

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

SERUM GASTRİN SALGILATICI PEPTİD
AKTİVİTESİ RENAL TÜBÜLOİNERSTİYEL
FİBROZİS İÇİN BİR BELİRTEÇ MİDİR?

DR. MUHARREM ÖZDEN

İÇ HASTALIKLARI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. BARIŞ ESER

ÇORUM
2023

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. BARIŞ ESER

Yardımcı Araştırmacılar

Uzm. Dr. Aysel ÇOLAK, Ankara Őehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı



T.C. HİTİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Bu çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalında Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Nihal AYDEMİR
Hitit Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. İbrahim DOĞAN
Hitit Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Barış ESER
Hitit Üniversitesi

Bu tez, Fakülte Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Mesut SEZİKLİ
Dekan

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, bilgi ve tecrübeleriyle mesleki gelişimimde büyük katkıları olan başta sayın Dekanımız Prof. Dr. Mesut SEZİKLİ ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Nihal AYDEMİR olmak üzere, Doç. Dr. Hüseyin KÖSEOĞLU, Doç. Dr. İbrahim DOĞAN, Doç. Dr. Tolga DÜZENLİ, Doç. Dr. Abdulkerim YILDIZ, Doç. Dr. Derya KÖSEOĞLU, Doç. Dr. Murat DOĞAN, Doç. Dr. İbrahim KARADAĞ, Dr. Öğr. Üyesi Alpaslan KARABULUT ve Dr. Öğr. Üyesi Fatih ESKİN hocalarımıza teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığımız sürede, bilgi ve tecrübeleriyle eğitimime katkıda bulunan başta Uzm. Dr. Nafiye HELVACI ve Uzm. Dr. Kaan HELVACI olmak üzere tüm dahiliye ve yan dal uzmanlarımıza teşekkür ederim.

Tezimi hazırlarken bana yol gösteren, desteğini ve bilgilerini esirgemeyen, tecrübelerini benimle paylaşan değerli danışman hocam Doç. Dr. Barış ESER'e en samimi teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca beraber çalıştığım hem zevkli hem de yorucu zamanlar paylaşarak dostluklar edindiğim tüm asistan doktor arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez sürecinde desteklerini esirgemeyen hemodiyaliz ve periton diyaliz üniteleri sağlık personeline ayrıca teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında her türlü desteği sağlayarak yardımını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Hüseyin KAYADİBİ'ye teşekkürü borç bilirim.

Bana her zaman destek olan, mutlu ve üzüntülü günlerimde yanımda olan manevi desteğini esirgemeyen ve bugünlere gelmemde emekleri büyük olan aileme şükranlarımı sunarım.

Teşekkürlerin en büyüğünü, doktor eşi olmanın zorluklarına katlanarak bana sunduğu huzurlu bir hayat ve kesintisiz manevi destek için eşim Selda'ya sunarım.

Hayatımıza sonradan girerek bizi çok mutlu bir o kadar da olgun iki insan haline getiren evimizin neşesi kızım Zülal'e çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

I. TEŞEKKÜR	I
II. İÇİNDEKİLER.....	II
III. ÖZET	V
IV. ABSTRACT.....	VI
V. KISALTMALAR	VII
VI. TABLO LİSTESİ.....	X
VII. ŞEKİL LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kronik Böbrek Hastalığı	2
2.1.1. Tanımı ve Evreleme	2
2.1.2. Patofizyoloji	3
2.1.3. Epidemiyoloji.....	3
2.1.4. Etiyoloji.....	3
2.1.5. Klinik Bulgular	3
2.1.6. Kronik Böbrek Hastalığının Komplikasyonları	4
2.1.7. Tedavi.....	5
2.1.8. Son Dönem Böbrek Yetmezliği	6
2.2 İnterstisyel Fibrozis / Tübüler Atrofi	6
2.2.1 Tübülointerstisyum Nedir?	6
2.2.2 Kronik Böbrek Hastalığı ve İnterstisyel Fibrozis / Tübüler Atrofi Arasındaki İlişki.....	6
2.2.3 Tübülointerstisyel Fibrozis Gelişim Basamakları	7
2.2.4 Hazırlanma	8
2.2.5 Aktivasyon	12

2.2.6 Yürütme (Uygulama)	18
2.2.7 Progresyon	20
2.2.8 Tübüler Hasarlanma ve Atrofi	21
2.2.9 Mikrovasküler Yoğunluğun Azalması	22
2.2.10 Kronik Hipoksi.....	23
2.2.11 Renal Fibrozis Patofizyolojisinin Çözülmesi Nasıl Katkı Sağlar?... 23	
2.3. Proteinüri.....	24
2.3.1. Geçici Proteinüri	25
2.3.2.Kalıcı Proteinüri	25
2.3.3. Proteinüri Dereceleri	25
2.3.4 Albüminüri (mg/gün)	25
2.3.5 Proteinüri Tipleri:.....	26
2.3.6 Proteinüriye Bağlı Hasar Mekanizmaları:.....	27
2.3.7 Proteinüri ile Kronik Böbrek Hastalığı ve Renal Fibrozis Arasındaki İlişki	29
2.4 Serum Gastrin Salgılatıcı Peptid	31
2.4.1 Gastrin Salgılatıcı Peptid Tanımı Ve Özellikleri	31
2.4.2 Gastrin Salgılatıcı Peptid Yapısı	31
2.4.3 Gastrin Salgılatıcı Peptidin Kullanıldığı Alanlar ve Hastalıklarla İlişkisi	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Araştırmanın Etik Yönü	39
3.2. Çalışma Grubu	39
3.2.1. Çalışmaya Dahil Etme Kriterleri.....	40
3.3. Katılımcılarda Değerlendirilen Biyokimyasal Parametreler	40
3.3.1 Böbrek Biyopsisi.....	40
3.3.2. Serum Gastrin Salgılatıcı Peptid Düzeyinin Ölçümü.....	41
3.3.3. Kullanılan Gereçler	41

3.4. İstatistiksel Yöntem.....	42
4. BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	61
7. KAYNAKLAR	62
8. TEZ ETİK KURUL ONAM FORMU	89
9. BİLİMSEL ÇALIŞMA İZİN FORMU	92



ÖZET

Amaç: İnterstisyel fibrozis/tübüler atrofi (IFTA) kronik böbrek hastalığının patogenezinde çok önemlidir. Gastrin salgılatıcı peptid (GSP), vücutta artmış fibroblast aktivitesi gibi çeşitli patofizyolojik süreçlerde etkili olan bir nöropeptittir. Çalışmada serum GSP (sGSP) düzeyi ile IFTA varlığı ve şiddeti arasındaki ilişki incelendi.

Gereç ve Yöntem: Kesitsel çalışmaya böbrek biyopsisi yapılan 49 hasta [ortalama yaşları 44,1±15 yıl ve 23 (%49,6) erkek], 20 sağlıklı gönüllü [ortalama yaşları 43,4±7,2 yıl ve 8 (%40) erkek] katıldı. Tüm katılımcıların klinik ve laboratuvar özellikleri kayıt edildi. sGSP düzeyi ölçümü Elabscience Human Pro-Gastrin Releasing Peptide ELISA Kit kullanılarak yapıldı. Böbrek doku örneklerinde IFTA şiddetinin yüzdesine göre skorlama sistemi uygulandı.

Bulgular: sGSP seviyeleri hasta grubunda anlamlı yüksek bulundu [30,0 U/L (22,1-48,1) vs 19,7 U/L (15,1-30,3), p=0.004, (Tablo 4)]. Bununla birlikte, IFTA skoru 1 olan grupta sGSP düzeyleri daha düşük tespit edildi, ancak istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı [IFTA skor 1, 2 ve 3+4'te sırasıyla, 38,5 (28,3-65,0); 23,2 (19,5-48,6); 27,2 (22,2-36,5), p=0.090, (Tablo 5)]. sGSP ile proteinüri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif (p=0.012, Tablo 6), IFTA skoru ile istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan negatif ilişki bulundu (p=0.168, Tablo 7).

Sonuç: Bizim bilgilerimize göre IFTA ve sGSP düzeyi arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bu ilk çalışmada, renal hasarlanma ve proteinüri varlığında sGSP düzeyinin yükselebileceği ve IFTA şiddeti ile sGSP arasında zıt ilişki olabileceği gösterildi. Bu zıt ilişki dokudaki şiddetli fibrozis gelişimi sonrası azalan fibroblast aktivitesi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bulgularımız, IFTA şiddeti ve proteinüri ile sGSP düzeyinin geniş katılımlı çalışmalar ile değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: İnterstisyel fibrozis/tübüler atrofi, Proteinüri, Kronik böbrek hastalığı, Serum gastrin salgılatıcı peptid

ABSTRACT

Aim: Interstitial fibrosis/tubular atrophy (IFTA) is very important in the pathogenesis of chronic kidney disease. Gastrin-releasing peptide (GRP) is a neuropeptide that is effective in various pathophysiological processes in the body, such as increased fibroblast activity. In this study, the relationship between serum GRP (sGRP) level and the presence and severity of IFTA was examined.

