzülen BMG'nin ancak %1'inden azı idrara geçer çünkü glomerüler filtrasyondan sonra proksimal tubulus hücrelerinde geri emilir ve yıkılır. Dolayısıyla normal koşullarda idrarda neredeyse hiç BMG bulunmaz.

Serum BMG düzeyleri; böbrek yetmezliği, inflamasyon, B lenfositlerle ilgili neoplaziler gibi klinik durumlarda artar. Bu yüzden serum BMG

düzeylerinin; glomerüler filtrasyon kapasitesi için duyarlı bir göstere olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca üriner BMG düzeylerinde artış, renal tubuler hasarla ilişkilidir ve tubulointerstisyel renal hasarın tanı ve takibinde yararlı bir parametredir.

Serum BMG ayrıca multipl myelom, kronik lenfositik lösemi (KLL) ve malign melanom için de iyi bir prognostik göstergedir. Bu durumlarda BMG, hastalıkların farklı klinik evrelerinin ayırdedilmesinde yardımcı olabilir. Merkezi sinir sistemi tutulumu olan akut lösemi ve lenfomalarda, BOS'ta BMG düzeyi artar. Tükürük bezlerinde lenfoid infiltrasyon olan Sjögren Sendromu'nda da tükürükte BMG artar (23).

## 2.9. İdrar Protein, Albümin ve Mikroalbümin

Renal glomerül, moleküler bir elek gibi davranır ve herhangi bir maddenin böbreklerden atılımı, moleküler çapıyla ters orantılı olarak değişir. Ayrıca bir protein ne kadar negatif yüklü ise, anyonik karakterdeki glomerüler membrandan geçişi de o kadar az olur.

Albümin, nisbeten küçük (molekül ağırlığı 66300 Da) ve globüler yapıda bir moleküldür. Bu yüzden; fizyolojik pH'da asidik yüküne rağmen, önemli miktarda albümin, glomerüler idrara süzülür. Normalde filtre edilen albüminin büyük bir kısmı, proksimal hücreler tarafından geri emilir.

Fizyolojik koşullarda 24 saatlik idrarda protein miktarı genellikle 150 mg'ın altında olup bunun 20-40 mg'ını albumin oluşturur. Bu değer üstünde atılım olması; proksimal tubul hücrelerinin reabsorpsiyon kapasitesini aşacak düzeyde glomerüler filtrasyon olduğunu (örn: nefrotik sendrom), proksimal tubulus hasarını, hematüriyi ya da bunların birlikte bulunduğu klinik durumları akla getirir. Fiziksel egzersiz ve ateş gibi bazı durumlarda da filtrasyon artabilir.

İdrarda az miktarda albümin atılması normaldir. Mikroalbüminüri; idrarda albümin atılımındaki hafif artışı (20-300 mg/L) tanımlamak üzere kullanılan bir terimdir. Normal albüminüri ile proteinüri arasındaki subklinik geçişi ifade etmektedir (23).

Mikroalbüminüri; özellikle diabetik hastalarda, diabetik nefropatinin başladığını gösterir ve renal yetmezliğe doğru gidişin bir habercisidir. Ayrıca hem

diabetik hastalarda, hem de genel popülasyonda erken kardiyovasküler mortalite için güvenilir bir göstergedir. Esansiyel hipertansiyonda mikroalbüminürinin rolü ise daha karmaşıktır. Kardiyovasküler komplikasyonlar ve iskemik kalp hastalığı için güvenilir bir gösterge olmasına rağmen, progresif renal değişiklik riski için prognostik değeri kesinlik kazanmamıştır (54).

Antihipertansif ilaçlarla kan basıncı kontrolü sağlandığında, üriner albümin atılımı azalır. Üriner albümin atılımı ile kan basıncı arasındaki ilişki dikkate alındığında; mikroalbüminüri, renal hastalığın erken bir göstergesi gibi görünmektedir (55)

Ayrıca esansiyel hipertansiyonlu hastalarda mikroalbüminürinin; genel mikrovasküler hasar varlığını gösterebileceğini öne süren yayınlar da bulunmaktadır (56). Ancak mikroalbüminürinin; renal ve kardiyovasküler olaylar için bir risk göstergesi ya da gerçek bir risk faktörü olup olmadığını saptamak için; seçim kriteri olarak mikroalbüminüriyi, son nokta olarak ise renal ve kardiyovasküler olayları kabul eden prospektif klinik çalışmalara gereksinim vardır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Bireyler

Bu çalışmada Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Nefroloji Polikliniği'ne başvuran; klinik ve laboratuvar verilerine göre sekonder hipertansiyon sebepleri ekarte edildikten sonra "Primer Hipertansiyon" tanısı almış olan, 30-60 yaş arasındaki hastalar değerlendirmeye alındı. Çalışma; primer hipertansiyonu olan 24 erkek ve 27 kadından oluşan hasta grubu ile 11 erkek ve 18 kadından oluşan, fizik muayenesi ve rutin biyokimyasal tetkikleri normal olan, bilinen herhangi bir kronik hastalığı bulunmayan, yaş ve cinsiyet açısından hasta grubuyla uyumlu sağlıklı kontrol grubu üzerinde yapıldı. Bütün bireylerden detaylı anamnez alındı. Hastalar esansiyel hipertansiyona yönelik tedavileri devam eden, bunun dışında diabet, kronik karaciğer ya da böbrek hastalığı ya da başka herhangi bir kronik hastalığı olmayan; böbrek fonksiyonlarını etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanmayan kişilerdi. Kontrol grubundaki bireylerde de sürekli ilaç kullanımı söz konusu değildi.

#### 3.2. Laboratuvar İşlemleri

Kontrol ve hasta gruplarının kan örnekleri Merkez Laboratuvarı kan alma biriminde alındı. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerden bir gecelik açlık sonrası sabah saat 08:00-10:00 arasında, düz biyokimya tüpüne alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıştırıldı. Serum örneklerinin bir kısmı; rutin biyokimya, kreatinin ve BMG ölçümleri için ayrıldı ve bu ölçümler hemen yapıldı. Serum örneğinin bir kısmı ise Cys C ölçümü için ayrıldı ve  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de çalışma gününe kadar saklandı. Her iki gruptan ayrıca 24 saatlik idrar örnekleri de alınarak hacimleri tespit edildikten sonra, bir kısmı alındı ve biyokimyasal ölçümler (kreatinin, total protein, albümin) hemen yapıldı. İdrarın bir kısmı ise üriner NAG aktivitesi ölçümü için ayrıldı ve ölçüm gününe kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.



### 3.3. Ölçülen Parametreler ve Yöntemleri

#### 3.3.1. Cys C

Serumda Cys C tayini için Dade Behring'e ait N Latex Cys C kiti (Code No OQNM) kullanılarak Dade Behring Nephelometer Systems BN II cihazında ölçüm yapıldı. -80°C'de saklanmış serum örnekleri, çalışma günü alınarak; ölçüm öncesinde oda ısısına getirildi. Lipemik ya da bulanık örnekler, çalışma öncesinde santrifüj edildi.

Yöntemin Prensipleri: İnsan Cys C'sine spesifik antikorlarla kaplı polystyrene partiküller; insan Cys C'si taşıyan örneklerle karıştırıldığında aglütine olurlar. BN II cihazında saçılan ışığın yoğunluğu; örnekteki Cys C yoğunluğuna bağlıdır. Bu yüzden; konsantrasyonu bilinen standardın dilüsyonlarıyla elde edilen standart grafiği ile karşılaştırılarak, örneğin Cys C konsantrasyonu tespit edilebilir.

#### Kullanılan Reaktifler:

- Reaktif A: Romatoid Faktör gibi nonspesifik etkileşimleri önlemek için kullanılır. Tampon solüsyon içinde tavşan immunglobulini içerir.
- Reaktif B: Stabilitiyi sağlamak için kullanılan deterjanı içerir. Reaktif A ve B sıvı haldedir. B'den 0,5 mL alınarak A'ya eklenir ve karıştırılır.
- Cys C Reaktifi: Cys C'ye karşı oluşturulmuş tavşan antikorlarıyla kaplı polystyrene partiküller içerir. Liyofilize haldedir.

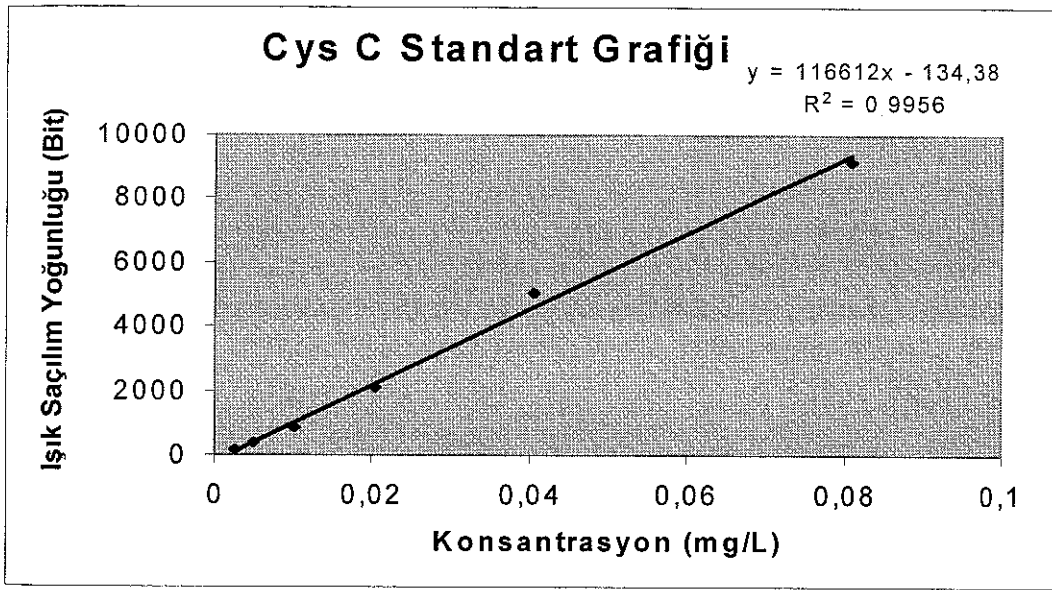
Kalibrasyon için yine Dade Behring'e ait N Protein Standart UY (Code No OQLV) kalibratörü kullanıldı. İnsan idrarından pürifiye edilmiş Cys C içeren, liyofilize haldeki kalibratör, şişe üzerindeki talimatlara uygun biçimde sulandırıldı ve otomatik dilüsyonla 6 noktalı (1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 oranlarında) kalibrasyon yapıldı. Kalibratördeki Cys C konsantrasyonu, 1,62 mg/L idi. Cys C kalibrasyon grafiği Şekil 3 1 'de gösterilmiştir.

Testin kontrolü için de; yine liyofilize halde bulunan ve insan idrarı kaynaklı Cys C içeren kontrol, şişe üzerindeki talimatlara uygun biçimde sulandırılarak kullanıldı ve her çalışma serisi öncesinde kontrol yapıldı.

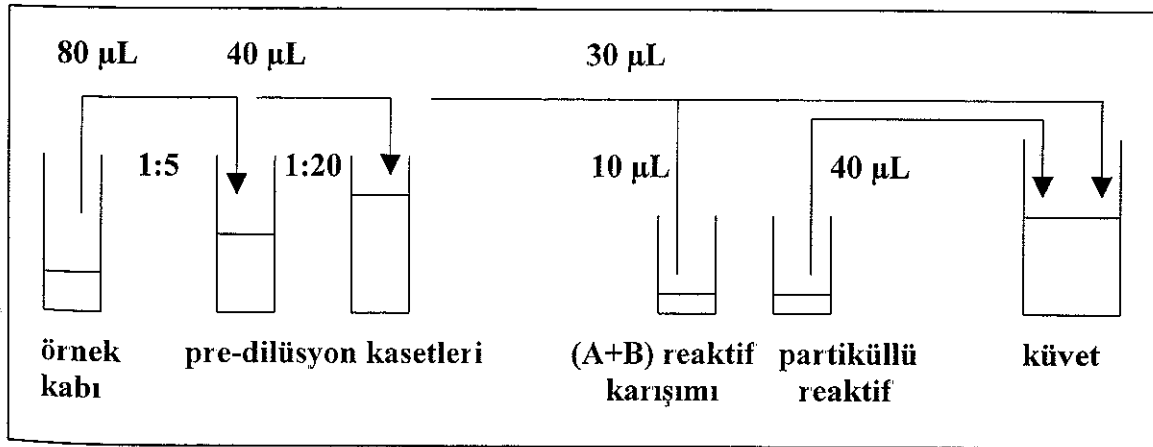
Örnekler analiz edilmeden önce 2 aşamada, otomatik olarak 1/100 oranında dilüe edilir. Dilüe örnek, 10 µL reaktif (A+B) karışımı ve partiküllü reaktif; eş zamanlı olarak küvete pipetlenir. Ölçüm protokolü şematik olarak

Şekil 3.2 'de gösterilmiştir Her kalibratör dilüsyonu da aynı şekilde pipetlenir. İçerikler karıştırılır. 10'uncu saniyede ve 6'ıncı dakikada 840 nm'de okumalar yapılır Işık kaynağı, infrared high-performance light-emitting diode'dur. Sinyaldeki değişiklik, kalibrasyon grafiği yardımıyla konsantrasyona (mg/L'ye) çevrilir. Sinyal yoğunluğu, örnekteki Cys C konsantrasyonuyla orantılıdır. Bir örnek 6 dk içinde ölçülebilir. Eğer elde edilen sonuçlar ölçüm aralığının dışındaysa; örnek, daha düşük ya da daha yüksek dilüsyonlarla tekrar çalışılır.

Testin referans aralığı 0,53-0,95 mg/L'dir.



Şekil 3.1. Cys C Standart Grafiği

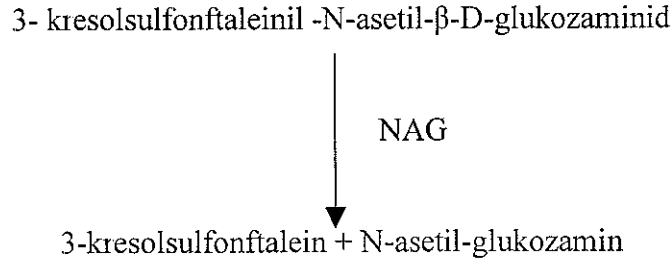


Şekil 3.2. Cys C Ölçüm Protokolünün Şematik Gösterimi

### 3.3.2. NAG

İdrarda NAG aktivitesi ölçümü için Roche'a ait NAG kiti (Cat No. 875406) kullanıldı. Test çalışma gününe kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmış olan 24 saatlik idrar örnekleri, ölçüm öncesinde oda ısısına getirildi. Bulanık örnekler santrifüj edilerek, süpernatant kısmı atıldı ve dipteki kısımdan örnek alınarak çalışıldı. Ölçümler 2 ayrı seri halinde yapıldı.

Yöntemin Prensipleri: NAG, substratı olan 3-kresolsulfonftaleinil-N-asetil-Beta-D-glukozaminid'in sodyum tuzunu hidroliz eder ve böylece 3-kresolsulfonftalein sodyum tuzu (3-kresol moru) açığa çıkar. 3-kresol moru 580 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak (Schimadzu UV 1600) ölçüldü.



#### Kullanılan Çözeltiler:

- Şişe 1: Sitrik asit ve potasyum sitratlı bir tampon madde içerir
- Şişe 2: Sodyum 3-kresolsulfonftaleinil-N-asetil- $\beta$ -D-glukozaminid ve borakstan oluşan liyofilize substrat içerir
- Şişe 3: Sodyum karbonatlı, reaksiyonu durdurucu madde içerir.