Materials and Methods: 49 patients [mean age 44.1 ± 15 year and 23 (49.6%) men] who underwent kidney biopsy and 20 healthy volunteers [mean age 43.4 ± 7.2 year and 8 (40%) men] participated in the cross-sectional study. Clinical and laboratory characteristics of all participants were recorded. sGRP level measurement was performed using Elabscience Human Pro-Gastrin Releasing Peptide ELISA Kit. Scoring system was applied according to the percentage of IFTA severity in kidney tissue samples.

Results: sGRP levels were found to be significantly higher in the patient group [30.0 U/L (22.1-48.1) vs 19.7 U/L (15.1-30.3), $p=0.004$ (Table 4)]. However, sGRP levels were found to be lower in the group with IFTA score 1, but it did not reach statistical significance [38.5 (28.3–65.0) in IFTA scores 1, 2 and 3+4, respectively; 23.2 (19.5-48.6); 27.2 (22.2– 36.5), $p=0.090$, (Table 5)]. A statistically significant positive correlation was found between sGRP and proteinuria ($p=0.012$, Table 6), and a negative correlation that did not reach statistical significance with IFTA score ($p=0.168$, Table 7).

Conclusion: To our knowledge, in this first study evaluating the relationship between IFTA and sGRP levels, it was shown that the level of sGRP may increase in the presence of renal injury and proteinuria, and there may be an inverse relationship between the severity of IFTA and sGRP. This contrasting relationship suggests that it may be associated with decreased fibroblast activity after the development of severe fibrosis in the tissue. Our findings reveal that IFTA severity and proteinuria and sGRP level should be evaluated with large-scale studies.

Keywords: Interstitial fibrosis/tubular atrophy, Proteinuria, Chronic Kidney Disease, Serum Gastrin-Releasing Peptide

KISALTMALAR

ABH	Akut Böbrek Hasarı
ACE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
AngII	Anjiyotensin II
ANOVA	Tek yönlü Varyans Analizi
ARB	Anjiyotensin Reseptör Blokerleri
α SMA	α Düz Kas Aktini
BNP	Brain Natriüretik Peptid
BRS-3	Bombesin Reseptörü 3
BUN	Kan Üre Azotu
Ca	Kalsiyum
CCL5	Kemokin (C-C motifi) Ligandı 5
CD	Farklılaşma Kümesi
CREDIT	Chronic Renal Disease In Turkey
CRP	C- Reaktif Protein
CTGF	Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
DKB	Diyastolik Kan Basınçları
DM	Diabetes Mellitus
EMG	Epitelyal Mezenkimal Geçiş
EndoMG	Endotelyal Mezenkimal Geçiş
ESH	Eritrosit Sedimantasyon Hızı
ESM	Ekstraselüler Matris
FGF23	Fibroblast Büyüme Faktör
FSGS	Fokal Segmental Glomerüloskleroz
FSP1	Fibroblasta Özgü Protein 1
GBM	Glomerüler Bazal Membran
GFH	Glomerüler Filtrasyon Hızı
Hb	Hemoglobin
HD	Hemodiyaliz Tedavisi

HDL-C	Yüksek Dansiteli Lipoprotein Kolesterol
HIF1	Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör 1
HT	Hipertansiyon
Id 1	Farklılaşma İnhibitörü 1
IFN- γ	Interferon Gama
IgAN	IgA Nefropati
IGF	İnsülin Growth Faktör
IFTA	İnterstisyel Fibrozis /Tübüler Atrofi
IL	Interlökin
ILK	İntegrin Bağımlı Kinaz
IPF	İdiyopatik Pulmoner Fibrozis
K	Potasyum
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
KHAK	Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
Kre	Kreatinin
KVH	Kardiyovasküler Hastalık
KY	Kalp yetmezliği
LDL-C	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
MCP1	Monosit Kemotaktik Protein 1
MDH	Minimal Değişiklik Hastalığı
MGN	Membranöz Glomerülonefrit;
MMP	Matris Metalloproteinaz
Na	Sodyum
NF κ B	Nükleer faktör κ B
NLO	Nötrofil Lenfosit Oranı
NMB R	Nöromedin B reseptörü
NSAİİ	Nonsteroid Antiinflamatuvarlar İlaçlar
P	Fosfor
PAI1	Plazminojen Aktivatör İnhibitörü 1
PAS	Periyodik Asit Şift
PD	Periton Diyaliz Tedavisi
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

RAAS	Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi
RAG1	Rekombinasyon Aktive Edici Protein 1
RHK	Renal Hücreli Karsinom
ROR	Reaktif Oksijen Radikalleri
RRT	Renal Replasman Tedavisi
SDBY	Son Dönem Böbrek Yetmezliği
sGSP	Serum Gastrin Salgılatıcı Peptid
SKB	Sistolik Kan Basıncı
SIS3	Smad3 İnhibitörü
SPARC	Salgılanan Asidik ve Sistein Açısından Zengin Protein
TBM	Tübüler Bazal Membran
TGF- β	Transforming Growth Factor Beta
TİM	Tümörle İlişkili Makrofaj
TND	Türk Nefroloji Derneği
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
tPA	Doku Tipi Plazminojen Aktivatörü.
T REG	T regülatuar hücreler
UF	Ultrafiltrasyon
VEGF	Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
ZO-1	Zonula Okludens 1

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kronik böbrek hastalığı evreleme	2
Tablo 2. Kronik böbrek hastalığında görülen bulgular	4
Tablo 3. Renal interstisyel fibroblastlarve miyofibroblastlar için belirteçler.....	15
Tablo 4. Hasta ve kontrol gruplarının demografik ve laboratuvar özellikleri.....	44
Tablo 5. IFTA skorlarına göre hastaların demografik ve biyokimyasal verilerinin karşılaştırılması	46
Tablo 6. Serum gastrin salgılatıcı peptid ile değişkenlerin korelasyon analizi.....	47
Tablo 7. IFTA skoruna göre değişkenlerin korelasyon analizi	48
Tablo 8. Renal tübüler atrofi varlığına göre sGSP ve proteinürinin tekli ve çoklu regresyon analizleri.....	49

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Renal interstisyel fibrojenizdeki ana olaylar	8
Şekil 2. Renal fibroziste miyofibroblast kaynakları	13
Şekil 3. GSP'nin gen ve mRNA yapısı	32
Şekil 4. PreproGSP ve proGSP'nin işlenmesi ve sinyal moleküllerinin ortadan kaldırılması	32
Şekil 5. Hasta ve kontrol grubunun serum gastrin salgılatıcı peptid düzeyleri...	49
Şekil 6. Interstisyel fibrozis/tübüler atrofi şiddetine göre oluşturulan grupların serum gastrin salgılatıcı peptid düzeyleri	50
Şekil 7. Serum gastrin salgılatıcı peptid ve renal fibrozis arasında ilişkinin ROC analiz eğrisi	50

1.

GİRİŞ VE AMAÇ

Normal böbrek dokusu glomerül, tübüler ve vasküler kompartmanlardan oluşur. Renal hasarlanmaya cevap olarak oluşan fibrozis ise bu yapılarda birlikte ya da ayrı halde olabilir. İnterstisyel fibrozis/tübüler atrofi (IFTA) kronik böbrek hastalığının (KBH) patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. Tübülointerstisyel hacmin artması veya IFTA derecesi KBH'nın geri dönüşümsüz şekilde progresyona uğramasında en önemli belirleyicidir. IFTA, renal fibroblast-miyofibroblast sayısının artması ve aktive olmuş ekstraselüler matriks komponentlerinin aşırı kümeleşmesiyle karakterizedir (1).

Glomerülopatisi olan hastalarda tübülointerstisyel hasar belirteçlerinin takibi hem KBH gelişiminin erken tespitine hem de nefroprotektif tedavinin daha erken düzenlenmesi ile KBH yönetiminde olumlu sonuçların sağlanmasında yardımcı olabilir (1).

Gastrin salgılatan peptit (GSP), vücutta yaygın dağılıma sahip olan bir dizi fizyolojik ve patofizyolojik süreçte yer alan bir nöropeptittir. GSP, kolon ve akciğer dahil olmak üzere bir dizi tümör tipi için güçlü bir mitojendir. GSP'nin böbrek tümörlerinin büyümesini uyardığı bilinmesine rağmen, gelişmekte olan ve olgun böbrekte sentezi, dağılımı ve reseptörleri hakkında çok az şey bilinmektedir (2).

Yakın zamanda yapılan bazı çalışmalarda, KBH tanılı olan hasta gruplarının serum gastrin salgılatan peptit (sGSP) seviyelerinin normal böbrek fonksiyonlarına sahip gruplara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Farklı renal patolojilere sahip gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde renal parankim hasarına bağlı akut böbrek yetmezliği tanısı olan ve KBH tanılı gruplarda sGSP düzeyleri diğer etyolojik sebeplere göre yüksek bulunmuştur (3).