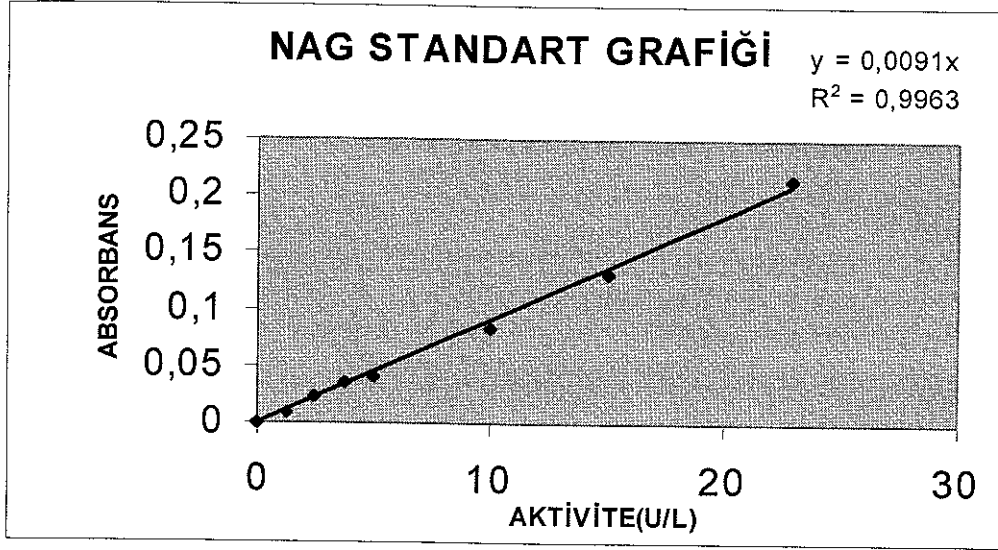
#### Çözeltilerin Hazırlanması:

1. Tampon çözeltisi: 1 no'lu şişe içeriği 55 ml distile su içinde çözüldü.
2. Substrat solüsyonu: 2 no'lu şişe içeriği tampon çözeltisi içinde çözüldü.
3. Durdurucu reaktif: 3 no'lu şişe içeriği 110 ml distile su içinde çözüldü.

Substrat;  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de ışıktan korunarak saklandığı takdirde 1 ay; durdurucu reaktif ise  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 1 ay dayanıklıdır.

Standart olarak Roche'a ait NAG-Standart kiti (Cat No 982962) kullanıldı. Liyofilize haldeki standart, 3 ml distile su içinde çözüldü. Şişe dikkatli kapatılarak 5 dk bekletildi. Bu süre içerisinde köpük oluşmamasına dikkat

edilerek yavaş şekilde karıştırıldı ve içeriğin tamamen erimesi sağlandı. Standart çözeltisinin NAG aktivitesi 23,4 U/L olarak şişe üzerinde belirtilmişti. Standart solüsyonu; aktivitesi 1,25, 2,5, 3,75, 5, 10, 15, 23 U/L olacak şekilde çeşitli oranlarda sulandırılarak standart grafiği elde edildi. Bu grafik Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.3. NAG Standart Grafiği

Kontrol olarak yine Roche'a ait NAG-Control kiti (Cat No 1164368) kullanıldı. Liyofilize haldeki şişe içeriği, 1 ml distile su içinde çözüldü. Şişe kapatılarak 5 dk bekletildi. Köpük oluşmayacak şekilde yavaşça karıştırılarak içeriğin tamamen erimesi sağlandı. Kontrol solüsyonunun NAG aktivitesi 7,72 U/L olarak şişe üzerinde belirtilmişti.

Her çalışma serisinde kör ve kontrol çözeltileri de hazırlandı. Örnek, kör ve kontrol tüplerine 1'er ml substrat solüsyonu kondu. 37°C'de 5 dk inkübe edildikten sonra örnek tüpüne 0,05 ml idrar örneği, kontrol tüpüne 0,05 ml kontrol solüsyonu, kör tüpüne ise 0,05 ml distile su kondu. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra 37°C'de tam 15 dk inkübe edildi. İnkübasyon süresi bitiminde durdurma reaktifinden tüm tüplere 2'şer ml eklenerek reaksiyon durduruldu. Tüpler yine karıştırıldı. 10 dk beklendikten sonra spektrofotometrede 580 nm dalga boyunda

köre karşı okuma yapıldı. 1 cm ışık yollu küvetler kullanıldı. Reaksiyon volümü 3,05 ml idi.

	<b>Kör</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Numune</b>
Substrat solüsyonu (Şişe 2)	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml
37°C'de 5 dk inkübe edilir Üzerine;			
Distile Su	0.05 ml		
Kontrol Solüsyonu		0.05 ml	
İdrar Örneği			0.05 ml
eklenir, tüpler iyice karıştırılır, 37°C'de 15 dk inkübe edilir. Süre bitiminde			
Durdurucu Reaktif (Şişe 3)	2.00 ml	2.00 ml	2.00 ml
eklenir, tüpler iyice karıştırılır, 10 dk beklenir. 50 dk içinde köre karşı okuma yapılır.			

#### Aktivitenin Hesaplanması:

$$\text{Aktivite} = \frac{1000 \times 3,05}{40,67 \times 1 \times 0,05 \times 15} \times A_{\text{numune}} = 100 \times A_{\text{numune}}$$

(U/L)

3,05: Reaksiyon hacmi (ml)

40,67: 3-kresolsulfonftalein'in 580 nm'deki molar absorptivitesi,

$$\epsilon_{580 \text{ nm}}: 40,67 \text{ L} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$$

1: Işık yolu (cm)

0,05: Numune hacmi (ml)

15: İnkübasyon süresi (dk)

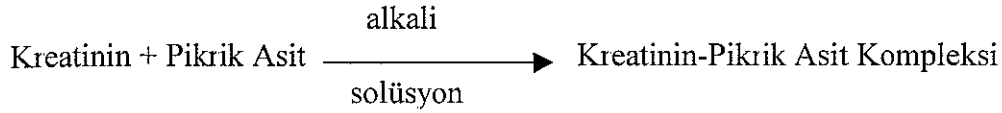
$A_{\text{numune}}$ : Numunenin Absorbansı

#### **3.3.3. Serum ve İdrar Kreatinin Ölçümü ve GFR Hesaplanması**

Serum ve idrar kreatinin düzeyleri ölçümü için Roche'a ait Kreatinin kiti (Cat No. 1875418) kullanılarak, Roche/Hitachi Modular otoanalizöründe kinetik

kolorimetrik ölçüm yapıldı Serum ve idrar kreatinin ölçümleri, örneklerin alındığı gün bekletilmeden yapıldı.

Testin Prensipleri: Alkali ortamda kreatinin, pikratla sarı-turuncu bir kompleks oluşturur ve bu kompleksin renk yoğunluğu; örnekteki kreatinin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. (Jaffé Metodu)



Kullanılan Reaktifler:

- R<sub>1</sub>: 0,20 mol/L sodyum hidroksit içerir
- R<sub>2</sub>: 25 mmol/L pikrik asit içerir.

R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> reaktifleri kullanıma hazır haldedir. Açıldıktan sonra R<sub>1</sub> 28 gün, R<sub>2</sub> 56 gün dayanıklıdır

Testin kalibrasyonu için Roche'a ait CFAS (Calibrator For Automated Systems) kalibratörü (Cat. No. 759350); kontrolü için ise yine Roche'a ait Precinorm U Plus (Cat. No. 2149435) ve Precipath U Plus (Cat. No. 2149443) kontrolleri kullanıldı.

SCr referans aralığı 0,5-1,2 mg/dl'dir.

GFR hesaplamaları 3 farklı şekilde yapıldı:

1. Kreatinin Klirensine Göre GFR Hesaplaması (CrCl):

$$\text{GFR (ml/dk/1,73m}^2\text{)} = \frac{\text{İdrar kreatinini (mg/dl)} \times \text{İdrar Volümü (ml)} \times 1,73}{\text{Plazma kreatinini (mg/dl)} \times 1440 \text{ (dk)} \times \text{BSA}}$$

(1440 dk= 24 saat); BSA: Vücut Yüzey Alanı

2. Cockcroft-Gault Formülüne Göre GFR Hesaplaması (CG-GFR):

$$\text{GFR (ml/dk/1,73m}^2\text{)} = \frac{(140\text{-yaş}) \times \text{ağırlık (kg)} \times K \times 1,73}{\text{Serum kreatinin (mg/dl)} \times 72 \times \text{BSA}}$$

K= Kadınlar için 0.85, erkekler için 1.00; BSA: Vücut Yüzey Alanı

3. MDRD (The Modification of Diet in Renal Disease) Formülüne Göre GFR Hesaplaması (MDRD-GFR) (24):

$$\text{GFR (ml/dk/1,73 m}^2\text{)} = 170 \times [\text{P}_{\text{cr}}]^{-0,999} \times [\text{yaş}]^{-0,176} \times [0,762; \text{eğer kadınsa}] \times [1,180; \text{eğer siyah ırksa}] \times [\text{BUN}]^{-0,170} \times [\text{Alb}]^{+0,318} \times 1,73 / \text{BSA}$$

P<sub>cr</sub>: Plazma Kreatinin Düzeyi (mg/dl)

BUN: Kan Üre Azotu (mg/dl)

Alb: Serum Albümin Düzeyi (mg/L)

BSA: Vücut Yüzey Alanı

### 3.3.4. BMG

Serumda BMG düzeyi ölçümü; Dade Behring'e ait N Latex  $\beta_2$ -Mikroglobulin kiti (Code No OQWU) kullanılarak, Dade Behring Nephelometer Systems BN II nefelometri cihazında yapıldı. Serum örnekleri, kanlar alınıp serumları ayrıştırıldıktan hemen sonra, bekletilmeden çalışıldı.

Testin Prensipleri: BMG'ye spesifik antikorlarla kaplı polystyrene partiküller, örnekteki BMG ile karşılaşınca aglütine olurlar ve örnekten geçirilen ışığın saçılmasına yol açarlar. Saçılan ışığın yoğunluğu, örnekteki BMG konsantrasyonuyla orantılıdır ve bu konsantrasyon; bilinen konsantrasyondaki bir standardın dilüsyonlarıyla elde edilen referans grafiğiyle karşılaştırılarak tespit edilir.

N-Latex BMG reaktifi, insan BMG'sine karşı oluşturulmuş monoklonal fare antikorlarıyla kaplı bir polystyrene partikül solüsyonudur.

Testin kalibrasyonu için Dade Behring N Protein Standard SL (Code No OQIM) kiti kullanıldı. Gerekli dilüsyonlar, Dade Behring N Diluent (Code No OUMT) kullanılarak, cihaz tarafından otomatik olarak yapıldı.

Kontrol için ise Dade Behring N/I Protein Control SL/L (Code No OQIN), N/I Protein Control SL/M (Code No OQIO) ve N/I Protein Control

SL/H (Code No OQIP) solüsyonları kullanıldı. Standart ve kontrol solüsyonları, kullanıma hazır haldeydi.

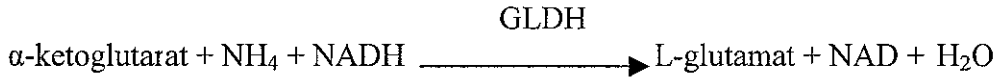
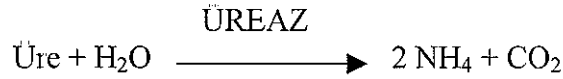
Serum örnekleri, N Diluent ile 1/400 oranında otomatik dilüsyon yapılarak çalışıldı. Sonuçları ölçüm aralığı dışında çıkan örnekler, daha düşük ya da daha yüksek oranlarda tekrar dilüe edildikten sonra, tekrar çalışıldı.

Testin referans aralığı 0,7-1,8 mg/L'dir.

### 3.3.5. BUN

Serum BUN ölçümü için Roche'a ait UREA/BUN kiti (Cat No. 1729691) kullanılarak Roche/Hitachi Modular otoanalizöründe kinetik ölçüm yapıldı. Serum BUN düzeyleri, örneklerin alındığı gün bekletilmeden ölçüldü.

Testin Prensipleri: Üre, üreaz enzimiyle CO<sub>2</sub> ve NH<sub>4</sub>'e hidroliz olur. Oluşan NH<sub>4</sub> daha sonra α-ketoglutarat ve NADH ile birleşerek glutamat dehidrogenaz (GLDH) varlığında glutamat ve NAD<sup>+</sup> oluşturur. NADH tüketimine bağlı olarak absorbansta meydana gelen azalma, kinetik olarak ölçülür.



#### Kullanılan Reaktifler:

- R<sub>1</sub>: 3-[cyclohexylamino]-2-hydroxy-1-propanesulfonic acid tamponu: 5 mmol/L, pH 9,65; NADH: ≥0,23 mmol/L
- R<sub>2</sub>: N,N-bis(2-hydroxyethyl)-glycine tamponu: 1000 mmol/L, pH 7,6; üreaz: ≥7,2 U/ml; GLDH: ≥0,90 U/ml, α-ketoglutarat: ≥8,3 mmol/L.

R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> reaktifleri kullanıma hazır haldedir. Açıldıktan sonra her iki reaktif de 28 gün dayanıklıdır.

Testin kalibrasyonu için Roche'a ait CFAS kalibratörü (Cat. No. 759350), kontrolü için ise yine Roche'a ait Precinorm U Plus (Cat. No. 2149435) ve Precipath U Plus (Cat. No. 2149443) kontrolleri kullanıldı.

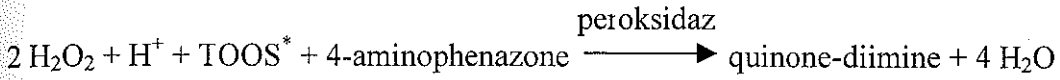
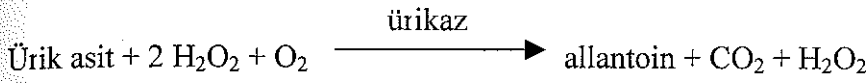
Testin referans aralıkları 6-20 mg/dl'dir.



### 3.3.6. Ürik Asit

Serum ürik asit (UA) düzeyi ölçümü için Roche'a ait UA Plus kiti (Cat. No. 1875426) kullanılarak Roche/Hitachi Modular otoanalizöründe enzimatik ölçüm yapıldı. Serum UA ölçümleri, örnek alındığı gün bekletilmeden yapıldı.

**Testin Prensipleri:** Ürik asit, ürikaz enzimiyle allantoin ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) dönüşür. Oluşan  $H_2O_2$ , 4-aminofenazon ile, peroksidaz varlığında reaksiyona girerek quinone-diimine adlı kırmızı renkli bileşiği oluşturur. Oluşan kırmızı rengin yoğunluğu, örnekteki UA düzeyiyle orantılıdır ve fotometrik olarak tespit edilir.



TOOS\*: N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methylaniline.

#### Kullanılan Reaktifler:

- R<sub>1</sub>: Fosfat tamponu: 0,05 mmol/L, pH 7,8; TOOS: 7 mmol/L; yağlı alkol poliglikol eter: % 4,8; askorbat oksidaz:  $\geq 5$  U/ml.
- R<sub>2</sub>: Fosfat tamponu: 0,1 mmol/L, pH 7,8; potasyum hekzasiyanoferrate: 0,30 mmol/L; 4-aminofenazone:  $\geq 3$  mmol/L; ürikaz:  $\geq 0,5$  U/ml; peroksidaz:  $\geq 1$  U/ml.

R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> kullanıma hazır haldedir. Her iki reaktif de açıldıktan sonra ışıktan korunduğu takdirde 28 gün dayanıklıdır.

Testin kalibrasyonu için Roche'a ait CFAS kalibratörü (Cat. No. 759350), kontrolü için ise yine Roche'a ait Precinorm U Plus (Cat. No. 2149435) ve Precipath U Plus (Cat. No. 2149443) kontrolleri kullanıldı.

Testin referans aralıkları 2,4-7 mg/dl'dir.

### 3.3.7. İdrar Protein ( $U_{pro}$ )

24 saatlik idrarda protein düzeyi ölçümü için Roche'a ait U/CSF Protein kiti (Cat. No. 1877801) kullanılarak Roche/Hitachi Modular otoanalizöründe türbidimetrik ölçüm yapıldı. 24 saatlik idrar örnekleri, örneklerin alındığı gün bekletilmeden çalışıldı.

Testin Prensi: İdrar örneği önce EDTA içeren bir alkali solüsyonla inkübe edilir. Böylece protein denatüre edilmiş ve magnezyum iyonlarından kaynaklanabilecek interferans önlenmiş olur. Daha sonra benzethonium chloride eklenir, oluşan türbidite 505 nm'de okunur

Kullanılan Reaktifler:

- R<sub>1</sub>: 530 nmol/L NaOH, 74 mmol/L EDTA-Na
- R<sub>2</sub>: 32 mmol/L benzethonium chloride

R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> reaktifleri kullanıma hazır haldedir. Açıldıktan sonra her iki reaktif de 21 gün dayanıklıdır.

Testin kalibrasyonu için Roche'a ait Preciset U/CSF Protein kalibratörü (Cat No. 1821440) kullanılarak 5 noktalı kalibrasyon yapıldı.

Testin referans aralığı 0-150 mg/gün'dür

### 3.3.8. İdrar Albümin (U<sub>alb</sub>)

24 saatlik idrarda albümin düzeyi ölçümü için Roche'a ait Albümin kiti (Cat. No. 1875400) kullanılarak Roche Modular otoanalizöründe türbidimetrik ölçüm yapıldı. 24 saatlik idrarda albümin ölçümü, örneklerin alındığı gün bekletilmeden yapıldı.

Testin Prensi: Örnekteki albümin ile albümine karşı oluşturulmuş antikorlar birleşerek, antijen-antikor kompleksleri oluştururlar ve aglütine olurlar. Oluşan kompleksler türbidimetrik olarak ölçülür.

Kullanılan Reaktifler:

- R<sub>1</sub>: TRIS (tris(hydroxymethyl)-aminomethane) tamponu: 50mmol/L, pH 8,0; PEG: % 4,2; EDTA: 3,7 g/L.
- R<sub>2</sub>: Poliklonal anti-albümin antikorları

R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> reaktifleri kullanıma hazır haldedir. Açıldıktan sonra her iki reaktif de 90 gün dayanıklıdır.

Testin kalibrasyonu için Roche'a ait albümin kalibratörü (Cat No. 1875400) kullanılarak 5 noktalı kalibrasyon yapıldı. Kontrol için ise yine Roche'a ait Precinorm Albumin (Cat No 1205846) ve Precipath Albumin (Cat. No. 1205838) kullanıldı.

Testin referans aralığı 0-20 mg/L (0-30 mg/gün)'dir.

### 3.4. İstatistiksel Analiz

Bütün veriler ortalama  $\pm$  SE şeklinde ifade edildi

Gruplar arasında kıyaslama yapmadan önce Kolmogorov-Smirnov testi ile parametrelerin normal dağılım gösterip göstermediği değerlendirildi. Normal dağılım gösteren parametrelerin kıyaslanması için Independent Samples T Test; normal dağılıma uymayan parametreler için ise Mann Whitney U testi kullanıldı.

Parametreler arasındaki korelasyon; Pearson korelasyon katsayısı (nonparametrik) hesaplanarak değerlendirildi.

İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  kabul edildi.

Bütün istatistiksel analizler için SPSS 10,0,1 paket programı kullanıldı.

SCr, BMG, Cys C gibi renal parametrelerin renal tutulumu yansıtması bakımından tanısal güvenilirliğini değerlendirmek için ROC (Receiver Operating Characteristics) eğrileri çizildi. Parametrelerin, ROC eğrileri altında kalan alanlarının hesaplanması ve bu alanların birbirleriyle kıyaslanması; testlerin sensitivite, spesifite, PPV (pozitif prediktif değer) ve NPV (negatif prediktif değer) gibi tanısal göstergelerinin hesaplanması için ise MedCalc (Version 7,0) istatistik paket programı kullanıldı.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol gruplarının özellikleri Tablo 4.1.'de görülmektedir. 18 Kadın ve 11 erkekten oluşan kontrol grubunun yaş ortalaması (ortalama  $\pm$  SE şeklinde)  $45,79 \pm 1,31$  (36-57); 27 kadın ve 24 erkekten oluşan hasta grubunun yaş ortalaması ise  $48,47 \pm 0,77$  (30-56)'dir. Çalışma gruplarının boy, ağırlık ve BMI (Body Mass Index) ortalamaları ise sırasıyla kontrol grubu için  $163,83 \pm 1,63$  cm,  $72,45 \pm 1,83$  kg ve  $27,06 \pm 0,68$  kg/m<sup>2</sup>; hasta grubu için ise  $166,10 \pm 1,27$  cm,  $75,76 \pm 1,71$  kg ve  $27,50 \pm 0,59$  kg/m<sup>2</sup>'dir. Gruplar yaş ve cins açısından olduğu gibi; boy, ağırlık ve BMI açısından da uyumludur ( $p>0,05$ ). Hipertansif gruptaki bireylerin hastalık süreleri 1 ile 25 yıl arasında değişmektedir. Hastaların esansiyel hipertansiyona yönelik medikal tedavilerine halen devam edilmektedir.

**Tablo 4.1.** Çalışma Gruplarının Genel Özellikleri

	Kontrol Grubu (n=29)	Hasta Grubu (n=51)
Cinsiyet (E/K)	11/18	24/27
Yaş (yıl)	$45,79 \pm 1,31$	$48,47 \pm 0,77$
Boy (cm)	$163,83 \pm 1,63$	$166,10 \pm 1,27$
Ağırlık (kg)	$72,45 \pm 1,83$	$75,76 \pm 1,71$
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$27,06 \pm 0,68$	$27,50 \pm 0,59$

Veriler Ortalama  $\pm$  SE şeklinde ifade edilmiştir. Gruplar, bütün veriler açısından uyumludur.

### 4.1. Grupların Renal Parametreler Açısından Kıyaslanması

#### 4.1.1. Serum Parametreleri

Çalışma grupları; BUN, SCr, UA, Cys C ve BMG parametreleri açısından kıyaslandığında; her parametre için, hasta grubu ortalama değerlerinin kontrol grubu ortalama değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu. Ancak genel olarak bakıldığında kontrol grubunda bütün bireyler bu parametreler açısından normal aralıklar içinde değerlere sahip olduğu gibi, hasta grubunda da BUN, SCr ve UA düzeyleri neredeyse bütün bireylerde normal aralıklar içindeydi. Bir hastada BUN düzeyi, bir hastada SCr düzeyi ve 4 hastada UA düzeyleri normalin üst sınırından yüksekti.

Grupların serum parametreleri, ortalama  $\pm$  SE şeklinde p değerleriyle birlikte Tablo 4.2.'de gösterilmiştir

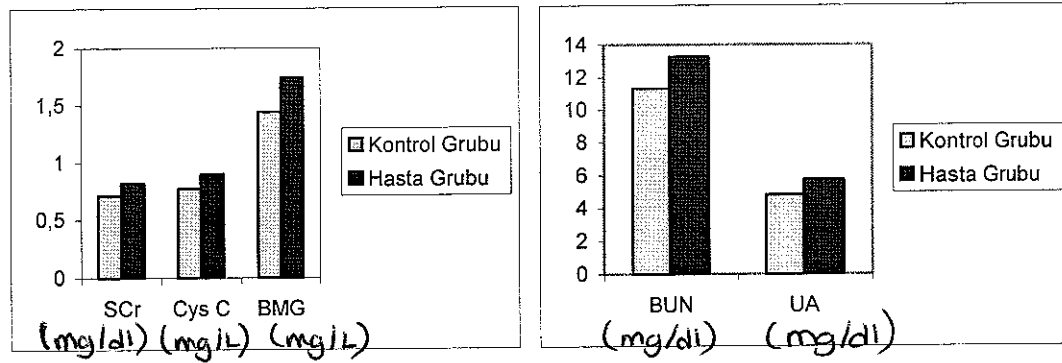
**Tablo 4.2.** Çalışma Gruplarının Serum Parametreleri

	Referans Aralıkları	Kontrol Grubu (n=29)	Hasta Grubu (n=51)	p
BUN (mg/dl)	6-20	11,31 $\pm$ 0,45	13,29 $\pm$ 0,43	0,004
SCr (mg/dl)	0,5-1,2	0,71 $\pm$ 0,02	0,82 $\pm$ 0,02	0,002
UA (mg/dl)	2,4-7	4,80 $\pm$ 0,22	5,71 $\pm$ 0,21	0,008
Cys C (mg/L)	0,53-0,95	0,77 $\pm$ 0,02	0,90 $\pm$ 0,02	0,000
BMG (mg/L)	0,7-1,8	1,44 $\pm$ 0,05	1,74 $\pm$ 0,04	0,000

Veriler Ortalama  $\pm$  SE şeklinde ifade edilmiştir

Kontrol ve hasta grupları arasındaki fark, Cys C ve BMG açısından ise oldukça belirgindi (p=0,000). Kontrol grubunda her iki parametre için bütün bireylerin sonuçları normal aralıklar içindeydi. Hasta grubunda 15 bireyin serum BMG, 21 bireyin ise serum Cys C düzeyleri, üst referans değerinden yüksekti.

Çalışma gruplarının ortalama BUN, SCr, UA, Cys C ve BMG düzeyleri açısından kıyaslama grafiği, Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.1.** Çalışma Gruplarının Serum Parametreleri Açısından Kıyaslanması

#### 4.1.2. İdrar Parametreleri

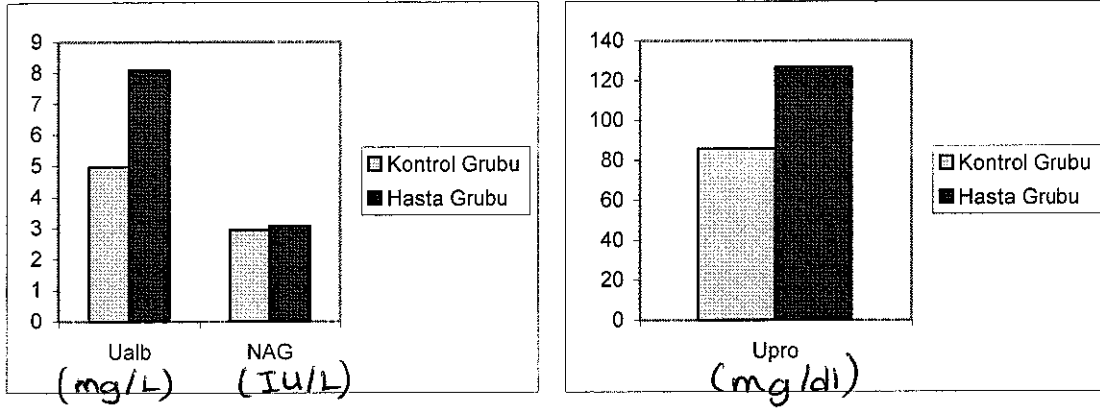
Kontrol ve hasta grupları; idrar protein ve albümin düzeyleri ve üriner NAG aktiviteleri açısından kıyaslandığında; bu parametrelerin ortalama düzeyleri hasta grubunda, kontrol grubundan daha yüksekti ancak arasındaki fark  $U_{pro}$  ve  $U_{alb}$  için istatistiksel olarak anlamlı iken (sırasıyla p=0,021 ve p=0,011) NAG için anlamlı değildi. Proteinüri ( $U_{pro} > 150$  mg/gün) 11 hastada, albüminüri ( $U_{alb} > 30$

mg/gün) ise sadece 1 hastada tespit edildi Çalışma gruplarının idrar protein ve albümin düzeyleriyle üriner NAG aktiviteleri, ortalama  $\pm$  SE şeklinde, p değerleriyle birlikte Tablo 4.3.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.3.** Çalışma Gruplarının İdrar Parametreleri

	Kontrol Grubu (n=29)	Hasta Grubu (n=51)	p
NAG (IU/L)	2,94 $\pm$ 0,28	3,07 $\pm$ 0,23	0,865
U <sub>pro</sub> (mg/dl)	85,60 $\pm$ 9,00	126,59 $\pm$ 19,71	0,021
U <sub>alb</sub> (mg/L)	4,97 $\pm$ 1,67	8,10 $\pm$ 1,45	0,011

Çalışma gruplarının ortalama U<sub>pro</sub> ve U<sub>alb</sub> düzeyleri ve üriner NAG aktiviteleri bakımından kıyaslama grafikleri, Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.2.** Çalışma Gruplarının İdrar Parametreleri Açısından Kıyaslanması

#### 4.1.3. GFR Parametreleri

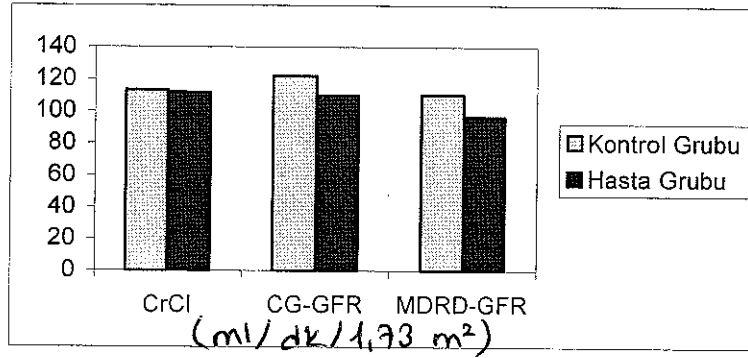
Çalışma gruplarında renal fonksiyonu ve GFR'yi değerlendirmek için CrCl, CG-GFR ve MDRD-GFR değerleri hesaplandı. Buna göre hasta grubunda ortalama CrCl, CG-GFR ve MDRD-GFR düzeyleri kontrol grubundan düşüktü. Ancak aradaki fark sadece CG-GFR ve MDRD-GFR için istatistiksel düzeyde anlamlı iken, CrCl için anlamlı düzeyde fark yoktu. Kontrol grubunda bütün bireylerde her üç GFR göstergesi düzeyleri, GFR için alt sınır kabul edilen 80 ml/dk/1,73 m<sup>2</sup>'den yüksekti. Hasta grubunda ise 6 kişide CrCl, 3 kişide CG-GFR ve 12 kişide MDRD-GFR düzeyleri; 80 ml/dk/1,73 m<sup>2</sup>'nin altındaydı. Grupların

CrCl, CG-GFR ve MDRD-GFR düzeyleri, ortalama  $\pm$  SE şeklinde, p değerleriyle birlikte Tablo 4.4.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.4.** Çalışma Gruplarının GFR Parametreleri

	Kontrol Grubu (n=29)	Hasta Grubu (n=51)	p
CrCl (ml/dk/1,73m <sup>2</sup> )	113,14 $\pm$ 4,01	111,68 $\pm$ 4,00	0,813
CG-GFR (ml/dk/1,73m <sup>2</sup> )	121,80 $\pm$ 3,39	109,85 $\pm$ 2,65	0,007
MDRD-GFR (ml/dk/1,73m <sup>2</sup> )	110,38 $\pm$ 2,81	96,72 $\pm$ 2,74	0,000

Çalışma gruplarının CrCl, CG-GFR ve MDRD-GFR açısından kıyaslama grafikleri, Şekil 4.3.'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.3.** Çalışma Gruplarının GFR Parametreleri Açısından Kıyaslanması

#### 4.2. Renal Parametrelerin Korelasyonları

Renal fonksiyondaki azalmaya bağlı olarak BUN, SCr, UA, serum Cys C ve BMG düzeyleri yükselmektedir. Bu parametrelerle GFR arasındaki ilişki ters yönlü olduğu için, korelasyon grafikleri çizilirken 1/BUN, 1/SCr, 1/UA, 1/Cys C ve 1/BMG değerleri esas alınmıştır. Çalışma gruplarında renal fonksiyonu ve GFR'yi yansıması açısından MDRD-GFR düzeyleri kriter kabul edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarında MDRD-GFR ile renal parametreler arasındaki korelasyonlar (Pearson korelasyon katsayısı, r) ve p değerleri; sırasıyla Tablo 4.5. ve Tablo 4.6.'da gösterilmiştir.