Bizim bilgilerimize göre literatürde renal fibrozis ve sGSP aktivitesi arasındaki muhtemel ilişkiyi değerlendiren çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, mevcut çalışmada sGSP düzeyi ile IFTA varlığı ve şiddeti arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Böbrek Hastalığı

2.1.1. Tanımı ve Evreleme

KBH, birbirinden farklı patofizyolojik nedenlerle nefronlarda ilerleyici ve geri dönüşümsüz gelişen hasar ve bununla ilişkili olarak anormal böbrek fonksiyonlarıyla glomerüler filtrasyon hızında (GFH) azalma ile karakterize bir hastalıktır (4).

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal böbrek vakfı NKF K/DOQI (*National Kidney Foundation kidney/dialysis outcome quality initiative*)'e bağlı hazırlanan kılavuzda KBH'nın tanımı;

- GFH'de azalma olsun veya olmasın; 3 ay veya daha uzun süren böbrekte yapısal veya işlevsel bozukluklar ile görülen idrar, kan ya da görüntüleme yöntemleri ile saptanan bir hasar olması veya
- GFH'nin 3 ay veya daha uzun bir sürede 60 mL/dk/1,73 m²'den düşük olması şeklinde tanımlanmıştır.

NKF K/DOQI kılavuzuna göre KBH evreleri ise aşağıdaki gibidir (5);

Tablo 1. Kronik böbrek hastalığı evreleme (5)

Evre	Tanım	GFH (ml/dk 1.73 m ²)
1	Normal veya artmış GFH ile birlikte böbrek hasarı	≥90 ve (kalıcı proteinüri veya hematüri veya yapısal böbrek hasarı varlığı)
2	Hafif derecede azalmış GFH ile birlikte böbrek hasarı	60-89 ve (kalıcı proteinüri veya hematüri veya yapısal böbrek hasarı varlığı)
3	Orta derecede azalmış GFH ile birlikte böbrek hasarı	30-59
4	İleri derecede azalmış GFH ile birlikte böbrek hasarı	15-29
5	Son dönem böbrek hastalığı	<15
5D	Son dönem böbrek hastalığı	Hastanın yaşamını diyaliz tedavisi ile idame ettirebildiği durum

2.1.2. Patofizyoloji

Kronik böbrek hastalığı, böbrek fonksiyonlarının geri dönüşümsüz ve ilerleyici kaybını tanımlar. KBH patogeneğinde alttan yatan etyolojiden bağımsız nefronlarda ilerleyici fibrozis, nefron kitlesinde azalma ve bunu tolere etmek amaçlı kalan sağlıklı nefron kitlesinde sekonder olarak ortaya çıkan hiperfiltrasyon ve hipertrofi mevcuttur (4).

Böbreği etkileyen hastalıklarda glomerül sayısı azalır ancak osmotik yük aynı kaldığından glomerül başına düşen plazma akımı artar. Başlangıçta gelişen hiperperfüzyonun etkisi ile sağlam kalan nefronlar, filtrasyon ve atım hızlarını arttırarak nefron yokluğuna uyum sağlarlar. Bu uyum gerçekleşmez ise KBH olan hastalar, hastalığın çok erken dönemlerinden itibaren ödem oluşumuna ve ciddi volüm yüklenmesine, hiperkalemiye, hiponatremiye ve azotemiye yatkın olurlar. Öte yandan, gelişen hiperperfüzyona bağlı olarak glomerül içerisindeki basınç giderek yükselir ve sonunda intraglomerüler hipertansiyon (HT) ortaya çıkar (6).

Nefron sayısında azalmayla sekonder vazoaktif hormonlar, sitokinler ve büyüme faktörleri salgılanır. Bu faktörler vasküler düz kas ve mezengial hücrelerin proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks artışına sebep olur. Transforming growth factor beta (TGF- β) salınımı skleroza ve bunun sonucunda fibrozise yol açar. Bu mekanizmalarla glomerüloskeroz ve kronik böbrek hasarı gelişir (4, 7, 8).

2.1.3. Epidemiyoloji

Türkiye’de KBH yaygınlığı Türk Nefroloji Derneği tarafından yürütülen “Chronic Renal Disease In Turkey” (CREDIT) çalışmasına göre %15,7 olarak saptanmıştır (9). Bu çalışmaya göre; KBH yaygınlığı kadınlarda %55,7 erkeklerde %44,3’tür. Prevalans yaşla birlikte artmakta olup, 40 yaş altı %10’dan düşük iken 80 yaş üstü %54,7’dir (9).

2.1.4. Etiyoloji

Ülkelere göre farklılık göstermekle birlikte geçmişte KBH’nın en sık nedenini glomerülo nefritler oluştururken, ülkemizde son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) etiyojisinde diabetes mellitus (DM) ilk sırada yer almaktadır. Bunu HT, glomerülo nefritler, polikistik böbrek hastalığı ve diğer sebepler izlemektedir.

2.1.5. Klinik Bulgular

Hastaların KBH evresine göre klinik seyri farklılık göstermektedir. Hastalar genellikle evre 3’e kadar asemptomatik bir şekilde yaşamlarını devam ettirirler. GFH 30

ml/dk/1,73 m²'nin altına indiğinde hastalarda genellikle ilk semptom noktürü ve anemi ilişkili halsizlik iken bunlara ek bulantı, kusma, uykusuzluk gibi spesifik olmayan farklı semptomlar görülmeye başlar (10).

Böbrek hasarı ilerledikçe üremik semptomların şiddeti artar. Bu bulgular Tablo 2'de gösterilmiştir (4, 10).

Böbrek hasarı saptanan bir hastada kronik/akut böbrek hasarı ayırımı önemlidir; azoteminin 3 aydan uzun sürmesi, eşlik eden noktürü ve anemi olması, radyolojik olarak bilateral küçük böbrek saptanması, eşlik eden sekonder hiperparatiroidizm ve renal osteodistrofi bulguları olması KBH lehinedir (8).

Tablo 2. Kronik böbrek hasarında görülen bulgular (10)

Sıvı elektrolit bozuklukları	Hipovolemi, hipervolemi, metabolik asidoz, hipernatremi, hiponatremi, hipokalsemi, hiperpotasemi, hipopotasemi, hiperfosfatemi
Endokrin ve metabolik bozukluklar	Sekonder hiperparatiroidizm, adinamik kemik hastalığı, vitamin D eksikliği, glukoz intoleransı, tiroid disfonksiyonu, cinsel fonksiyon bozukluğu, amenore, malnütrisyon, β 2 mikroglobulin amiloidozu
Kardiyovasküler ve pulmoner bozukluklar	Hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, üremik perikardit, pulmoner ödem, kardiyomyopati, vasküler kalsifikasyonlar
Hematopoetik bozukluklar	Anemi, kanama diyatezi, enfeksiyonlara yatkınlık
Gastrointestinal bozukluklar	İnatçı bulantı kusma, anoreksiyon, peptik ülser, gastrointestinal kanama, asit
Nöromusküler bozukluklar	Yorgunluk, uyku bozuklukları, letarji, muskulerirritabilite, huzursuz bacak sendromu, disequlibriub sendromu, otonom ve periferik nöropati, üremik ensefalopati
Dermatolojik bozukluklar	Solukluk, hiperpigmentasyon, kaşıntı, nefrojenik fibröz dermopati, üremik frost

2.1.6. Kronik Böbrek Hastalığının Komplikasyonları

Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda, böbreklerin endokrin veya ekzokrin fonksiyon kaybını gösteren çeşitli komplikasyonlar zamanla gelişmektedir. Bu komplikasyonların insidansı ve prevalansı, KBH şiddeti ile artmaktadır (11).

Böbrek, kan homeostazı, kemik bütünlüğü, asit-baz dengesi, elektrolit seviyeleri ve kan basıncında önemli olan karmaşık süreçte yer alır. Nefron kaybı arttıkça hastalarda metabolik asidoz, anemi, kemik ve mineral metabolizması (D vitamini

eksikliği, hiperparatiroidizm, hiperkalemi ve hiperfosfatemi ile ilişkili), arteryal HT, hiperürisemi ve etkili dolaşım hacminin genişlemesi gibi birçok sistemin düzensizliği ile ilişkili komplikasyonlar gelişir. Bu komplikasyonlardan en önemlisi kardiyovasküler hastalıklardır, dünya çapında önde gelen ölüm nedenidir ve bu durum daha çok altta yatan dislipidemi, hiperürisemi ve HT ile ilişkilidir.

Tüm hastalar bu sorunları böbrek fonksiyonunun ilerleyen kaybında aynı noktada yaşamazlar. Tüm bozukluklar semptomatik değildir ve semptomların şiddeti bireyler arasında değişir (12).