**Tablo 4.5.** Hasta Grubunda MDRD-GFR ile Serum Parametrelerinin Korelasyonları

	BUN	SCr	UA	BMG	Cys C
MDRD-GFR	r = -0,533	r = -0,760	r = -0,608	r = -0,407	r = -0,476
p	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000

**Tablo 4.6.** Kontrol Grubunda MDRD-GFR ile Serum Parametrelerinin Korelasyonları

	BUN	SCr	UA	BMG	Cys C
MDRD-GFR	r = - 0,399	r = - 0,610	r = -0,382	r = -0,442	r = -0,622
p	0,032	0,000	0,041	0,016	0,000

Buna göre MDRD-GFR ile en güçlü korelasyon gösteren parametre hasta grubunda SCr, kontrol grubunda ise Cys C'dir

MDRD-GFR ile diğer GFR göstergeleri olan CG-GFR ve CrCl arasındaki korelasyonlar ve p değerleri ise; hasta ve kontrol grupları için sırasıyla Tablo 4.7.ve Tablo 4.8.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.7.** Hasta Grubunda MDRD-GFR ile Diğer GFR Parametrelerinin Korelasyonları

	CG-GFR	CrCl
MDRD-GFR	r = 0,650	r = 0,040
p	0,000	0,779

**Tablo 4.8.** Kontrol Grubunda MDRD-GFR ile Diğer GFR Parametrelerinin Korelasyonları

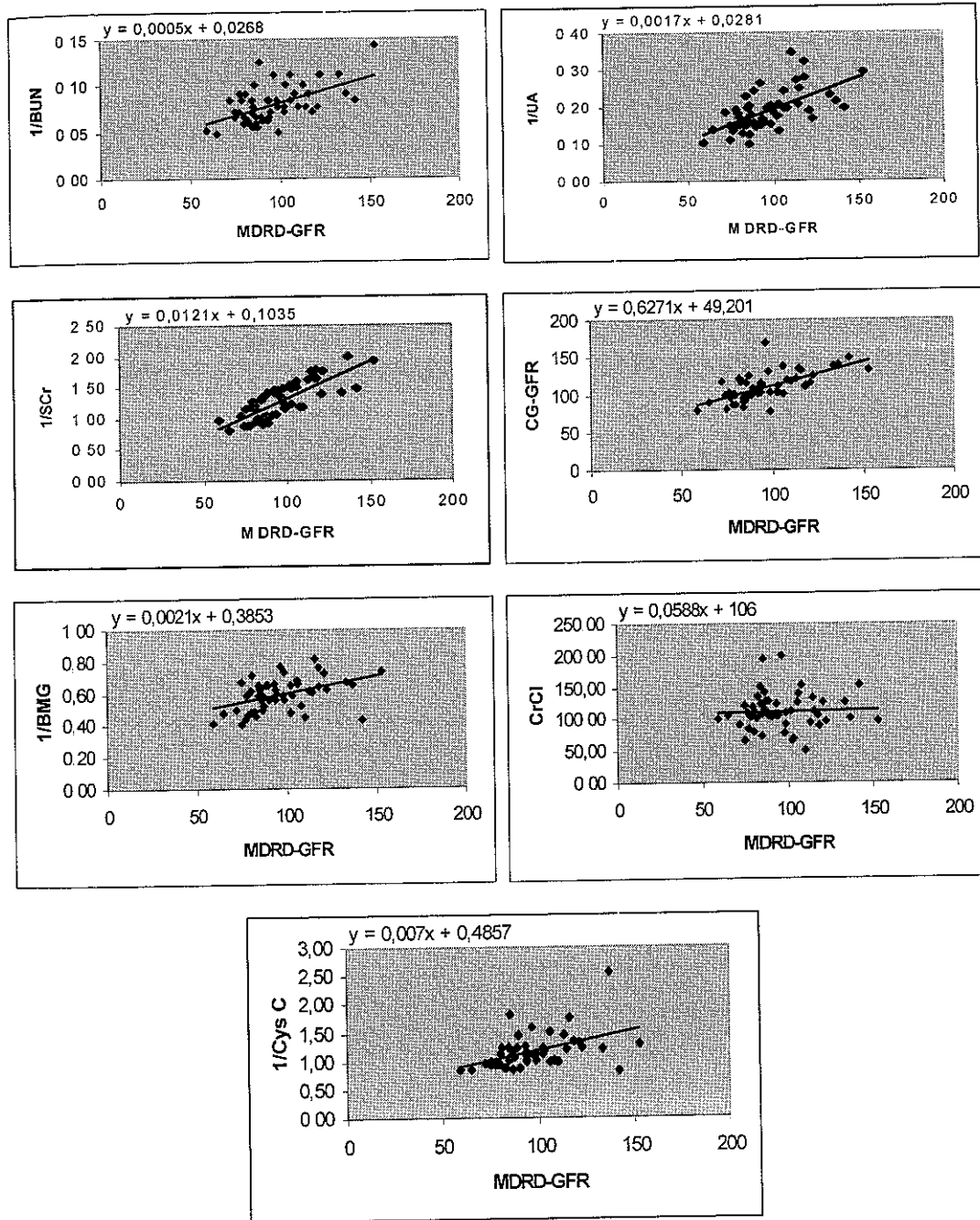
	CG-GFR	CrCl
MDRD-GFR	r = 0,707	r = 0,387
p	0,000	0,038

Tablo 4.7. ve 4.8.'de de görüldüğü gibi; MDRD-GFR ile CrCl arasında hasta grubunda anlamlı korelasyon saptanamadı. Hasta grubunda sadece CG-GFR

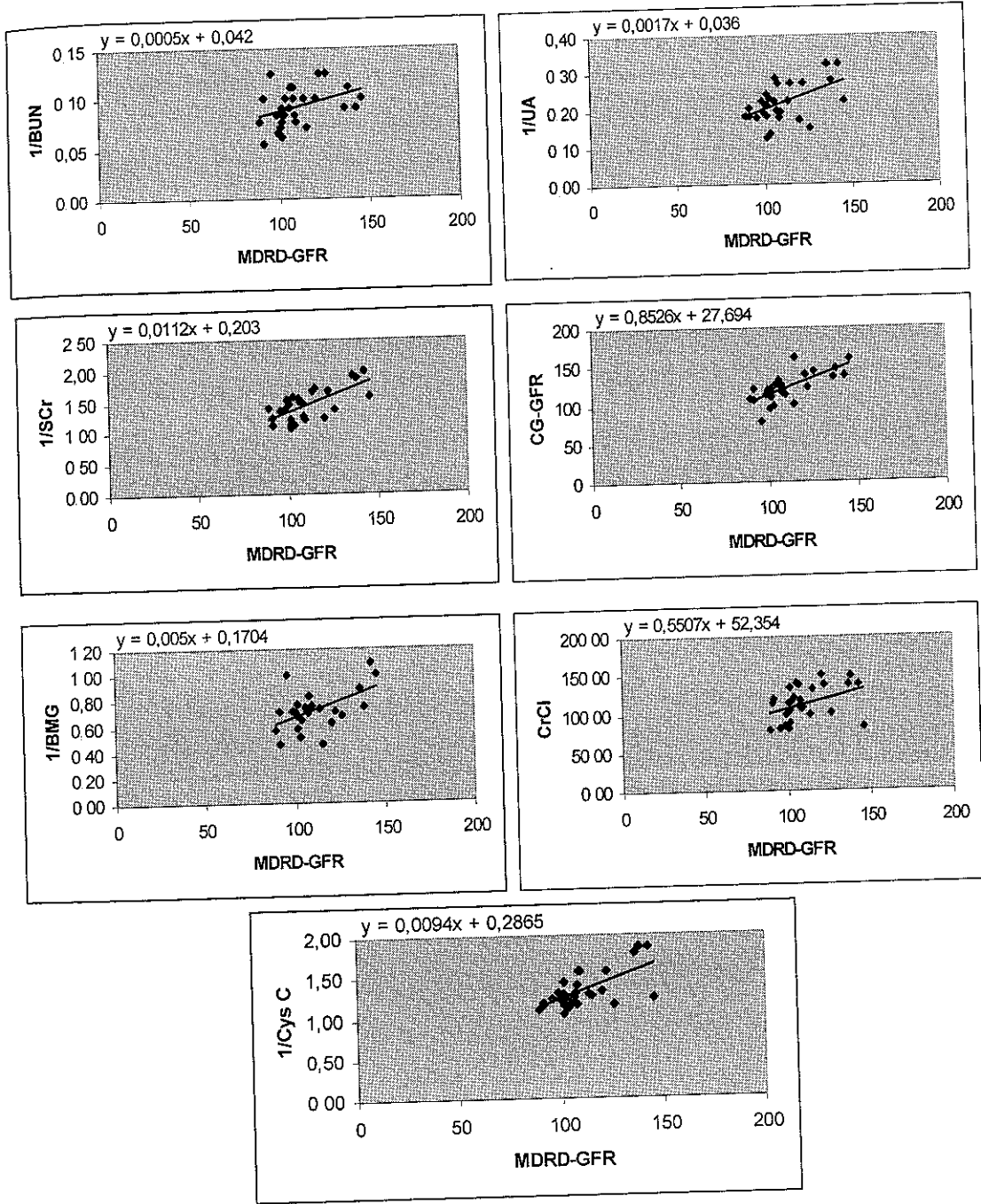


kontrol grubunda ise hem  $\dot{C}G$ -GFR, hem de  $CrCl$ ; MDRD-GFR ile pozitif korelasyona sahiptir.

MDRD-GFR ile  $1/BUN$ ,  $1/SCr$ ,  $1/UA$ ,  $1/BMG$ ,  $1/Cys\ C$ ,  $CG$ -GFR ve  $CrCl$  parametrelerinin korelasyon grafikleri, hasta ve kontrol grupları için ayrı ayrı olmak üzere sırasıyla Şekil 4.4 ve Şekil 4.5.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Hasta Grubunda MDRD-GFR ile Renal Parametrelerin Korelasyon Grafikleri



**Şekil 4.5.** Kontrol Grubunda MDRD-GFR ile Renal Parametrelerin Korelasyon Grafikleri

Üriner NAG aktiviteleri ile GFR arasında anlamlı korelasyon saptanamadı. Sadece hasta grubunda BUN ve SCr ile NAG arasında anlamlı korelasyon saptandı. Bu korelasyonlar, p değerleriyle birlikte Tablo 4 9.'da gösterilmiştir.

**Tablo 4.9.** Hasta Grubunda Üriner NAG Aktivitesi ile Korelasyon Gösteren Parametreler

	BUN	SCr
Üriner NAG Aktivitesi	$r = 0,378$	$r = 0,310$
p	0,006	0,027

Hasta grubunda serum Cys C düzeyleri; BUN, SCr, UA, BMG,  $U_{pro}$ , MDRD-GFR ve CG-GFR ile anlamlı korelasyon gösterirken; kontrol grubunda SCr, BMG, MDRD-GFR ve CrCl ile korelasyon gösterdi. Serum Cys C ile bu parametreler arasındaki korelasyonlar, p değerleriyle birlikte hasta ve kontrol grupları için sırasıyla Tablo 4.10. ve Tablo 4.11.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.10.** Hasta Grubunda Cys C ile Korelasyon Gösteren Parametreler

	BUN	SCr	UA	BMG	$U_{pro}$	CG-GFR	MDRD-GFR
Cys C	$r=0,431$	$r=0,582$	$r=0,533$	$r=0,714$	$r=0,315$	$r=-0,286$	$r=-0,476$
p	0,002	0,000	0,000	0,000	0,025	0,042	0,000

**Tablo 4.11.** Kontrol Grubunda Cys C ile Korelasyon Gösteren Parametreler

	SCr	BMG	CrCl	MDRD-GFR
Cys C	$r = 0,491$	$r = 0,404$	$r = -0,394$	$r = -0,622$
p	0,007	0,030	0,034	0,000

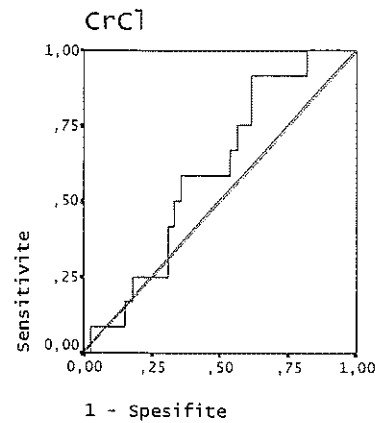
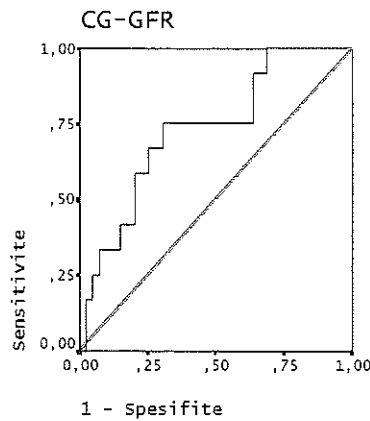
### 4.3. ROC Analizleri

Renal parametrelerin; böbrek fonksiyonlarını ve GFR'yi yansıtması açısından tanısal güvenilirliklerinin tespit edilmesi için ROC analizleri yapıldı. Hasta grubunda MDRD-GFR değeri esas alınarak bireyler, renal fonksiyonu azalmış olanlar ( $<80 \text{ ml/dk/1,73m}^2$ ) ve renal fonksiyonu normal olanlar ( $>80 \text{ ml/dk/1,73m}^2$ ) olmak üzere gruplandı. Buna göre hipertansif grupta 12 hastanın MDRD-GFR düzeyi  $<80 \text{ ml/dk/1,73m}^2$  idi ve bu hastalarda renal tutulum olduğu kabul edildi. Parametrelerin her biri için ROC eğrileri çizildiğinde eğri altında kalan alanlar (AUC=Area Under Curve) bakımından Cys C'nin diğer parametrelerden üstün olduğu saptandı (Cys C için AUC: 0,900). Eğri altında kalan alanlar istatistiksel olarak kıyaslandığında Cys C'nin sadece CG-GFR, CrCl

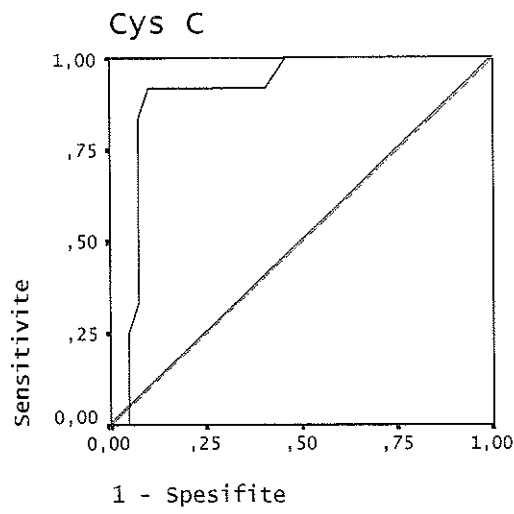
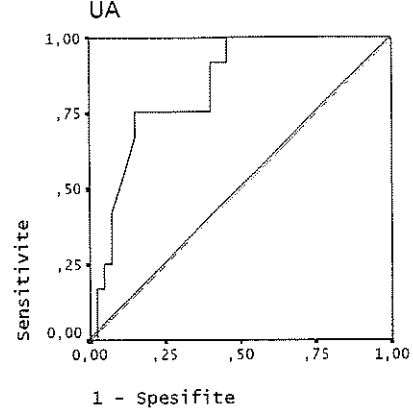
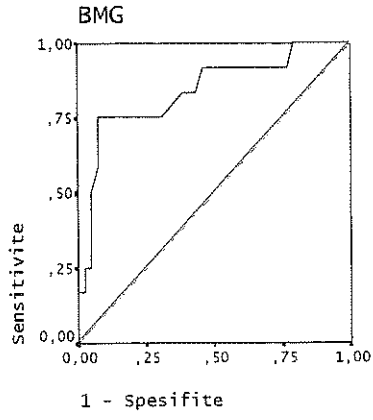
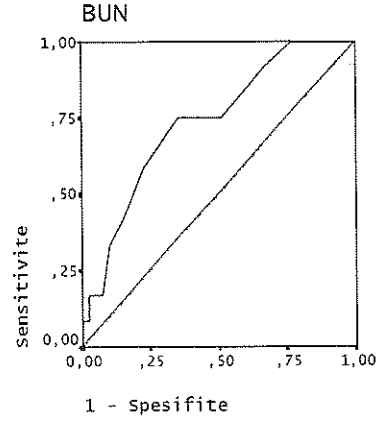
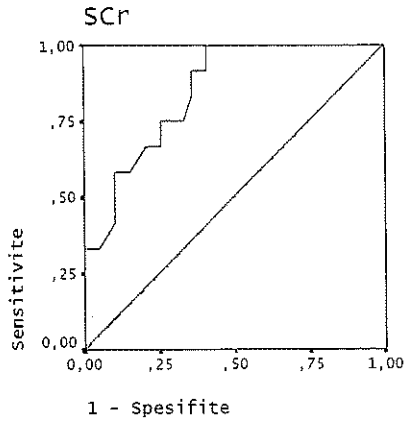
ve BUN'dan anlamlı düzeyde (sırasıyla  $p=0,043$ ;  $p=0,002$  ve  $p=0,026$ ) üstün olduğu bulundu. Cys C'nin tanısal değeri ile diğer parametreler arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. ROC eğrisi altında kalan alanlara göre tanısal güvenilirliği en düşük olan parametre CrCl idi. Diğer parametreler kendi içinde kıyaslandığında SCr ve BMG de CrCl'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (sırasıyla  $p=0,015$  ve  $p=0,014$ ) üstündü. Bütün parametreler için AUC, %95 güven aralıkları (%95 CI), % Sensitivite, % Spesifite, Pozitif Prediktif Değer (PPV) ve Negatif Prediktif Değer (NPV) Tablo 4.12.'de gösterilmiştir. Ayrıca GFR parametrelerinin ROC eğrileri Şekil 4.6.'da; serum parametrelerinin ROC eğrileri Şekil 4.7.'de ve testlerin her biri için çizilen ROC eğrileri, üst üste çakıştırılmış olarak Şekil 4.8.'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.12.** Parametrelerin ROC Analiz Sonuçları

	AUC	%95 CI	% Sens.	% Spes.	PPV	NPV
BUN	0,745	0,603-0,856	75	64,1	39,09	89,30
SCr	0,847	0,719-0,932	100	59	42,83	100
UA	0,834	0,704-0,923	75	82,1	56,28	91,45
BMG	0,835	0,705-0,924	75	89,7	69,10	92,11
Cys C	0,900	0,783-0,966	91,7	89,7	73,25	97,24
CG-GFR	0,726	0,584-0,842	75	69,2	42,79	90,01
CrCl	0,598	0,452-0,733	91,7	38,5	31,41	93,79

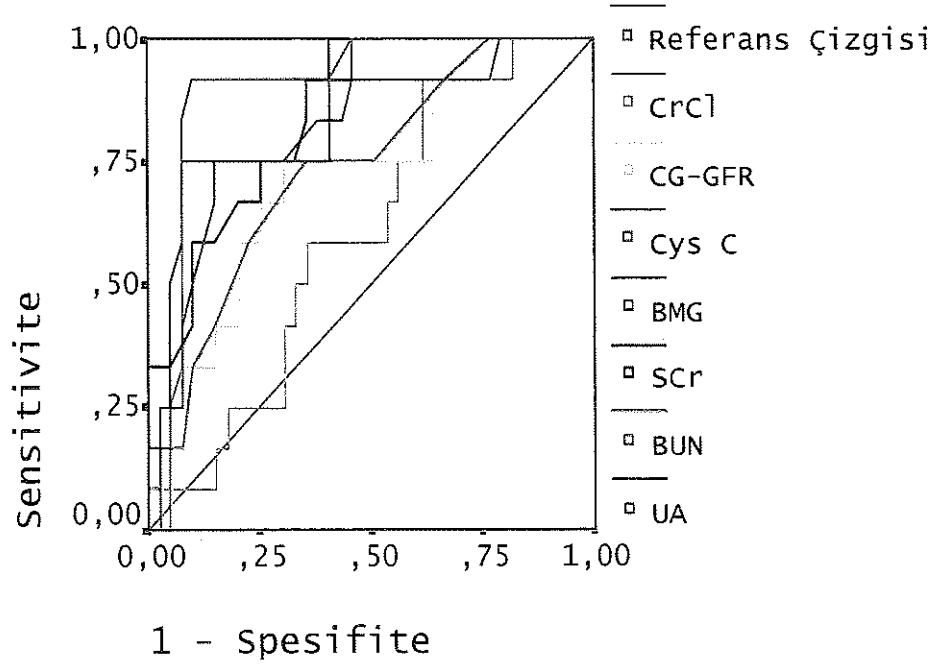


**Şekil 4.6.** GFR Parametrelerinin ROC Eğrileri



Şekil 4.7. Serum Parametrelerinin ROC Eğrileri

## Bütün Parametreler



Şekil 4.8. Bütün Parametrelerin ROC Eğrilerinin Kıyaslamalı Grafiği

## 5. TARTIŞMA:

Esansiyel hipertansiyon böbreklerde hem yapısal hem de fonksiyonel bozukluklara yol açarak böbrek yetmezliğine neden olabilen kronik bir hastalıktır ve dünyanın her yerinde önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Hipertansif hastalarda böbrek fonksiyonlarının takibi ve kontrolü; renal tutulumun hem tespit hem de tedavisi açısından büyük önem taşımaktadır.

Böbrekler vücutta su ve tuz dengesinin sağlanması, eritropoez, kemik metabolizması, elektrolit dengesi ve kan basıncı kontrolü gibi birçok önemli göreve sahip olsa da; renal fonksiyonun en iyi global göstergesi olarak GFR kabul edilmektedir. GFR'deki azalma, böbrekteki patolojinin şiddetiyle koreledir.

Rutin klinik uygulamada GFR'yi tahmin etmek ve izlemek için en yaygın olarak kullanılan parametreler; SCr, BUN ve CrCl'dir. Son yıllarda düşük molekül ağırlıklı bir protein olan Cys C'nin; GFR'de meydana gelen değişikliklere son derece duyarlı olduğu öne sürülmüş ve rutin klinik uygulamada GFR tayininde diğer parametrelerin yerini alabileceği iddia edilmiştir.

Biz de bu çalışmada, bütün toplumlarda sık görülen bir hastalık olan esansiyel hipertansiyonda böbrek tutulumunun erken dönemde saptanması açısından Cys C'nin etkinliğini değerlendirerek, hastanemizde Cys C ölçümünü rutin uygulamaya kazandırmayı amaçladık.

Bu noktadan hareketle, klinikte renal fonksiyonu değerlendirmek için en sık kullanılan parametreler olan BUN, SCr, UA, CrCl, BMG,  $U_{pro}$  ve  $U_{alb}$ 'i ele aldık. Ayrıca GFR'yi, bazı serum parametreleri ve demografik veriler aracılığıyla tahmin etmekte kullanılan CG ve MDRD formüllerini de değerlendirmeye aldık ve hipertansif hastalardaki renal tutulumun erken tanısındaki etkinliklerini birbirleriyle kıyasladık. Renal tubuler hasarın bir göstergesi olarak üriner NAG düzeylerini de ölçerek, Cys C ve diğer parametrelerle ilişkilerini değerlendirdik.

Yaşla birlikte renal fonksiyonda fizyolojik azalma meydana geldiği ve ayrıca serum Cys C düzeyleri de bu azalmaya paralel olarak özellikle 6. dekattan sonra yükselmeye başladığı için; hasta ve kontrol gruplarını, yaşları 30 ile 60 arasında değişen bireylerden oluşturduk. Ek olarak; bazı çalışmalarda Cys C

düzeylerini etkileyebileceği bildirilmiş olan malignensiler ve bazı ilaç kullanımları da bizim hasta ve kontrol gruplarımızdaki bireylerde söz konusu değildi. Kontrol grubundaki bireylerde herhangi bir kronik sistemik hastalık ya da sürekli ilaç kullanımı yoktu. Hipertansif bireylerde de hipertansiyon dışında herhangi bir kronik hastalık yoktu ve hastalar hipertansiyona yönelik medikal tedavilerine devam etmekteydiler.

Biz çalışma gruplarımızdaki bireylerin GFR düzeylerini yansıtması bakımından MDRD formülünü standart kabul ettik. Yapılan daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak biz de, azalan GFR düzeyleriyle birlikte serum Cys C düzeylerinin yükseldiğini bulduk.

Çalışma gruplarını serum renal parametreleri açısından (BUN, SCr, UA, Cys C, BMG) kıyasladığımızda, hasta grubunda ortalama değerlerin, kontrol grubu ortalama değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bulduk (Tablo 4.2.). Ancak genel olarak baktığımızda BUN, SCr ve UA düzeyleri kontrol grubunda bütün bireylerde, hipertansif grupta ise birkaç kişi dışında tüm bireylerde normal aralıklar içindeydi. Gruplar arasındaki istatistiksel fark, serum Cys C ve BMG düzeyleri açısından ise daha belirgindi (her ikisi için de  $p=0.000$ ) ve kontrol grubundaki bütün bireylerin serum Cys C ve BMG düzeyleri normal aralıklar içindeyken, hasta grubunda 15 bireyin BMG, 21 bireyin de Cys C düzeyleri üst referans değerinden yüksekti.

SCr, BUN ve UA; klinik laboratuvarlarda hızlı ve kolay biçimde ölçülebilen ve sıkça kullanılan parametrelerdir. Ancak bu parametrelerin serum düzeylerinin hem birçok faktörden etkilendiği, hem de ölçüm metodolojileriyle ilgili olarak çeşitli interferans problemlerinin olduğu bilinmektedir (35). Her üç parametre de diyetten önemli ölçüde etkilenmektedir. BUN üretim hızı değişkendir ve konjestif kalp yetmezliği, malnutrisyon gibi hastalık durumlarından etkilenmektedir. Ayrıca BUN, böbreklerde tubuler reabsorpsiyona da uğramaktadır.

SCr düzeyi ölçümü; ucuzluğu ve ölçüm kolaylığı nedeniyle renal fonksiyon için standart bir laboratuvar profili haline gelmiştir. Ancak SCr, GFR için oldukça kaba bir göstergedir. Kreatinin düzeyi, GFR'deki hafif-orta



derecedeki azalmaların tespiti açısından yeterince duyarlı değildir (57). Örneğin SCr düzeyinin 0.6 mg/dl'den 1.2 mg/dl'ye yükselmesi, GFR'deki % 50 azalmayı yansıtır (58). Ancak eğer SCr düzeyini kıyaslamak için daha önceden bir bazal değer tespit edilmemişse; 1.2 mg/dl'lik bir SCr değeri normal sınırlar içinde olduğundan, klinisyenin dikkatini çekmeyecek ve GFR'de potansiyel bir azalmayı akla getirmeyecektir. Yani SCr düzeyi bariz olarak yükselmeden önce, GFR yarı yarıya azalabilir ve böylece renal hastalık tanısı çok gecikmiş olur.

Kreatinin renal tubuluslarda değişen oranlarda sekresyona uğrar ve simetidin, trimetoprim, salisilatlar, fenasemid ve siklosporin gibi ilaçlar, bu sekresyonu etkileyebilir (58). Bunun dışında SCr için bireysel varyasyon düşüktür ancak SCr düzeyleri kişiler arasında önemli varyasyonlar gösterir. Çünkü SCr; kas kitlesi, cinsiyet ve yaştan etkilenir (59). Kreatinin, tubuler sekresyonla ve gastrointestinal olarak da elimine edilir. Sonuçta GFR ile SCr arasındaki ilişki lineer değildir ve SCr, GFR'deki küçük azalmaların tespitinde hassas değildir (60).

Kreatinin 100 yılı aşkın bir süredir klinik laboratuvarlarda ölçülmektedir ve metodolojideki gelişmelere rağmen, analizlerin çoğu hala orijinal kolorimetrik Jaffé reaksiyonu üzerine kuruludur. Jaffé reaksiyonu ve geliştirilmiş olan enzimatik metotlarda daha az olmak üzere bütün yöntemler; bilirubin, hemoglobin, glukoz, ürik asit, ketonlar, plazma proteinleri ve sefalosporinler gibi maddelerle, değişik derecelerde interferans gösterirler (21,25). Genel olarak enzimatik metotlar Jaffé metodu kadar çok etkilenmeseler de, halen laboratuvarlarda en sık kullanılan temel metod Jaffé metodudur (25).

Jaffé reaksiyonunun spesifitesini artırmak ve interferansları önlemek amacıyla çeşitli yaklaşımlar denenmiştir. Bunlar arasında kreatininin selektif bir adsorbana absorpsiyonu ve ardından elüsyonu, interferans veren maddelerin Jaffé yöntemiyle reaksiyona girmeyecek reaktif türlerine oksidasyonu ve solvent ekstraksiyonu sayılabilir (45). Ancak bunlar interferansa neden olan maddelerin sadece birkaçı için uygulanabilecek yöntemlerdir ve bunlar için de halen pratik bir rutin metod geliştirilememiştir.

Sonuç olarak ölçümü kolay ve ucuz olsa da; SCr düzeyleri glomerüler filtrasyon dışında yaş, cinsiyet, kas kitlesi, diyet gibi faktörlerden ve ölçüm yöntemlerindeki interferans problemlerinden önemli ölçüde etkilenmekte ve GFR'deki değişiklikleri hassas bir biçimde yansıtamamaktadır.

Bizim hasta grubumuzda da MDRD-GFR düzeyleri 80 ml/dk/1,73 m<sup>2</sup>'nin altına düşen 12 hasta olmasına rağmen, bu gruptaki bireylerin hemen hemen hepsinde BUN, SCr ve UA düzeyleri normal aralıklar içindeydi. GFR'deki azalmayı yansıtmak açısından serum Cys C ve BMG düzeyleri ise SCr'e kıyasla daha duyarlı görünmekteydi çünkü kontrol grubundaki tüm bireylerde serum Cys C ve BMG düzeyleri normal aralıkta iken; hasta grubunda 15 bireyin BMG, 21 bireyin de Cys C düzeylerini artmış bulduk.

Birçok hastalıkta renal patolojinin tanı ve takibi amacıyla proteinüri, albüminüri, ve bazı özel durumlarda da enzimüriler kullanılmaktadır. Çalışma gruplarımızı U<sub>pro</sub> ve U<sub>alb</sub> düzeyleri açısından kıyasladığımızda; her iki parametre için hasta grubu ortalama düzeylerinin, kontrol grubu ortalama düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bulduk (U<sub>pro</sub> için p=0,021; U<sub>alb</sub> için p=0,011). Hipertansif grupta 11 bireyde proteinüri (U<sub>pro</sub>>150 mg/gün), 1 bireyde ise albüminüri (U<sub>alb</sub>>30 mg/gün) saptadık. Renal tubuler hasarın bir göstergesi kabul edilen üriner NAG aktiviteleri açısından ise hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulamadık (p=0,865).

Hasta grubumuzdaki 11 bireyde proteinüri saptanması, bu kişilerde hipertansiyona bağlı glomerüler hasar başlangıcının bir işareti olarak değerlendirildi.

Glikoprotein ve glikozaminoglikanları yıkan ve proksimal tubuler hücrelerde lokalize bir lizozomal glikozidaz olan NAG'ın molekül ağırlığı 130 bin-140 bin Da'dur. NAG; molekül ağırlığı nedeniyle glomerülden geçemediği için idrarda bulunması, proksimal tubulus hücrelerinden kaynaklandığını düşündürür. Üriner NAG düzeyinin; reno-parenkimal ya da reno-vasküler hastalığı olan hipertansif hastalarda arttığı söylenmiştir (48).