En sık karşılaşılan komplikasyonlar; Sodyum ve sıvı yüklenmesi, hiperkalemi metabolik asidoz, hiperfosfatemi, renal osteodistrofi, HT, anemi, endokrinolojik problemler ve merkezi sinir sistemi komplikasyonları olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.1.7. Tedavi

Kronik böbrek hastalığı, tıbbi bakım ve tedavisi en iyi şekilde tek bir klinik çatı altında toplanan sağlık profesyonelleri tarafından sağlanabilir (13). Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) 2012 KBH kılavuzunda da belirtildiği gibi SDBY yönetimi; diyet danışmanlığı, renal replasman tedavi (RRT) seçeneklerinin iyi yönetimi ve kalp damar cerrahisi, psikolojik danışmanlık, sosyal hizmetlere erişim gibi multidisipliner yaklaşım ile sağlanmalıdır (14). KBH yönetimi ve tedavisi şu konuları kapsar;

Böbrek hasarının geri dönüşü mümkün olan nedenlerinin tedavisi

Böbrek hastalığının önlenmesi veya ilerlemesinin yavaşlatılması

Böbrek hasarı komplikasyonlarının tedavisi

Tahmini GFH düzeylerine göre ilaç dozlarının ayarlanması ve nefrotoksik ajanların yönetimi

RRT gerektiren hastaları belirlemek ve kişiye uygun tedaviyi belirleyerek hazırlıkları planlamak.

2.1.7.1. Predispozan Nedenlerin Tedavisi

Öncelikle altta yatan ve böbrek yetmezliğini ilerleten sebepler non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), aminoglikozit, sisplatin, anjiyotensin converting enzim (ACE) inhibitörü, üriner sistem obstrüksiyonu, hipovolemi, enfeksiyonlar, renal arter stenozu gibi durumlar gözden geçirilmeli ve hızla tedavi edilmelidir (15).

2.1.8. Son Dönem Böbrek Yetmezliği

KDIGO 2012 kılavuzuna göre evre G5 SDBY olarak tanımlanır. Bu hastaların tedavisinde ise RRT yöntemleri olan hemodiyaliz, periton diyalizi ve böbrek transplantasyonu uygulanmaktadır.

2.2 İnterstisyel Fibrozis / Tübüler Atrofi

2.2.1 Tübülointerstisyum Nedir?

Normal böbrek dokusu glomerül, tübüler ve vasküler kompartmanlardan oluşur. Böbreğin tübulointerstisyumu ise şunları kapsar: tübüler epitel, vasküler yapılar, interstisyel hücreler, ekstraselüler matriks (ESM) ve interstisyel sıvı, böbrek hacminin %90'ından fazlasını oluşturur. Bu böbrekteki interstisyel hücreler fibroblastlar, dendritik, inflamatuvar ve hematopoetik progenitör hücrelerden oluşan heterojen bir yapıya sahiptir. Renal hasarlanmaya cevap olarak oluşan fibrozis ise bu yapılarda birlikte ya da ayrı halde olabilir (16).

2.2.2 Kronik Böbrek Hastalığı ve İnterstisyel Fibrozis / Tübüler Atrofi Arasındaki İlişki

İnterstisyel fibrozis/tübüler atrofi KBH'nın patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır.

Renal fibroz, özellikle tübulointerstisyel fibroz, neredeyse tüm ilerleyici kronik böbrek hastalıklarının ortak nihai sonucudur. Renal fibrozis ayrıca prognozun güvenilir bir göstergesi ve böbrek hasarının önemli bir belirleyicisidir (16).

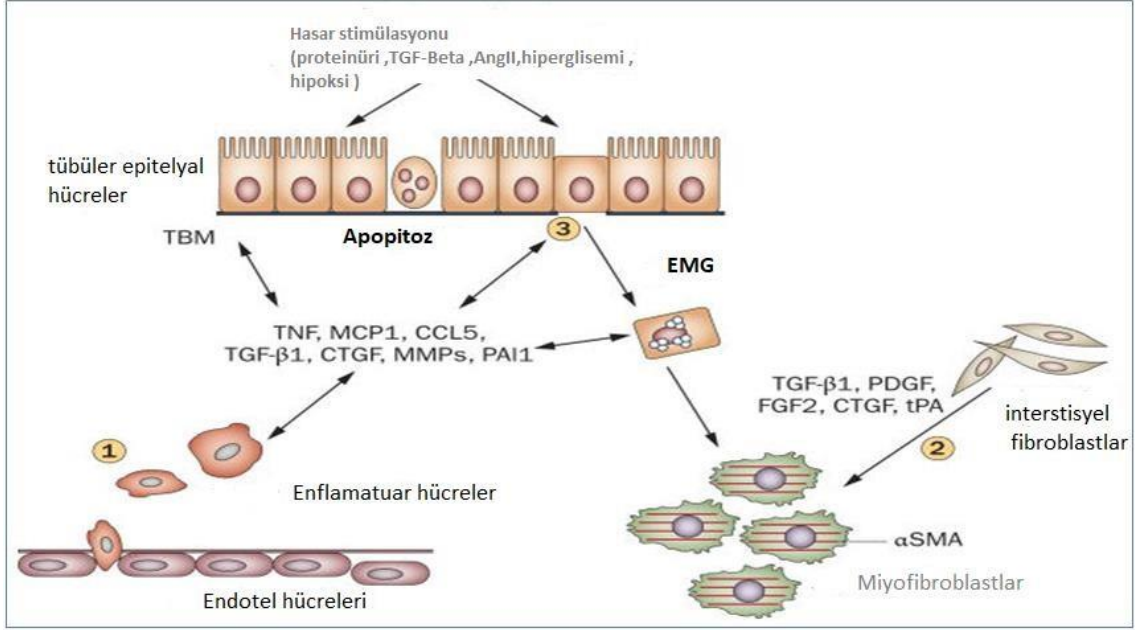
ABD'deki yetişkin nüfusun tahminen %13'ünde bir dereceye kadar KBH vardır (17, 18). Önemli bir oranı sonunda, ömür boyu diyaliz veya böbrek nakli gerektiren yıkıcı bir durum olan SDBY'ye ilerler. Çok sayıda epidemiyolojik çalışma son dönem böbrek hastalığı olan hastaların prevalansının dünya çapında arttığını göstermektedir (17, 19, 20). Sonuç olarak KBH etkilenen bireylere, ailelere ve toplumlara muazzam sosyoekonomik yükler getiren küresel ölçekte önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. DM ve obezite hasta popülasyonu artmaya devam ettikçe, KBH prevalansındaki bu artış eğiliminin öngörülebilir gelecekte sona ermeyeceği kuvvetle muhtemeldir. Bu sorunun büyüklüğüne rağmen, klinik ortamda KBH için mevcut terapötik seçenekler azdır ve çoğu zaman etkisizdir. Spesifik olarak renal fibrozisi hedef

alan onaylanmış bir tedavi neredeyse yoktur. Bu bağlamda renal fibrozisin hücrel ve moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, yalnızca sürecin patogenezinine ilişkin yeni içgörüler kazanmak için değil, aynı zamanda fibrotik böbrek bozukluğu olan hastaları tedavi etmede rasyonel stratejiler geliştirmek için de önemlidir (21).

2.2.3 Tübulointerstisyel Fibrozis Gelişim Basamakları

Renal fibrojeniz, genel olarak çeşitli yaralanmaların başlangıcından sonra ortaya çıkan başarısız bir yara iyileşme süreci olarak kabul edilir (22, 23). Bu bağlamda hasarlı böbreklerdeki hücrel ve moleküler tepkiler, büyük ölçüde hasarı onarmak ve yara iyileşmesini sağlamak için ortaya çıkar (21). Fibroblastlar, tübül epitel hücreleri, perisitler, endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, mezangiyal hücreler ve podositler dahil olmak üzere böbreklerdeki hemen hemen tüm hücre tipleri ve ayrıca lenfositler, makrofajlar ve fibrositler gibi infiltratör hücreler de muazzam karmaşıklığa sahip olan renal fibrozisin patogenezinde bir şekilde yer alırlar (24, 25).

Tübulointerstisyel fibrozisteki başlıca hücrel olaylar şunları içerir: inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu çeşitli kaynaklardan fibroblast aktivasyonu ve büyümesi, büyük miktarda ESM bileşenlerinin üretimi ve birikmesi, tübül atrofi ve mikrovasküler seyrelmedir (Şekil 1) (21). Muhtemelen bu patolojik özelliklerin her biri, fibrozisin amansız bir şekilde ilerlemesine, kendine ait yolaklarla katkıda bulunabilir. Bu olaylar böbrek parankiminin nihai yıkımına ve böbrek fonksiyonunun kaybına neden olan bir dizi çekirdek fibrojenik olay oluştururlar (21). Bu yıkıcı olayların sırasına dayanarak, renal fibrozisin patogenezi yapay olarak birbiriyle örtüşen dört aşamaya ayrılabilir: hazırlanma (başlangıç), aktivasyon, yürütme (uygulama) ve progresyon (22, 26). Bununla birlikte, gerçekte renal fibrojeniz bu olayların çoğunun eşzamanlı olarak meydana geldiği dinamik bir süreç olduğundan, böyle bir ayırım şablon oluşturmak amaçlı yapılmıştır (21).



Şekil 1 (21): Renal interstisyel fibrojenizdeki ana olaylar.

(1) Enflamatuar hücrelerin, özellikle T hücrelerinin ve makrofajların peritübüler infiltrasyonu, fibrojenik aşama oluşturan erken bir olaydır (2). Çeşitli kaynaklardan miyofibroblast aktivasyonu ve genişlemesi. Matris üreten miyofibroblastların çoğunluğu muhtemelen interstisyel fibroblastların lokal aktivasyonundan üretilir (3). Tübüler atrofiye yol açan tübüler hücre apoptozu ve epitelyal mezenkimal geçiş.

Kısaltmalar: α SMA, α düz kas aktini; AngII, anjiyotensin II; CCL5, kemokin (C-C motifi) ligandı 5; CTGF, bağ dokusu büyüme faktörü; EMG, epitelyal-mezenkimal geçiş; FGF2, fibroblast büyüme faktörü 2; MCP1, monosit kemotaktik protein 1; MMP'ler, matris metalloproteinazlar; PAI1, plazminojen aktivatör inhibitörü 1; PDGF, trombosit kaynaklı büyüme faktörü; TBM, Tübüler bazal membran; TGF- β 1, dönüştürücü büyüme faktörü β 1; TNF, tümör nekroz faktörü; tPA, doku tipi plazminojen aktivatörü.

2.2.4 Hazırlanma

Doku yaralanması, kemotaktik sitokinlerin konsantrasyon gradyanlarının, inflammatuar hücrelerin yaralı bölgelere infiltrasyonunu yönlendirmek için, bir yön sinyali sağladığı proinflammatuar nişler oluşturarak enflamasyonu tetikler (27). Renal fibroz aşamasından önce hemen hemen her zaman lenfositler, monositler/makrofajlar, dendritik hücreler ve mast hücreleri dahil olmak üzere inflammatuar hücrelerin infiltrasyonu gelir. Enflamasyon, yaralanmaya yanıt olarak konakçı savunma mekanizmalarının ayrılmaz bir parçası olmasına rağmen, çözilemeyen enflamasyon, fibrotik hastalığın gelişiminde önemli bir itici güçtür (28, 29). Yaralanmayı takiben, infiltre inflammatuar hücreler aktive olur, reaktif oksijen radikalleri (ROR) gibi dokulara

zarar veren moleküller üretir ve fibrojenik sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretimini indükler (30-33). Bu olaylar dizisi, yerel mikro çevre içinde sürekli profibrotik sitokin basıncı oluşturur, fibroblastları ve tübüler epitel hücrelerini fenotipik aktivasyon veya geçişe tabi tutmaya ve büyük miktarda ESM bileşeni üretmeye hazırlar. Bu nedenle, sürekli bir hasardan sonraki inflamasyon, fibrojenik aşamayı kuran ve doku fibrogenezini tetikleyen bir primer görevi görür (21).

2.2.4.1 Enflamasyon Fibrojenik Aşama Arasındaki İlişki

Enflamasyon ile fibrozisin boyutu arasındaki yakın ilişki uzun zamandır kurulmuştur ve son 2 yılda yayınlanan birkaç incelemeye konu olmuştur (31-35). Enflamasyonun bir bütün olarak yaralanmadan sonra renal fibrogenezin başlamasında çok önemli bir rolü olduğu konusunda bir fikir birliği vardır, ancak fibrozisin ilerlemesinde enflamasyonun rolünün daha önce düşünülenenden daha karmaşık olduğu açık hale gelmektedir (33, 34). T lenfositlerin olaya dahil olması ve aktivasyonu, tipik olarak makrofajların hasarlı böbreklere ulaşmasından önce geldiğinden, bu durum renal fibrogenezin başlangıcına aracılık eden önemli bir erken olay olabilir. Aslında, V(D)J rekombinasyon aktive edici protein 1 (RAG1) eksikliği nedeniyle olgun B ve T lenfositleri olmayan farelerin, obstrüktif yaralanmadan sonra fibrozise karşı korunduğu görülmüştür (36).

Makrofajların renal fibrogeneze katkısı açıkça ortaya konulmuştur (32, 34). Dolaşımdaki kandan monositler, sitokin salınımına yanıt olarak yaralı bölgeye toplandıklarında, klasik olarak aktive edilmiş (M1) veya alternatif olarak aktive edilmiş (M2) olarak kategorize edilen iki geniş farklı makrofaj alt kümesine farklılaşırlar (33, 37). Genel olarak, M1 makrofajları tipik bir proinflamatuvar fenotip gösterir, çeşitli kemokinler ve ayrıca ROR üretir ve bu nedenle doku hasarına ve fibrozise yol açan patojenik fonksiyonlara sahiptir. Buna göre ortamdaki makrofajların tükenmesi faydalıdır ve çeşitli yaralanmalardan sonra böbrek fibrozunu iyileştirirken, makrofajların bölgeye planlı transferi ise oluşan fibrotik lezyonları ağırlaştırır. Bu da bize makrofajların renal fibrogenezdeki profibrotik rollerini gösterir (37-39). Makrofaj sayısına ek olarak, infiltrate olan makrofajların aktivasyon durumu da yaralanmanın bir diğer önemli belirleyicisidir. Örneğin, doksorubisin kaynaklı nefropatisi olan farelerde, bir Toll benzeri reseptör 9 agonisti tarafından önceden aktive edilmiş makrofajların intravenöz infüzyonu, istirahat makrofajlarına kıyasla hastalığın ilerlemesini büyük ölçüde artırmıştır (40).

Makrofajlarla aynı kemik iliği miyeloid progenitörlerinden türetilen dendritik hücreler, normal böbrek interstisyumunda bol miktarda bulunur (41-43). Dendritik hücreler antijen sunan hücreler olduklarından, bir kalıntı böbrek modelinde proteazoma bağımlı bir yoldan albümininden antijenik peptitleri oluşturduğu ve sonuç olarak singenik CD8⁺ T hücrelerini aktive ettiği gösterilmiştir (44). Proteinürik hastalıkların fare modelinde, renal dendritik hücreler filtrelenmiş antijenleri yakalar ve T hücrelerine sunar, bu da proinflamatuvar sitokinlerin üretimine yol açar. Dendritik hücrelerin tükenmesi hastalığın ilerlemesini azaltabilir (45, 46). Bu sonuçlar, fibrotik böbrek hastalığının başlaması ve ilerlemesi için enflamatuvar lenfositlerin, makrofajların ve dendritik hücrelerin aktivasyonunun gerekli olduğunu gösterir, ancak mast hücrelerinin renal fibrojenizdeki rolü tartışmalı ve belirsizdir (47-49). Bu kavramla uyumlu olarak, renal fibrozis, nükleer faktör κ B (NF κ B) sinyalinin inhibisyonu ve/veya C–C kemokin reseptörü tip 1 (CCR1) antagonisti, CCR2 antagonisti, D vitamini reseptörü aktivatörü, peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör y agonisti, anti-tümör nekroz faktörü bloke edici antikor, hepatosit büyüme faktörü veya bir IL-1 reseptörü antagonisti uygulaması gibi çeşitli yollarla renal inflamasyon engellenerek, etkili bir şekilde iyileştirilebilir (50-58). Anjiyotensin II'nin inhibisyonuyla ortaya çıkan kısmi renal koruma, bu molekülün hemodinamik olmayan, anti-inflamatuvar etkilerine de atfedilebilir (59).

2.2.4.2 Enflamasyon ve Fibrozun Mekanik Bağlantısı

Enflamasyon ve fibroz arasındaki bağlantı da morfolojik kanıtlarla tutarlıdır ve bu kanıtlarla desteklenir. Hasarlı böbreklerdeki fibrotik odaklar tipik olarak renal kan damarlarını çevreleyen dokuda başlatılır ve lokalize edilir (60). Test edilmemiş olsa da, iltihaplı bölgedeki yerel sitokinlerin konsantrasyonu tahminen çok yüksektir ve sonuç olarak yerleşik fibroblastlar ve komşu tübüler epitel hücreleri kolayca fibrojenik aktivasyona duyarlıdır (61). Enflamasyon ve fibrozis arasındaki bağlantıya ilişkin klasik görüş bunların bir parakrin moda aracılık ettiğidir; bu sayede inflamatuvar hücreler, fibrojenizi teşvik etmek için yerleşik fibroblastlar ve tübüler hücreler üzerinde hareket eden profibrotik sitokinler salgırlar. Aktif lökositlere sahip tübüler hücrelerin kültürü in vitro olarak epitelyal mezenkimal geçişi (EMG) ve matriks üretimini indüklediğinden, bu varsayım deneysel olarak desteklenmektedir (62). Çözünür mediatörlere ek olarak, bulgular aynı zamanda monositlerle, tübüler EMT'yi NF κ B'ye

bağımlı bir yol aracılığıyla indüklemek için monositlerin ve tübüler hücrelerin doğrudan temasının gerekebileceğini de göstermektedir (63).