Esansiyel hipertansiyon ve üriner NAG atılımı arasındaki ilişki hakkında da çeşitli yayınlar vardır. Alderman ve ark.; kan basıncı yüksek hastalarda

herhangi bir renal hasar belirtisi olmasa bile, üriner NAG düzeylerinin arttığını ve başarılı antihipertansif tedavi ile düşürülebileceğini öne sürmüşlerdir (61).

Bazı yayınlarda üriner NAG'ın, hedef organ hasarı bulunan esansiyel hipertansiyon vakalarında yükseldiği bildirilmiştir (53). Simon ve ark.; hafif, komplikasyonsuz hipertansiyonda üriner NAG aktivitesinin arttığını bildirirken (62); Johnson ve ark. (63), Schmieder ve ark. (64) ve Abraham ve ark. (65); üriner NAG aktivitesinde artış saptamadılar. Schmieder ve ark. ayrıca antihipertansif tedavi başlamadan önce üriner NAG düzeyleri bariz olarak artmış olan hipertansif hastalarda, tedavi sırasında üriner NAG aktivitesinde anlamlı azalma olduğunu buldular. Aynı araştırmacılar; başarılı bir antihipertansif tedavinin ardından serum NAG düzeylerinin de sağlıklı normotansif bireylerdeki düzeylere indiğini saptadılar ve serum NAG'ın, üriner NAG'dan daha duyarlı olduğunu öne sürdüler (64).

Biz de hastalarımızda üriner NAG aktivitesinin, kontrol grubundan anlamlı fark göstermediğini bulduk. Bunun muhtemel nedenlerinden birisi, hastalarımızın antihipertansif tedavi alıyor olmaları olabilir. Yine bizim hasta grubumuzdaki 51 bireyin 12'sinde (yani % 23,5'inde) renal tutulum olduğu ve bu tutulumun da şiddetli olmadığı düşünülürse; hastalarımızın ortalama üriner NAG aktivitesini kontrol grubundan farklı bulmamamız, makul bir sonuçtur. Bu bakış açısıyla bizim sonuçlarımız literatürle uyumludur.

GFR tayininde SCr ölçümüyle ilgili problemlerin üstesinden gelmek amacıyla birçok formül geliştirilmiştir. Bunlardan en iyi bilinen ve en sık kullanılanı; zamanlı idrar örneği ve eş zamanlı serum örneğinde kreatinin düzeylerinin ölçülmesiyle hesaplanan CrCl'dir.

CrCl ölçümüyle, renal fonksiyon bozukluğunun daha erken ve duyarlı biçimde saptanması beklense de, klinikte CrCl'nin yararlılığı oldukça düşüktür. CrCl ile ilgili temel problemlerden birisi, 24 saatlik idrar toplama işleminin zorluğu ve standardize edilememesidir. Hastaların büyük kısmı 24 saatlik zaman zarfında çıkardıkları bütün idrarları tam olarak toplayamamaktadır. 24 saatlik idrar toplama periyodunda örneğin buzdolabında saklanması gerekmektedir ki, hastalar bunu da çoğu zaman ihmal etmektedirler. Asidik idrarın yüksek sıcaklıkta uzun

süre bekletilmesi, kreatin'in kreatinin'e dönüşümünü artırır (35). Ayrıca kreatininin proksimal tubuller tarafından sekresyona uğraması, gerçek GFR'nin % 30'a kadar varan derecelerde yüksek bulunmasına neden olur (66).

GFR tayini için geliştirilen bir diğer formül de CG formülüdür. SCr düzeyini etkileyen yaş ve ağırlık faktörleri de bu formülde yer alır. Ayrıca kadınlarda K sabiti (0,85) kullanılarak cinsiyet için de düzeltme yapılmış olur.

Biz çalışma gruplarımızdaki bireylerde, GFR tayininde kullanılan bu iki formülü ve ayrıca son yıllarda geliştirilmiş daha kapsamlı bir formül olan MDRD formülünü kullanarak GFR düzeylerini hesapladık. Ayrıca hesaplanan bütün GFR değerlerini BSA'ya göre düzelttik.

Buna göre her üç formülle hesaplanan ortalama GFR düzeyleri; hasta grubunda, kontrol grubuna kıyasla düşük olmasına rağmen, aradaki farkı sadece CG-GFR ve MDRD-GFR için istatistiksel düzeyde anlamlı bulduk (sırasıyla  $p=0,007$  ve  $p=0,000$ ). Kontrol grubunda bütün bireylerde her üç formülle hesaplanan GFR düzeyleri, GFR için alt sınır kabul ettiğimiz  $80 \text{ ml/dk/1,73 m}^2$ 'den yüksek iken, hasta grubunda 6 kişide CrCl, 3 kişide CG-GFR ve 12 kişide MDRD-GFR düzeyleri  $80 \text{ ml/dk/1,73 m}^2$ 'nin altındaydı.

Geniş çaplı klinik araştırmalarda; hesaplanan CrCl ile, izotopik bir teknikle ölçülen GFR arasındaki zayıf ilişkinin en önemli sebebinin; 24 saatlik idrar toplamadaki hatalar olduğu sonucuna varılmış ve bu çalışmalarda, zamanlı idrar örneği toplamadaki zorluklar nedeniyle CrCl hesaplamasının artık kullanılmaması gerektiği öne sürülmüştür (25).

Bizim bulgularımız da bu çalışmalarla uyumludur. Nitekim hipertansif gruptaki 6 kişide CrCl  $80 \text{ ml/dk/1,73 m}^2$ 'nin altında bulunsa da, hasta ve kontrol grupları arasında CrCl düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Bu noktadan hareketle CrCl hesaplaması yerine; SCr konsantrasyonu üzerine etki eden cinsiyet, yaş ve kas kitlesi gibi faktörlere bağlı varyasyonları dikkate alan CG ve MDRD gibi algoritmaları uygulamak daha akılcıdır.

Bu iki formül birbiriyle kıyaslandığında ise MDRD, CG'a göre çok daha güvenilir görünmektedir. Referans bir yöntemle (Iothalamate) ölçülen  $100 \text{ ml/dk}$

düzeyindeki bir GFR değeri için CG ile hesaplanan düzeyler 60 ile 170 ml/dk arasında; 50 ml/dk olarak ölçülen bir GFR düzeyi için ise 20 ile 115 ml/dk arasında değişmektedir (67).

Daha yakın bir zamanda Levey ve ark. tarafından 1628 hasta üzerinde yapılan bir çalışmayla geliştirilen, demografik ve serum biyokimyasal değişkenlerini içeren MDRD-GFR formülünün, <sup>125</sup>I-Iothalamate klirensiyle ölçülen referans GFR düzeyleriyle korelasyonunun oldukça iyi olduğu ( $R^2 = \% 90,3$ ) bulunmuştur (24). Yine aynı çalışmada, MDRD formülünün; GFR tayininde CrCl'den ve CG formülünden daha güvenilir olduğu saptanmıştır. Kreatinin atılımını etkileyen yaş, cinsiyet ve ırk gibi faktörlerin ve BUN, albümin gibi serum parametrelerinin MDRD formülünde yer alması; ayrıca 24 saatlik idrar toplama işlemine gereksinimin ortadan kaldırılmış olması, formülün geçerliliğini artıran faktörlerdir.

Biz de bütün bu avantajlarını göz önüne alarak hasta ve kontrol gruplarımızda GFR tayininde "gold standard" yöntem olarak MDRD formülünü kullandık.

Aslında GFR ölçümünde "gold standard" kabul edilen yöntem inülin klirensidir. Ancak inülin klirens ölçümü sabit infüzyon gerektirir, inülin çözünmez ve özellikle diyabetiklerde glukoz interferansı nedeniyle ölçümü zordur (58).

Ayrıca <sup>51</sup>Cr-EDTA, <sup>99m</sup>Tc-DTPA, iothalamate ya da iohexol gibi radyoaktif işaretli ya da işaretli elementlerle yapılan GFR ölçümlerinin de inülin klirensiyle % 97'nin üstünde benzerlik gösterdiği ve inülin klirensinin yerini alabilecek güvenilir yöntemler olduğu saptanmıştır (68). Ancak bu tekniklerin hepsi invaziv, pahalı, zahmetli ve zaman kaybettiricidir. Ayrıca bu yöntemler hastanın radyasyona maruz kalmasına yol açarlar ve yöntemlerin uygulanması aşamasında bu iş için özelleşmiş personel gerektirirler. Bu yüzden referans yöntemler; rutin klinik uygulamalar ya da geniş çaplı klinik araştırmalar için ideal olmaktan uzaktırlar.

Çalışma gruplarımızda renal fonksiyonun temel göstergesi kabul ettiğimiz MDRD-GFR düzeyleri ile, araştırdığımız diğer renal parametrelerin

korelasyonlarını incelediğimizde; kontrol grubunda MDRD-GFR ile en iyi korelasyon gösteren serum parametresinin Cys C ( $r = -0,622$ ;  $p=0,000$ ); hasta grubunda ise SCr ( $r = -0,760$ ;  $p=0,000$ ) olduğunu saptadık.

MDRD-GFR ile diğer GFR göstergeleri olan CG-GFR ve CrCl arasındaki korelasyonları değerlendirdiğimizde ise; kontrol grubunda CG-GFR ile MDRD-GFR arasındaki korelasyonun ( $r = 0,707$ ;  $p=0,000$ ); CrCl ile MDRD-GFR arasındaki korelasyondan ( $r = 0,387$ ;  $p=0,038$ ) daha iyi olduğunu bulduk. Farklı olarak hasta grubunda sadece CG-GFR, MDRD-GFR ile anlamlı korelasyona sahipken ( $r = 0,650$ ;  $p=0,000$ ), bu grupta CrCl ile MDRD-GFR arasında anlamlı korelasyon saptanamadı ( $r = 0,040$ ;  $p=0,779$ ).

Cys C ve SCr'in korelasyonlarını kıyaslamak üzere yapılan çalışmaların bazılarında Cys C ile SCr birbirine denk bulunurken, büyük çoğunluğunda Cys C'nin GFR ile korelasyonunun, SCr'den üstün olduğu saptanmıştır.

Dharnidharka ve ark.; referans bir metodla GFR ölçümü yaparak Cys C ve SCr'nin güvenilirliklerini kıyaslayan çeşitli çalışmaları toplu olarak inceledikleri meta-analizde;  $1/\text{Cys C}$ 'nin GFR ile korelasyonunun ( $r = 0,816$ )  $1/\text{SCr}$ 'den üstün olduğunu ( $r = 0,742$ ) bulmuşlardır (68).

Bazı çalışmalarda böbrek yetmezliğinin derecesi arttıkça GFR ile Cys C arasındaki korelasyonun arttığı bulunmuştur (28,68,69).

Bizim 51 kişiden oluşan hasta grubumuzda MDRD-GFR düzeyi  $80 \text{ ml/dk/1,73 m}^2$ 'nin altında olan birey sayısı 12 idi yani hastalarımızın % 23,5'inde renal tutulum vardı ve bu 12 hastadan MDRD-GFR değeri en düşük olan hastanın GFR'si  $59,36 \text{ ml/dk/1,73 m}^2$  idi. Yani bizim hastalarımızın % 76,5'inde renal tutulum yoktu, % 23,5'inde ise hafif renal tutulum söz konusuydu. Dolayısıyla MDRD-GFR ile Cys C arasındaki korelasyonu çok yüksek bulmamamızın nedeni, hastalarımızda MDRD-GFR düzeylerinin çok düşük olmaması, yani renal tutulumun hafif olması ve GFR düzeylerinin geniş bir aralıkta dağılmaması olabilir.

Ancak korelasyon katsayıları, sadece parametreler arasındaki lineer bir ilişkiyi yansıtabilirler ve tanısal güvenilirliği her zaman gösteremeyebilirler. Bir test, referans kabul edilen yöntemle çok yüksek korelasyon gösterdiği halde; ilgili

parametrenin gerçek değerlerinin olduğundan daha yüksek ya da daha düşük bulunmasına neden olabilir. Bu yüzden sensitivite, spesifite, PPV ve NPV gibi testlerle değerlendirme yapmak daha doğrudur (68).

Bir testin sensitivitesi, testin doğru olarak gösterdiği, belli bir hastalığa sahip olanların oranıdır. Spesifite ise, testin doğru olarak gösterdiği, hastalığı olmayanların oranıdır. Buna göre; bizim hasta grubumuzda sensitivitesi en yüksek parametre SCr idi (% 100). Cys C'nin ise % 91,7 sensitivitesi olduğunu bulduk. Spesifitesi en yüksek parametreler ise Cys C ve BMG idi ve her ikisinin de spesifitesi % 89,7 idi.

Parametrelerin daha ileri düzeyde istatistiksel analizini yapmak için PPV ve NPV değerlerini de hesapladık.

Prediktif değer, laboratuvar testinin uygulanmakta olduğu topluluktaki hastalığın yaygınlık oranına, yani prevalansına göre, testin doğru tanı koydurma olasılığıdır.

PPV; testin uygulandığı toplulukta (+) sonucu olanların, gerçekte hasta olma olasılığıdır. NPV ise; testin uygulandığı toplulukta (-) sonucu olanların, gerçekte hasta olmama olasılığıdır. Spesifite PPV'yi, sensitivite ise NPV'yi etkiler.

Bizim hasta grubumuzda PPV'si en yüksek parametre Cys C iken (% 73,25), NPV'si en yüksek parametre ise SCr idi (% 100). Cys C'nin NPV'si de oldukça yüksekti (% 97,24).

Bir testin tanısalsal performansı değerlendirilirken PPV, NPV'den daha sık kullanılmakta ve daha anlamlı kabul edilmektedir. Buna göre Cys C'nin, tanısalsal açıdan en iyi parametre olduğunu rahatlıkla söyleyebiliriz. Nitekim ROC analiz sonuçlarımız da bu bulguyu desteklemektedir.

Klinik bir bozukluğun tespitinde belli bir testin performansı, sensitivite ve spesifite ile ölçülür. Ancak rakamsal olarak ifade edilen testler için sensitivite ve spesifite, olası cut-off değerlerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bu da testlerin tanısalsal güvenilirliklerinin kıyaslanmasını zorlaştırır (60,70). Bu problemin czm, ROC eğrilerinin czilmesidir.

ROC analizinde ilgili testin bütün olası cut-off değerleri için gerçek pozitiflik (sensitivite) oranlarına karşılık gelen yanlış pozitiflik (1-spesifite) oranları noktasal olarak belirlenir; daha sonra bu noktalar birleştirilerek eğriler çizilir (60). İdeal bir testin sensitivitesi 1'e eşit, spesifitesi de 1'e eşit (dolayısıyla 1-spesifitesi sıfıra eşit) olmalıdır.

ROC eğrisi altında kalan alan (AUC), bir testin tanısal etkinliğinin en önemli ölçütüdür. Bu alan daima 0,5'ten büyüktür. AUC değerleri 1 (hasta ve kontrol grupları arasında ilgili test ile ideal ayrımın yapılabilmesi) ile 0,5 (hasta ve kontrol gruplarının ilgili test açısından farklı dağılım göstermemesi) arasında değişir (28). Her cut-off değeri için sensitivite ve spesifite ne kadar yüksekse, ROC eğrisi grafiğin sol üst köşesine o kadar yakın ve AUC de o kadar büyük olur (70).

ROC eğrileri bir testin hasta ve sağlıklı kişileri ayırdedici gücünün değerlendirilmesi açısından son yıllarda oldukça popüler hale gelmiştir. Basit, grafiksel ve kolay anlaşılabilir olan bu eğriler sayesinde, farklı testlerin aynı grafik üzerinde kıyaslanabilmesi de mümkündür.

Biz de hipertansif nefropatinin erken bir tanısal göstergesi olabileceğini düşündüğümüz Cys C için, Med Calc istatistik programını kullanarak ROC eğrilerini çizdik. Ayrıca diğer sık kullanılan renal parametreler olan SCr, BUN, UA, BMG, CG-GFR ve CrCl için de ROC eğrilerini çizerek, parametreleri AUC bakımından birbirleriyle kıyasladık. Testlerin sensitivite, spesifite, PPV ve NPV değerlerini de yine aynı istatistik programıyla hesapladık.