Aynı hücrelerdeki inflamatuvar sinyaller ve fibrozis arasında moleküler düzeyde içsel bir bağlantının var olduğuna dair kanıtlar ortaya çıkmaktadır. Örneğin, tümör nekroz faktörüne bağımlı olan NFκB'nin aktivasyonu, Snail1'i ubiquitin aracılı bozulmasını bloke ederek stabilize eder (64). Bu Snail1'in, EMG'yi, fibroblast göçünü ve böbrek fibrozunu destekleyen anahtar bir transkripsiyon faktörü olduğu için geçerlidir (65-67). Bu bulgu enflamatuvar sinyaller ve fibrozis arasında moleküler bir bağlantı sağlar. NFκB'nin aktivasyonu, fibroblast aktivasyonuna ve renal fibroze doğrudan katkıda bulunabilir, çünkü interstisyel fibroblastlarda bir κB baskın-negatif transgen inhibitörünün koşullu ortaya çıkışı renal fibro-genezisi azaltır (68). Baskın-negatif bir transkripsiyonel antagonist olan farklılaşma inhibitörü 1'in (Id1) ifadesi, obstrüktif yaralanmadan sonra dejenere böbrek tübüllerinde hızlı ve belirgin bir şekilde indüklenir (69). Id1, E-cadherin ve sıkı bağlantı proteini ZO-1'in transkripsiyonunu baskılayarak tübüler epitel hücrelerinin farklılaşmamasına yol açsa da aynı zamanda NFκB sinyalini artırır ve tübüler hücrelerde CCL5'in (RANTES olarak da bilinir) ekspresyonunu güçlendirir (69-71). Id1 gibi tek bir molekülün aynı hücrelerde hem epitelyal farklılaşmayı hem de kemokin ekspresyonunu desteklediği fikri, enflamasyon ve fibrozisin bir şekilde moleküler düzeyde içsel olarak bağlantılı olduğunu göstermektedir.

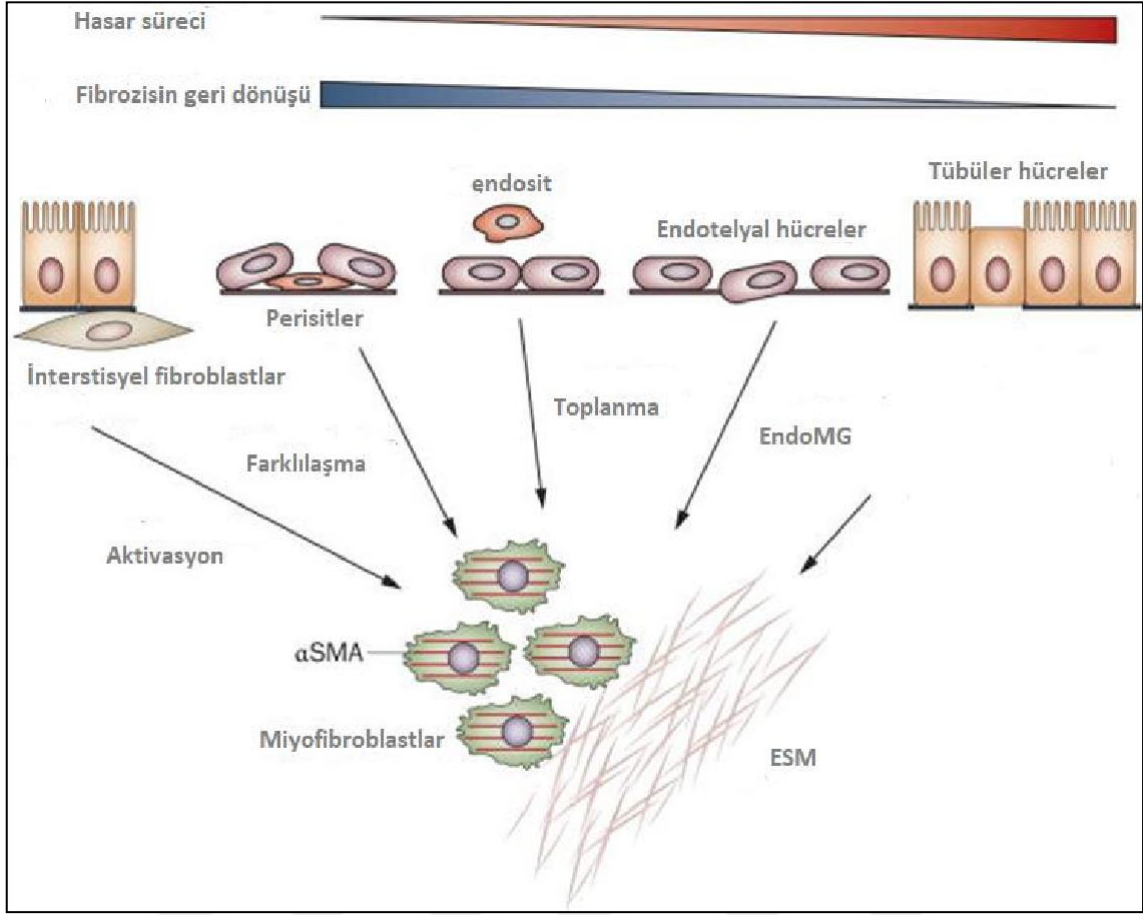
Kronik yaralanmadan sonra çözülmeyen inflamasyon, fibrogenез için amansız bir itici güçtür, çünkü bu inflamasyon, doku hasarı ve fibrozis arasında kısır bir döngü yaratır. Bununla birlikte, normal yara iyileşmesinde inflamasyon, yaralanmaya karşı erken ve faydalı bir yanıtıdır ve onarım ve iyileşme tamamlandıktan sonra kendiliğinden düzelir. Enflamasyonun fizyolojik bir tepki mi yoksa doku yıkımı için itici bir güç mü olduğunu belirleyen faktör belirsizliğini koruyor. Bununla birlikte, çalışmalar normalde inflamasyonun çözülmesini sağlayan çoklu mekanizmaları tanımlayarak bu konuya yeni bir ışık tutmaya başlamıştır (29-33). Yaygın olarak kabul edildiği gibi inflamatuvar hücreler heterojen fenotipler sergiler ve inanılmaz fonksiyonel plastisiteye sahiptir ve ayrıca böbrek hastalıklarının gelişmesinde ve iyileşmesinde farklı rollere sahiptirler (33,34,72). M1 makrofajlarından farklı olarak, M2 makrofajlarının alt grupları iltihabı giderebilir ve yaralanmayı onarabilir. Ek olarak, makrofajlar sürekli değişen mikro ortama yanıt olarak fenotipleri değiştirebilir ve etkilerini proinflamatuardan antiinflamatuara değiştirebilir (21). Bu hat boyunca, FoxP3⁺ düzenleyici T hücrelerinin

(T_{REG} hücreleri) inflamatuvar yanıtı inhibe ettiği ve böbrek hasarını azalttığı ve IL-10 veya TGF- β ile ex vivo modifiye edilmiş makrofajların ise böbrek iltihabını ve yapısal hasarı hafiflettiği ve doksorubisin tarafından indüklenen bir fare nefropatisi modelinde böbrek fonksiyonunu koruduğu görülmüştür (73,74). Enflamatuvar hücre fonksiyonunun esnekliğini gösteren bu yeni veriler, KBH'li hastaların tedavisinde, etkili anti-inflamasyon tedavileri geliştirmek için kavramsal ve stratejik yenilikler gerektirmektedir. Hastalık modellerine ve evrelerine göre 'iyi' enflamasyonu 'kötü'den ayırmak zor bir iştir ve bu konuda daha fazla ve dikkatli araştırmalar gereklidir (21).

2.2.5 Aktivasyon

Böbrek hasarından sonra iltihaplı mikroçevredeki profibrotik sitokin basıncındaki artış, kaçınılmaz olarak, renal fibrojenizde muhtemelen merkezi bir olay olan matriks üreten hücrelerin aktivasyonuna yol açar. Fibroblastlar, tübüler epitel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve makrofajların bir alt grubu gibi böbreklerin tübülointerstisyumundaki birçok hücre tipi ESM üretebilse de fibroblastlar genellikle ana matriks üreten hücreler olarak kabul edilir. Fibronektin ve tip I ve tip III kollajenler dahil olmak üzere büyük miktarda interstisyel matriks bileşenlerini üretir. Hastalıklı böbreklerdeki aktive edilmiş fibroblastlar sıklıkla α düz kas aktinini (α SMA) eksprese eder ve bunlara miyofibroblastlar da denir. Bu bağlamda, bu alandaki temel konulardan biri de miyofibroblastların kökeni, aktivasyonu ve düzenlenmesini anlatmaktadır (75-77).