Parametreleri, ROC eğrileri altında kalan alanlar bakımından kıyasladığımızda; Cys C'nin diğer testlerden üstün olduğunu saptadık (AUC=0,900; % 95 CI=0,783-0,966). Eğri altında kalan alanları istatistiksel olarak kıyasladığımızda aradaki farkın sadece CG-GFR, CrCl ve BUN için anlamlı olduğunu (sırasıyla p=0,043; p=0,002 ve p=0,026) bulduk. ROC analizi sonuçlarına göre tanısal değeri en düşük olan parametre CrCl idi (AUC=0,598). Ayrıca SCr ve BMG de CrCl'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (sırasıyla p=0,015 ve p=0,014) üstündü.



Laterza ve ark.; Haziran 2000-Eylül 2001 tarihleri arasında yayınlanmış Cys C ile ilgili yayınları taramışlar; bunlardan 75'den fazla kişi üzerinde çalışılmış olanları ve/veya "gold standard" yöntemle GFR tayini yapmış olanları çalışmaya dahil ederek bir analiz yapmışlardır (21). Bu analiz sonucunda Cys C'nin SCr'den üstün olduğunu, çünkü ROC eğrileri altında kalan alanların Cys C için 0,95; SCr için 0,91 olduğunu ( $p=0,003$ ) bulmuşlardır. Erişkin hasta gruplarında yapılan 9 çalışma ele alındığında aradaki farkın daha da belirgin olduğunu (AUC Cys C için 0,96; SCr için 0,91;  $p=0,024$ ) saptayan araştırmacılar, GFR'deki bozulmanın tespitinde Cys C'nin SCr'den üstün olduğu sonucuna varmışlardır.

Benzer şekilde Newman; literatürdeki Cys C ile ilgili yayınların genel bir değerlendirmesini yaparak; ROC eğrisi altında kalan alanları kıyaslayan çalışmaların çoğunda Cys C'nin SCr'den üstün olduğunu, Cys C'nin daha iyi performans gösteremediği çalışmalarda da iki parametrenin yararlılıklarının eşit olduğunu vurgulamıştır (25).

Dharnidharka ve ark. da; birçok çalışmanın verilerini kombine ederek yaptıkları istatistiksel analizler sonucunda Cys C'nin hem korelasyon katsayıları, hem de ROC eğrileri altında kalan alanlar bakımından SCr'den üstün olduğunu göstermişlerdir (68).

Mussap ve ark.; tip 2 diyabetli hastalarda diyabetik nefropatinin erken tanısına yönelik olarak yaptıkları çalışmada, Cys C'nin; hem SCr'den hem de CG-GFR'den üstün olduğunu buldular (28).

Bütün bu veriler göz önüne alındığında, bizim sonuçlarımızın literatürle uyumlu olduğunu söyleyebiliriz. Gerçekten de Cys C için ROC eğrisi altında kalan alan, diğer parametrelerin alanlarından fazladır (Tablo 4.12.). Ancak biz, Cys C ile diğer testler arasındaki bu farkın sadece CG-GFR ve CrCl için istatistiksel düzeyde anlamlı olduğunu bulduk. Bunun olası nedenleri arasında;

1. hasta sayımızın yeterli olmaması,
2. GFR ölçümünde referans kabul edilen bir yöntem kullanmamış olmamız,
3. hasta grubumuzdaki bireylerde renal tutulumu olanların sayısının az olması,

4. ve bu tutulumun hafif düzeyde olması sayılabilir.

Eğer hipertansif hasta sayısı daha fazla olsaydı ve bu hastalar, renal fonksiyon açısından daha geniş bir yelpazede dağılsaydı, eğri altında kalan alanlar arasında saptadığımız farkı, istatistiksel düzeyde de anlamlı bulabilirdik.

Birçok düşük molekül ağırlıklı protein, glomerüler filtrasyonla böbrekler tarafından plazmadan temizlenir. Çeşitli düşük molekül ağırlıklı proteinlerin plazma düzeylerinin ölçümünün; GFR'deki bozulmayı değerlendirmek için yararlı olacağı öne sürülmüştür ki bunlardan bir tanesi BMG'dir. Yapılan birçok çalışmada BMG'nin en az SCr kadar iyi bir GFR göstergesi olduğu öne sürülmüştür.

Donadio ve ark.; Cys C ve BMG'nin tanısal doğruluğunun SCr ile çok benzer olduğunu bulmuşlardır (71). Filler ve ark. ise; hem Cys C, hem de BMG'nin, bozulmuş GFR tayininde SCr'den daha yüksek tanısal duyarlılığa sahip olduğunu tespit etmişlerdir (72,36).

Biz; AUC bakımından BMG'nin SCr ve Cys C'ye benzer olduğunu bulduk (BMG için  $AUC=0,835$ ). Hasta grubunda Cys C ile en iyi korelasyon gösteren parametre BMG idi ( $r= 0,714$ ;  $p=0,000$ ). MDRD-GFR ile BMG'nin korelasyonu ise hem hasta hem de kontrol grubunda SCr ve Cys C'den düşüktü (Tablo 4.5 ve 4.6). Bu sonuçlara göre BMG de Cys C gibi güvenli bir GFR göstergesi olabilir. Ancak BMG'nin çok önemli bir dezavantajı, üretim hızının çeşitli malignensilerde ve infeksiyon hastalıklarında, özellikle de lenfoproliferatif hastalıklarda artmasıdır (72). Çünkü bu protein, histokompatibilite antijen kompleksinin bir parçasıdır ve özellikle lenfositler tarafından üretilir (73). Dolayısıyla serumdaki konsantrasyonu GFR dışında başka faktörlerden de önemli ölçüde etkilenir.

Renal fonksiyonu değerlendirmek üzere kullanılacak olan ideal bir endojen GFR göstergesinin şu özelliklere sahip olması gerekir:

1. Vücutta üretim hızı sabit olmalı.
2. Glomerüllerden serbestçe süzülmesi.
3. Proksimal ya da distal tubulde reabsorpsiyon ya da sekresyona uğramamalı.

4. Dolaşımdan sadece glomerüler filtrasyon yoluyla temizlenmeli, yani böbrek dışında eliminasyona uğramamalı.
5. Dolaşımdaki düzeyi stabil olmalı; diğer patolojik değişikliklerden etkilenmemeli.
6. Proteine bağlı olmamalıdır (20,25,57).

En sık kullanılan renal gösterge olan SCr, bu kriterlerden sadece bir tanesine sahiptir ki o da glomerüllerden serbestçe süzülmesidir. GFR'nin analitik ve klinik bir ölçütü olarak SCr'nin kullanımını sınırlandıran faktörler özetlenecek olursa;

- Endojen kreatinin üretim hızı üzerine yaş, cinsiyet, kas kitlesi gibi bireysel faktörlerin etki etmesi,
- Kreatininin renal tubuluslardan sekresyonu ve reabsorpsiyonu,
- Kreatin ve kreatininin diyetten etkilenmesi,
- Kreatininin kolorimetrik ölçüm metodu olan Jaffé reaksiyonu ile ilgili analitik interferans problemleri sayılabilir.

SCr ile ilgili bu problemler, kreatinine dayalı bir ölçüt olan CrCl için de geçerlidir. Üstelik 24 saatlik idrar toplama ile ilgili sorunlar, CrCl kullanımını daha çok sınırlandırmaktadır.

Eğer SCr ile ilgili olumsuzluklar bunlarsa; SCr'nin yerine geçecek olan analitte hangi özellikleri aramamız gerekir?

- Kreatinin, tam otomatize analizörlerde ölçülebildiğine göre, bunun yerine geçecek olan analitin de aynı analizörlerde ölçülebilir olması gerekir.
- CG gibi algoritmaların kullanımıyla SCr'nin sensitivitesi artırılabilir, bunun yerine geçecek analitin yaş, boy, ağırlık, cinsiyet vs gibi faktörler için herhangi bir düzeltme gerektirmemesi; sadece serum düzeyi ölçümünün yeterli olması ve bu düzeyin yorumlanması için demografik verilere ihtiyaç duyulmaması gerekir.
- Serum düzeyi diyetten etkilenmemelidir.
- Yeni analit için seçilen ölçüm yönteminin; bilirubin, hemoglobin, glukoz, ketonlar vs ile interferansı olmaması gerekir.

Bütün bu saydığımız faktörler ve ideal bir endojen GFR göstergesinde aranan özellikler birlikte düşünülürse Cys C, aranan özelliklerin tümüne sahiptir:

- ❖ Endojen bir göstergedir ve üretim hızı sabittir.
- ❖ Renal glomerüllerden serbestçe süzülür, tubuler reabsorpsiyon ya da sekresyona uğramaz.
- ❖ İnflamatuvar durumlar, yaş, boy, ağırlık ve cinsiyetten etkilenmez; bu yüzden serum düzeyi, herhangi bir düzeltme yapılmaksızın yorumlanabilir.
- ❖ Serum düzeyi diyetten etkilenmez.
- ❖ Gün içinde varyasyon göstermez (75).
- ❖ 1 yaşından büyük çocuklarda ve erişkinlerde aynı referans aralığı kullanılabilir.
- ❖ Son yıllarda geliştirilmiş olan PETIA ve PENIA yöntemleriyle tam otomatize ölçümü yapılabilir; bu yöntemler hızlı, pratik ve güvenlidir ve günlük rutin uygulamaya elverişlidir.
- ❖ Otomatize ölçüm yöntemleri; bilirubin, hemoglobün, glukoz, ketonlar vs ile interferans göstermez.
- ❖ Tek bir serum örneğinden ölçümü yapılabilir, referans GFR yöntemlerindeki invaziv işlemler ya da radyoaktiviteye maruz kalma gibi sorunlar Cys C için geçerli değildir.
- ❖ Serum Cys C düzeyi ölçümü, bizim kullandığımız PENIA yöntemiyle 6 dk içinde yapılabilir.
- ❖ GFR'de meydana gelen minör değişikliklere oldukça duyarlıdır. SCr ise GFR'de ancak % 50 azalma olduğunda yükselmeye başlar.

Sonuç olarak Cys C her bakımdan SCr ve CrCl'den üstündür.

Klinik uygulamada GFR tayininin en önemli amaçlarından birisi; hafif renal disfonksiyonu olan kişilerin tespiti ve izlenmesidir. Bu durum özellikle DM ve hipertansiyon gibi, zaman içinde böbreklerde hasarlanmanın meydana geldiği kronik hastalıklarda önem kazanmaktadır.

Böbreklerdeki fonksiyonel azalmanın minimal düzeyde olduğu dönemlerde SCr ve CrCl son derece yetersiz kalmaktadır ve bu dönemler SCr için "kör aralık"

ya da “gri zon” olarak tanımlanmaktadır. Cys C ise GFR’si 80 ml/dk/1,73 m<sup>2</sup> civarlarında, SCr ve CrCl düzeyleri normal aralıklar içinde olan asemptomatik renal disfonksiyonlu hastaların saptanması açısından son derece duyarlı bir göstergedir.

Çeşitli hasta gruplarında özellikle renal tutulumun erken dönemde saptanmasında Cys C’nin rolüne yönelik çeşitli çalışmalar bulunsa da (28,35,76, 77); literatürde esansiyel hipertansiyonlu hastalarda hipertansif nefropatinin erken tanısında Cys C’nin yerini araştırmaya ve diğer renal parametrelerle kıyaslamaya yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamız bu yönde yapılmış ilk araştırma olması açısından önem taşımaktadır.

“Türkiye’de Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması”nda ülkemizdeki erkeklerin % 26’sında, kadınların ise % 40’ında kan basıncının 160/95 mmHg’nin üzerinde olduğu saptanmıştır (78). Toplumumuzda sayısı bu kadar fazla olan esansiyel hipertansiyonlu hastaların önemli bir kısmında (bizim çalışmamıza göre %23,5’inde) erken dönemde saptanması gereken renal fonksiyon kaybı ve GFR azalması bulunmaktadır. Serum Cys C ölçümü, hipertansif hastalarda GFR’deki azalmanın erken dönemde saptanmasına olanak tanınması açısından, yaygın kullanım alanına sahip olan SCr ve CrCl’ne kıyasla çok daha duyarlı ve güvenilir bir göstergedir.

Serum Cys C düzeylerinde göze çarpan bir artış, GFR’deki azalmanın daha erken ve hızlı tanınmasına ve gereken tedavi düzenlemelerine daha erken başlanmasına imkan tanır.

Ayrıca bizim Cys C ölçümü için kullanmış olduğumuz ve hastanemizde rutin uygulamaya kazandırmayı hedeflediğimiz nefelometrik yöntemin, kolorimetrik kreatinin ölçümlerine kıyasla güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği daha yüksektir; daha da önemlisi bu yöntem, interferansa neden olan maddelerden etkilenmemekte ve 6 dk gibi kısa bir zaman diliminde sonuç vermektedir.

Hastanemizdeki rutin laboratuvar uygulamasında Cys C ile ilgili tek dezavantaj; SCr’e göre daha pahalı olmasıdır. Ancak radyoaktif işaretli elementler kullanılarak yapılan GFR ölçümleriyle kıyaslandığında Cys C daha ucuzdur. Ayrıca sahip olduğu bütün olumlu özellikler bir arada değerlendirildiğinde ve

özellikle kısa zaman içinde güvenilir bir şekilde sonuç alınabildiği dikkate alındığında; Cys C'nin maliyeti göz ardı edilebilecek bir faktördür.

Sonuç olarak esansiyel hipertansiyonlu hastalarda böbrek tutulumunun erken dönemde saptanmasında Cys C'nin önemini araştırmaya yönelik olarak yaptığımız bu çalışmada, Cys C'nin; daha önceki yayınlarda bildirilen diğer hasta gruplarıyla benzer olarak bu hasta grubunda da erken renal tutulumu güvenli, hızlı ve kolay biçimde gösterdiğini ve yaygın olarak kullanılmakta olan SCr, CrCl, CGFR BUN, UA gibi parametrelerden üstün olduğunu saptadık.

Hastanemizde serum Cys C düzeyi ölçümünün, rutin kullanıma girmesiyle sadece hipertansif hastalarda değil, GFR ve renal fonksiyon değerlendirmesinin büyük önem taşıdığı diyabet, diyaliz, böbrek transplantasyonu, böbrek yetmezliği, hepatik siroz, ilaç nefrotoksitesi gibi patolojilerde de büyük yarar sağlayacağı inancındayız.

## ÖZET

Bu çalışmada esansiyel hipertansiyona bağlı böbrek hasarının erken dönemde saptanabilmesi açısından, yeni bir belirteç olan Cys C'nin önemini ve diğer parametrelere olan üstünlüklerini araştırdık.

Esansiyel hipertansiyon tanısı almış olan 30-60 yaş arasındaki 24 erkek ve 27 kadından oluşan hasta grubu ile; yaş ve cins açısından hasta grubuyla uyumlu, sağlıklı 11 erkek ve 18 kadından oluşan kontrol grubu üzerinde çalıştık.

Bütün bireylerin serum Cys C, BUN, SCr, UA, BMG düzeyleri; 24 saatlik idrarda protein, albümin ve kreatinin düzeyleri ve NAG aktiviteleri ölçüldü. GFR düzeyleri; CrCl, CG ve MDRD formülleri kullanılarak, her birey için ayrı ayrı hesaplandı.

Hasta grubunda serum parametrelerinin ortalama düzeylerinin, kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu ( $p<0,05$ ).  $U_{pro}$  ve  $U_{alb}$  düzeyleri, hasta grubunda kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek iken (sırasıyla  $p=0,021$  ve  $p=0,011$ ); üriner NAG aktiviteleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı. Hasta grubunda ortalama CrCl, CG-GFR ve MDRD-GFR düzeyleri kontrol grubundan düşüktü ancak aradaki fark sadece CG-GFR ve MDRD-GFR için istatistiksel olarak anlamlıydı. MDRD-GFR ile en güçlü korelasyon gösteren serum parametresi, hasta grubunda SCr, kontrol grubunda ise Cys C idi. Hasta grubunda sadece CG-GFR, kontrol grubunda ise hem CG-GFR, hem de CrCl; MDRD-GFR ile pozitif korelasyona sahipti.