Farklı mekanizmalara sahip en az beş farklı kaynağın, hastalıklı böbreklerdeki miyofibroblast havuzuna katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (Şekil 2). Bunlar, interstisyel fibroblastların aktivasyonunu, perisitlerin farklılaşmasını, tübüler epitel hücrelerinin ve endotel hücrelerinin fenotipik dönüşümünü ve dolaşımdaki fibrositlerin toplanmasını içerir (78). Her bir miyofibroblast üreten yolun renal fibrozise görece katkısı ve hatta varlığı, yoğun bir tartışma konusudur ve oldukça tartışmalıdır. Bu tartışma, büyük ölçüde, bu hücre tipi için spesifik belirteçlerin bulunmaması nedeniyle fibroblastların tanımlanması ve izlenmesindeki doğal zorluğa atfedilebilir. Farklı yolların katkılarını belirlemedeki diğer iki büyük sorun ise, fibroblastların, muhtemelen farklı kökenlerini yansıtan muazzam fenotipik heterojenite sergilemeleri ve fenotiplerini aktivasyon durumuna, lokalizasyona ve renal fibrojeniz aşamasına bağlı olarak değiştirmeleridir (21).



Şekil 2 (64): Renal fibroziste miyofibroblast kaynakları

Miyofibroblastların renal fibrozda çoklu kaynakları önerilmiştir. Miyofibroblastlar, çeşitli mekanizmalar yoluyla en az beş farklı kaynaktan türetilebilir: interstisyel fibroblastlardan fenotipik aktivasyon; vasküler perisitlerden farklılaşma dolaşımdaki fibrositlerden alım kılcal EndoMG; ve tübüler EMT.

Renal fibrozda her bir kaynağın miyofibroblast havuzuna nispi katkısı tartışmalıdır. Muhtemelen, yerleşik fibroblastların lokal aktivasyonu, en azından erken aşamada, hastalıklı böbreklerde miyofibroblastların oluşumu için ana yol olmaya devam etmektedir. Buna karşılık, EMG geç bir olay olabilir ve fibrozisin geri dönüşümsüz ilerlemesine katkıda bulunabilir.

Kısaltmalar: α SMA, α düz kas aktini; ESM, hücre dışı matris; EMG, epitelyal-mezenkimal geçiş; EndoMG, endotelial-mezenkimal geçiş.

2.2.5.1 Fibroblastların ve Perisitlerin Aktivasyonu

Tarihsel olarak, matris üreten miyofibroblastların, böbrek hasarından sonra fenotipik aktivasyon yoluyla yerleşik fibroblastlardan türediği varsayılmıştır (79). Bu kavram son zamanlarda sorgulanmış olsada, büyük ölçüde doğrulanmış durumdadır

(76,80). Miyofibroblastların çoğu, makul bir şekilde hasarlı böbreklerdeki interstisyel fibroblastların lokal aktivasyonundan ve proliferasyonundan kaynaklanabilir.

Normal yetişkin böbreklerinde, fibroblastlar kılcal damarlar ve epitel arasındaki interstisyel boşlukta bulunur ve böbrek parankimi boyunca bir ağ oluşturarak doku mimarisini stabilize eder (41). Morfolojik olarak, bu hücreler yıldız şeklindedir ve bol miktarda kaba endoplazmik retikulum, kollajen salgılayan granüller ve aktin filamentleri sergiler. Onları boru şeklindeki ve kılcal bazal zarlara bağlayan çoklu hücre işlemlerine sahiptirler (41). Dinlenme durumunda, hareketsiz durumda, interstisyel fibroblastlar plazma zarlarında CD73'ü (ekto-5'-nükleotidaz olarak da bilinir) eksprese eder ve eritropoietin üretir (41,81). Ayrıca trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü β (PDGFR β), ve kalsiyumu bağlayan ve hücre iskeleti ile ilişkili küçük bir protein olan fibroblasta özgü protein 1 (FSP1; S100A4) olarak da bilinir (24,82,83). Fibroblastlar, bazal düzeyde ekstraselüler matriks bileşenleri üreterek fizyolojik koşullarda interstisyel matriks homeostazını korurlar. Profibrotik sitokinler ve in vivo mekanik stres ile aktivasyon üzerine fibroblastlar, α SMA'yı ifade ederek ve büyük miktarda ekstraselüler matriks bileşeni üreterek bir miyofibroblast fenotipi kazanır. Miyofibroblastlar ayrıca FSP1 ve PDGFR β 'yi tutar ve vimentini (bir ara filament proteini) de novo ifade eder. Birçok açıdan, miyofibroblastlar, sırasıyla α SMA ve kontraktilite ekspresyonları ve matriks bileşenlerinin aşırı üretimi nedeniyle hem aktive edilmiş fibroblastlara hem de düz kas hücrelerine benzer (21).

Böbreklerdeki fibroblastları ve miyofibroblastları karakterize etmek için çeşitli belirteçler kullanılmıştır (Tablo 3). Ne yazık ki, bu belirteçlerin hiçbiri spesifik değildir. Ek olarak, tüm fibroblastlar ve miyofibroblastlar tarafından nadiren ifade edilirler (21). Tüm organ tiplerindeki fibrozisde, miyofibroblast aktivasyonunun klasik bir belirteci olan α SMA bile sorunsuz değildir (84,85). α SMA'nın ifadesi, vasküler düz kas hücrelerinde de bulunduğu için, miyofibroblastlara özel değildir (76,80). Ek olarak, tüm aktif fibroblastlar her zaman α SMA ifade etmez. Kollajen I üreten hücrelerin çoğunluğunun, raportör fare modelinde, kollajen I α 1-yeşil flüoresan protein α SMA'yı eksprese ettiği gösterilmiş olsada, in vivo şartlarda α SMA üretimi ve matris bileşenleri her zaman fonksiyonel olarak bağlı değildir (86). Bu sorunlara rağmen, kapsamlı araştırmalar α SMA bolluğunun renal fibrozun ciddiyeti ile yakından ilişkili olduğunu ve böbrek fonksiyonundaki azalmayı ön gördüğünü göstermektedir.

Tablo 3 (21): Renal interstisyel fibroblastlar ve miyofibroblastlar için belirteçler

İşaretleyici	Fibroblastlar	Miyofibroblastlar	İşlev	Diğer hücre türleri
aSMA	Olumsuz	Çok pozitif	Stres lifi, hücre kontraktilite	Vasküler düz kas hücreleri
FSP1	Pozitif	Pozitif	Aktin bağlayıcı protein, hücre hareketliliği	CD45 ⁺ lökositler
Vimentin	Olumsuz	Çok pozitif	Ara filament proteini, hücre iskeleti	Glomerüler podositler
Nesrin	Olumsuz	Pozitif	Ara filament proteini, hücre iskeleti	Glomerüler podositler
CD73	Çok pozitif	Pozitif	Ekto-5'-nükleotidaz, 5'-AMP'nin adenozone dönüşümü	Proksimal tübüler hücreler, mezangiyal hücreler, T hücreleri
PDGFR β	Pozitif	Pozitif	Hücre çoğalması, matris üretimi	Vasküler düz kas hücreleri, perisitler

Kısaltmalar: α SMA, α düz kas aktini; CD, farklılaşma kümesi; FÖP1, fibroblasta özgü protein 1; PDGFR β , trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü β .

Vimentin, spesifik olarak yetişkin böbreklerinin aktive edilmiş fakat hareketsiz olmayan fibroblastlarında de novo olarak ifade edildiğinden, fibroblast aktivasyonu için başka bir belirteçtir (41). Ancak vimentin glomerüler podositlerde de eksprese edilir (76). Benzer şekilde nesitin (başka bir ara filament proteini), fibroblast aktivasyonunun yararlı bir belirteci olabilir, ancak glomerüler podositlerde de bulunur (87). Diğer fibroblast belirteçlerinin kendi dezavantajları vardır. Örneğin, FSP1 başlangıçta fibroblastlar ve miyofibroblastlar için spesifik olarak karakterize edilmiş olsa da çalışmalar aynı zamanda lökositlerle birlikte lokalize olduğunu göstermektedir (41,88). CD73 ile ilgili olarak, sadece interstisyel fibroblastlarda değil, aynı zamanda proksimal tübüler hücreler, mezangiyal hücreler ve T hücreleri dahil olmak üzere diğer birkaç hücre tipinde de eksprese edilir (41). PDGFR β fibroblastlarda, miyofibroblastlarda, vasküler düz kas hücrelerinde ve perisitlerde bulunur (25,89).

Aktive edilmiş fibroblastlar genellikle iki temel özellik ile karakterize edilir: proliferasyon ve miyofibroblastik aktivasyon. İkincisi, aSMA ifadesi ve matris üretimi ile gösterilmektedir (79). Hem fibroblastlar hem de miyofibroblastlar, hasarlı böbreklerde fibroblast popülasyonunun ve interstisyel boşluğun genişlemesine yol açan

sitokin salınımına yanıt olarak çoğalma kapasitesine sahiptir (90). PDGF, TGF- β , temel fibroblast büyüme faktörü (FGF2) ve bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) dahil olmak üzere birçok fibrojenik büyüme faktörü, fibroblastlar için iyi bilinen mitojenlerdir (91-94) Çalışmalar, bu klasik sitokinlere ek olarak, doku tipi plazminojen aktivatörünün, fibroblastların hayatta kalmasını, çoğalmasını ve miyofibroblastik aktivasyonu destekleyen başka bir kritik faktör olduğunu göstermektedir (95-98).