Parametrelerin ROC eğrileri çizildiğinde eğri altında kalan alanlar bakımından Cys C'nin diğer parametrelere göre üstün olduğu bulundu (Cys C için  $AUC=0,900$ ). ROC eğrisi altında kalan alanlara göre tanısal güvenilirliği en düşük olan parametre CrCl idi.

Sonuç olarak, esansiyel hipertansiyonlu hastalarda Cys C, erken renal tutulumu hızlı, hassas, güvenli ve kolay bir biçimde göstermektedir. Güvenilirliği, ölçüm kolaylığı, analitik sensitivite ve spesifitesi açısından Cys C, diğer parametrelere üstündür.

**Anahtar Kelimeler:** Cystatin C, GFR, Esansiyel Hipertansiyon, MDRD.

## KAYNAKLAR

1. Kumbasar A. Arteriyel Hipertansiyon. İçinde: İliçin G, Ünal S, Biberoglu K, Akalin S, Süleymanlar G (ed): Temel İç Hastalıkları. Güneş Kitabevi, Ankara, 1996: S. 267-284.
2. Berkow R. The Merck Manual Teşhis ve Tedavi El Kitabı. Merk Yayıncılık AŞ, İstanbul, 1987: 264-433.
3. Erek E. Nefroloji. İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi, İstanbul, 1995: 168-203.
4. Khyse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G, Andersson B, Nilsson-Ehle P, Lindström V et al. Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. Clin Chem 1994; 40:1921-1926.
5. Finney H, Newman DJ, Gruber W, Merle P, Price CP. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring Nephelometer Systems (BNA, BN II). Clin Chem 1997; 43:1016-1022.
6. Opsahl JA, Abraham PA, Halstenson CE, Keane WF. Correlations of office and ambulatory blood pressure measurements with urinary albumin and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase excretions in essential hypertension. Am J Hypertens 1998 Jul; 1(3 Pt 3):117S-120S.
7. Nolan CR. Vural A (çeviri ed). Hipertansiyonlu Hasta. İçinde: Schrier RW. Süleymanlar G (çeviri ed): Nefroloji El Kitabı. Güneş Kitabevi, Ankara, 2000: S: 231-264.
8. Arık N, Korkmaz M. Hipertansiyona Giriş, Tanımlamalar ve Klinik Değerlendirme. İçinde: Prof. Dr. Nurol Arık (ed): Nefroloji. Deniz Matbaacılık, İstanbul, 2001: S. 268-274.
9. Kaplan NM. Primary Hypertension: Pathogenesis. In: Kaplan NM (ed): Clinical Hypertension. Williams & Wilkins, Baltimore, 1998: 41-99.
10. Harrap SB. Hypertension: genes versus environment. Lancet 1994; 344: 169-171.



11. Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV et al. Molecular basis of human hypertension; Role of angiotensinogen. *Cell* 1992; 71: 169-172.
12. Cusi D, Barlassina C, Azzani T et al. Polymorphisms of alpha-adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension. *Lancet* 1997; 349: 1353-1355.
13. Isles C. Pathophysiology of Hypertension. In: Campbell RWF, Francis GS (eds): *International Handbook of Hypertension*. Hoechst Marion Roussel, Bridgewater, 1997: 19-30.
14. Swales JD. *Manual of Hypertension*. Blackwell Science, Oxford, 1995: 45-60.
15. Soleimani M, Singh G. Physiologic and molecular aspects of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchangers in health and disease processes. *J Invest Med* 1995; 43: 419-430.
16. Caetano EP, Zatz R, Praxedes JN. The clinical diagnosis of hypertensive nephrosclerosis-how reliable is it? *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 288-290
17. Freedman BI, Iskandar SS, Appel R. The link between hypertension and nephrosclerosis. *Am J Kidney Dis* 1995 Feb; 25(2): 207-221.
18. Ruilope LM, Rodicio JL. Renal surrogates in essential hypertension. *Clin and Exper Hypertension* 1999; 21(5 & 6), 609-614.
19. Ruilope LM, Rodicio JL. The kidney in arterial hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(suppl 1): 50-52.
20. Price CP, Finney H. Developments in the assessment of glomerular filtration rate. *Clinica Chimica Acta* 2000 July; 297(1-2): 55-66.
21. Laterza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: An improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem* 2002; 48(5): 699-707.
22. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO et al. Serum Cystatin C measured by automated immunoassay: A more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int* 1995; 47: 312-318.
23. Newman DJ, Price CP. Renal Functions and Nitrogen Metabolites In *Textbook of Clinical Chemistry*, Ed. By Tietz NW. WB Saunders Company, Philadelphia; 1204-1270, 1999.

24. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinin: a new prediction equation. *Ann Intern Med* 1999; 130: 461-470.
25. Newman DJ. Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 89-104.
26. Randers E, Erlandsen EJ. Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37(4): 389-395.
27. Reed CH. Diagnostic applications of Cystatin C. *British J Biomed Sci* 2000; 57: 323-329.
28. Mussap M, Vestra MD, Fioretto P, Saller A, Varagnolo M, Nosadini R et al. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int* 2002; 61(4): 1453-1461.
29. Galteau MM, Guyon M, Gueguen R, Siest G. Determination of serum Cystatin C: Biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39(9): 850-857.
30. Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW. Biological variation of Cystatin C: Implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 1998; 44(7): 1535-1539.
31. Randers E, Kornerup K, Erlandsen EJ, Hasling C, Danielsen H. Cystatin C levels in sera of patients with acute infectious diseases with high C-reactive protein levels. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; 61: 333-336.
32. Kos J, Stabuc B, Cimernan N, Brünner N. Serum Cystatin C, a new marker of glomerular filtration rate, is increased during malignant progression. *Clin Chem* 1998; 44: 2556-2557.
33. Pergande M, Jung K. Sandwich enzyme immunoassay of Cystatin C in serum with commercially available antibodies. *Clin Chem* 1993; 39(9): 1885-1890.
34. Finney H, Newman DJ, Thakkar H, Fell JME, Price CP. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates and older children. *Arch Dis Child* 2000; 82: 71-75.
35. Coll E, Botey A, Alvarez L, Poch E, Quinto L, Saurina A et al. Serum Cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration

- rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis* 2000 Jul; 36(1):29-34.
36. Filler G, Witt I, Priem F, Ehrich JHH, Jung K. Are Cystatin C and  $\beta_2$ -Microglobulin better markers than serum creatinine for prediction of a normal glomerular filtration rate in pediatric subjects? *Clin Chem* 1997; 43(6): 1077-1078.
  37. Burkhardt H, Bojarsky G, Gretz N, Gladish R. Creatinine clearance, Cockcroft-Gault formula and Cystatin C: Estimators of true glomerular filtration rate in the elderly? *Gerontology* 2002; 48: 140-146.
  38. Le Bricon T, Thervet E, Froissart M, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C et al. Plasma Cystatin C is superior to 24-h creatinine clearance for estimation of glomerular filtration rate 3 months after kidney transplantation. *Clin Chem* 2000; 46: 1206-1207.
  39. Le Bricon T, Thervet E, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C, Erlich D. Changes in plasma Cystatin C after renal transplantation and acute rejection in adults. *Clin Chem* 1999; 45(12): 2243-2249.
  40. Risch L, Blumberg A, Huber A. Rapid and accurate assessment of glomerular filtration rate in patients with renal transplants using serum Cystatin C. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1991-1996.
  41. Kos J, Werle B, Lah T, Brunner N. Cysteine proteinases and their inhibitors in extracellular fluids: markers for diagnosis and prognosis in cancer. *Int J Biol Markers* 2000 Jan-Mar; 15(1): 84-89.
  42. Poteryaeva ON, Falameeva OV, Zhanaeva SY, Svechnikova IG, Korolenko TA, Kaledin VI. Role of Cystatin C and cysteine proteinases in the development of mouse L-S-lymphosarcoma. *Bull Exp Biol Med* 2001 Jul; 132(1): 675-677.
  43. Shi G-P, Sukhova GK, Grubb A, Ducharme A, Rhode LH, Lee RT et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms. *J Clin Invest* 1999; 104: 1191-1197.

44. Takeuchi M, Fukuda Y, Nakano I, Katano Y, Hayakawa T. Elevation of serum Cystatin C concentrations in patients with chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001 Aug; 13(8): 951-955.
45. Demirtas S, Bozbas A, Akbay A, Yavuz Y, Karaca L. Diagnostic value of serum Cystatin C for evaluation of hepatorenal syndrome. *Clin Chim Acta* 2001 Sep; 311(2): 81-89.
46. Woitas RP, Stoffel-Wagner B, Flommersfeld S, Poege U, Schiedermaier P, Klehr H et al. Correlation of serum concentrations of Cystatin C and creatinine to inulin clearance in liver cirrhosis. *Clin Chem* 2000; 46(5): 712-715.
47. Hansen T, Petrow PK, Gaumann A, Keyszer GM, Eysel P, Eckardt A et al. Cathepsin B and its endogenous inhibitor Cystatin C in rheumatoid arthritis synovium. *J Rheumatol* 2000; 27: 859-865.
48. Kohno M, Kanayama Y, Yasunari K, Kawarabayashi T, Murakawa K, Takeuchi K et al. Significance of the measurement of urinary alanine aminopeptidase and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase activity in evaluating patients with essential hypertension. *Clin and Exper -Theory and Practice* 1985; A7(10): 1347-1360.
49. Agirbasli M, Radhakrishnamurthy B, Jiang X, Bao W, Berenson GS. Urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase changes in relation to age, sex, race and diastolic and systolic blood pressure in a young adult biracial population. *American Journal of Hypertension* 1996; 9:157-161.
50. Numata Y, Morita A, Kosugi Y, Shibata K, Takeuchi N, Uchida K. New sandwich ELISA for human urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase isoenzyme B as a useful clinical test. *Clin Chem* 1997; 43: 567-574.
51. Shilbasaki T, Gomi H, Ishimoto F, Miyahara T. Urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase isoenzyme activity as measured by fast protein liquid chromatography in patients with nephrotic syndrome. *Clin Chem* 1990; 36(1): 102-103.

52.  $\alpha$ -Glucosidase and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase isoenzymes in serum. Coma P, Gomez-Chacon L, Garcia-Serrano B, Fernandez E, Ortiz-Apodaca MA. *Clin Chem* 1992; 38(2): 223-226.
53. Hashimoto R, Adachi H, Nishida H, Tsuruta M, Nomura G. Serum N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase activity in predicting the development of hypertension. *Hypertension* 1995; 25: 1311-1314.
54. Crippa G. Microalbuminuria in essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2002 Mar; 16 Suppl 1:S74-7.
55. Ruilope LM. Kidney dysfunction: a sensitive predictor of cardiovascular risk. *Am J Hypertens* 2001 Jun; 14(6 Pt 2):213S-217S.
56. Pontremoli R, Nicoletta C, Viazzi F, Ravera M, Sofia A, Berutti V et al. Microalbuminuria as an early marker of target organ damage in essential hypertension. *Am J Hypertens* 1998 Apr; 11(4 Pt 1):430-8.
57. Swan SK. The search continues-an ideal marker of GFR. *Clin Chem* 1997; 43: 913-914.
58. Randers E, Kristensen JH, Erlandsen EJ, Danielsen H. Serum Cystatin C as a marker of the renal function. *Scand J Clin Lab Invest* 1998; 58: 585-592.
59. Deinum J, Derkx FHM. Cystatin for estimation of glomerular filtration rate? *The Lancet* 2000; 356: 1624-1625.
60. Harmoinen APT, Kouri TT, Wirta OR, Lehtimaki TJ, Rantalaiho V, Turjanmaa VMH et al. Evaluation of plasma Cystatin C as a marker for glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes. *Clinical Nephrology* 1999; 52(6): 363-370.
61. Alderman MH, Melcher L, Drayer DE, Reidenberg MM. Increased excretion of urinary N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase in essential hypertension and its decline with antihypertensive therapy. *N Engl J Med* 1983; 309: 1213-1217.
62. Simon G, Morioka S, Snyder DK. Increased serum and urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase activity in human hypertension: early indicator of renal dysfunction. *Clin Exp Hypertens-Theory Pract* 1984; A<sub>6</sub>(4): 879-896.
63. Johnson IDA, Jones NF, Scoble JE et al. The diagnostic value of urinary enzyme measurements in hypertension. *Clin Chim Acta* 1983; 133: 317-325.

64. Schmieder RE, Rockstroh JK, Münch HG, Rüdell H, Schlebusch H. Elevated serum activity of N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase in essential hypertension: diagnostic value and reversal to normal values after antihypertensive therapy. *Am J Kidney Dis* 1991; 18: 638-648.
65. Abraham PA, Mascioli SR, Launer CA et al. Urinary albumin and N-acetyl- $\beta$ -D-glucoaminidase excretions in mild hypertension. *Am J Hypertens* 1994; 7: 965-974.
66. Finney H, Bates CJ, Price CP. Plasma Cystatin C determinations in a healthy elderly population. *Arch Gerontol Geriatr* 1999; 29: 75-94.
67. Payne RB. Creatinine clearance and glomerular filtration rate. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 98-99.
68. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum Cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta analysis. *Am J Kidney Dis* 2002; 40(2): 221-226.
69. Mussap M, Ruzzante N, Varagnolo M, Plebani M. Quantitative automated particle-enhanced immunonephelometric assay for the routinary measurement of human cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36(11): 859-865.
70. Harmoinen A. Evaluation and improvement of clinical chemical laboratory tests for glomerular filtration. Academic Dissertation. University of Tampere, 2001.
71. Donadio C, Lucchesi A, Ardini M, Giordani R. Cystatin C,  $\beta_2$ -Microglobulin and retinol-binding protein as indicators of glomerular filtration rate: comparison with plasma creatinine. *J Pharm Biomed Anal* 2001; 24: 835-842.
72. Filler G, Priem F, Lepage N, Sinha P, Vollmer I, Clark H et al.  $\beta$  Trace protein, cystatin C,  $\beta_2$ -Microglobulin and creatinine compared for detecting impaired glomerular filtration rates in children. *Clin Chem* 2002; 48(5): 729-736.
73. Woitas RP, Wagner BS, Poege U, Schiedermaier P, Spengler U, Sauerbruch T. Low molecular weight proteins as markers for glomerular filtration rate. *Clin Chem* 2001; 47(12): 2179-2180.

74. Bostom AG, Dworkin LD. Cystatin C measurement: Improved detection of mild decrements in glomerular filtration rate versus creatinine-based estimates? *Am J Kidney Dis* 2000; 36(1): 205-207.
75. Cimerman N, Brguljan PM, Krasovec M, Suskovic S, Kos J. Twenty-four hour variations of Cystatin C and total cysteine proteinase inhibitory activity in sera from healthy subjects. *Clin Chim Acta* 2000; 291: 89-95.
76. Kazama JJ, Kutsuwada K, Ataka K, Maruyama H, Gejyo F. Serum Cystatin C reliably detects renal dysfunction in patients with various renal diseases. *Nephron* 2002; 91: 13-20.
77. Randers E, Erlandsen EJ, Pedersen OL, Hasling C, Danielsen H. Serum Cystatin C as an endogenous parameter of the renal function in patients with normal to moderately impaired kidney function. *Clinical Nephrology* 2000; 54(3): 203-209.
78. Onat A, Günsel Ş, Şenocak M, Örnek E, İşler M, Özışık M ve ark. Türkiye’de erişkinlerde kalp hastalığı ve risk faktörleri sıklığı. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*. C: 19 Sayı: 2. S: 88-95, 1991.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
MERKEZ KÜTÜPHANESİ