Çalışmalar, vasküler perisitlerin, fibrotik böbreklerde önemli bir miyofibroblast kaynağı olduğunu düşündürmektedir (77,99-101). Perisitler, kılcal duvarları kısmen kaplayan ve böylece endoteli stabilize eden stromal hücrelerin bir alt kümesidir. Böbrek hasarını takiben perisitler endotelden ayrılır, göç eder ve çoğalır ve miyofibroblastlara farklılaşır (Şekil 2). Perisitlerin hikayesi oldukça ilginçtir. Çünkü patolojik koşullar altında perisit ayrılması ve miyofibroblastlara farklılaşması sadece mikrovaskülaritenin unstabil hale gelmesine yol açmaz, aynı zamanda interstisyel fibrozise yol açan miyofibroblast aktivasyonuna da katkıda bulunur. Bununla birlikte, PDGFR β gibi belirteçler, fibroblastlar içeren birçok hücre tipinde bulunduğundan sadece perisitler için spesifik değildir. Fibroblastlar, renal interstisyumdaki hücre süreçleri yoluyla kılcal damarlara karmaşık bir şekilde bağlı olduğundan, tanımlanan perisitlerin ve interstisyel fibroblastların aynı varlık olup olmadığı açıklanmaya devam etmektedir (41).

2.2.5.2 Epiyelyal-Mezenkimal Geçiş

Matriks üreten hücrelerin başka bir kaynağı, embriyonik gelişim, tümör metastazı ve organ fibrozu sırasında meydana gelen bir hücre fenotipik dönüşüm süreci olan EMG'ye maruz kalan tübüler epitel olabilir (61,67,102-104). Benzer şekilde, fibroblastlar ve/veya miyofibroblastlar kapiler endotelden endotelyal-mezenkimal transfer (EndoMG) ile türetilir (105,106). Endotel hücreleri özel bir epitel türü olduğundan, EndoMG'nin benzersiz bir EMG formu olduğu düşünülmektedir. EMG'nin renal fibrozise katkısı tartışmalıdır ve birçok inceleme ve tartışmanın odak noktasıdır (100,107-113).

Tübüler epitel hücrelerinin in vitro olarak, çeşitli profibrotik sitokinlerin, özellikle TGF- β 1'in bombardmanı altında, epitelial özelliklerin kaybı ve mezenkimal belirteçlerin edinilmesi ile karakterize edilen EMG'ye maruz kalabileceği konusunda geniş bir fikir birliği mevcuttur (101,114). Bununla birlikte, bu geçişin yalnızca in vitro bir durumu temsil edip etmediği veya in vivo olarak meydana gelip gelmediği, tartışmanın merkezinde yer alır. Bir genetik soy izleme, yaşam haritalama tekniği

kullanan erken bir çalışma, FSP1 + interstisyel fibroblastların üçte birinden fazlasının, bir obstrüktif nefropati fare modelinde tübüler epitelden türetildiğini göstermiştir (115). Benzer şekilde, iki bağımsız çalışma da endotel hücrelerinin çeşitli fibrotik böbrek hastalıklarında EndoMG yoluyla fibroblastların ve/veya miyofibroblastların oluşumuna önemli bir katkı yaptığını göstermektedir (105,106). Bununla birlikte, bu sonuçlara, fibroblastların epitelyal veya endotelyal kökeninin belirgin olmadığı bir dizi benzer hücre yaşam haritalama çalışması tarafından itiraz edilmiştir (101,116). Şimdiye kadar, bu tutarsızlıkların ardındaki sebep kesinlik kazanmamıştır.

Fibrotik böbreklerde α SMA, vimentin ve FSP1 gibi fibroblast belirteçlerinin tübüler ekspresyonu iyi belgelenmiştir (25). TGF- β 1/Smad, ILK, Wnt/ β -katenin ve Snail1 gibi EMT-düzenleyici sinyalleme anahtar araçları, yaralanmadan sonra renal tübüler epitelde tercihen aktive edilir (117,118). Ayrıca morfolojik kanıtlar, epitel hücrelerinin gerçekten de yaralanmadan sonra tübüler bazal membranı (TBM) geçerek interstisyuma geçtiğini gösterir (119).

EMG, epitel hücrelerinin ve fibroblastların sürekli bir ara hücre fenotipleri spektrumunun iki ucunu temsil ettiği dinamik bir süreçtir. Epitel hücrelerinin tüm EMG seyrini tamamlama ve nihayetinde fibroblastlara dönüşme sıklığı muhtemelen sınırlıdır ve büyük ölçüde hastalık modellerine, evrelere ve iltihaplı ortamda artan sitokin basıncının kalıcılığına bağlıdır (120). Çoğu durumda, tübüler hücreler, EMG'nin transkripsiyonel programı aktive olmasına rağmen, epitel hücrelerinin yalnızca bir veya iki fenotipik belirteci değiştirdiği kısmi bir EMG'e maruz kalır. Bununla birlikte, böyle bir kısmi EMG, kötü sonuçlarla yakından ilişkilidir ve insanlarda interstisyel fibrozise doğru ilerlemeyi tahmin ettirir (121).

2.2.5.3 Dolaşımdaki Fibrositlerin Alımı

Fibrositler, periferik kanda fibroblast benzeri özelliklere sahip, dolaşımdaki kemik iliği kaynaklı monositlerin bir alt kümesidir (122). Hematopoietik hücre belirteci CD45'i eksprese eden ve tip I kollajen üretebilen iğ şeklindeki hücrelerdir (123,124). Fibrositler ayrıca CCR7 gibi belirli kemokin reseptörlerini de ifade eder. Böbrek hasarına yanıt olarak, fibrositler mobilize olur, böbrek parankimine sızar ve fibrogeneze katılır. Fibrositlerin farklılaşması, salgılanan sitokinler yoluyla CD4⁺ T hücreleri gibi diğer enflamatuar hücreler tarafından modüle edilir (125). Profibrotik sitokinler IL-4 ve IL-13, fibrosit farklılaşmasını desteklerken, antifibrotik sitokinler IFN- γ ve IL-12 bu süreci inhibe eder; bu da karmaşık bir sitokin karışımı içeren iltihaplı

bir ortamın, fibrosit farklılaşmasının ana belirleyicisi olduğunu düşündürür (126). Renal fibrozlu fare modellerinde, anjiyotensin II tip 1 reseptörünün farmakolojik inhibisyonu hem böbrek hem de kemik iliğindeki fibrosit sayısını azaltır ve renal fibrozu iyileştirir (127). Bu bulgu, renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonunun, fibrositlerin farklılaşmasını ve genişlemesini düzenleyerek renal fibrozisin patogenezine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (127).

Renal fibrojenizde fibrositlerin göreceli önemi, tartışmalarla dolu başka bir alandır. Bu hücreler için spesifik belirteçler eksik olduğundan, fibrositlerin monositlerden, makrofajlardan, fibroblastlardan ve miyofibroblastlardan net bir şekilde ayrılması büyük bir zorluktur. Ek olarak, fibrositlerin alt popülasyonları var gibi görünmektedir (124). Şimdiye kadar, renal fibrozda fibrositlerin ve genel olarak kemik iliği kaynaklı hücrelerin katılımına ilişkin deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlar tutarsızdır (88,115,125,128). Bazı araştırmalar, fare obstrüktif nefropati modelinde kollajen üreten fibroblastların önemli bir yüzdesinin fibrositler veya kemik iliği kaynaklı hücrelerden kaynaklandığını gösterse de (115) aynı modeldeki (125) diğer çalışma, kemik iliği kaynaklı hücrelerin kollajen üreten hücre havuzuna neredeyse hiç katkıda bulunmadığını göstermektedir (37,128). Bu konunun açıklığa kavuşturulması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (21).

Fibroblastların farklı kökenleri muhtemelen fenotipik heterojenliklerine katkıda bulunur. Her soyun miyofibroblast havuzuna nispi katkısı, hastalık modeline ve hastalığın spesifik evresine bağlı olabilir (21). Muhtemelen, fibroblastlardan, perisitlerden veya fibrositlerden miyofibroblast aktivasyonu erken bir olaydır (41), oysa EMT genellikle sürekli bir yaralanmadan sonra geç bir aşamada gerçekleşir (120) (Şekil 2). Fibroblastların ve EMG'in erken aktivasyonunun renal fibroz üzerindeki patolojik etkileri farklı olabilir. Renal fibrozisin başlaması için fibroblastların aktivasyonu önemli olmasına rağmen, EMG fibrozun ilerlemesi ve geri dönüşümsüzlüğünün ana belirleyicisi olabilir (21) (Şekil 2).

2.2.6 Yürütme (Uygulama)

Farklı kökenlerine bakılmaksızın, tüm kaynaklardan aktive edilmiş fibroblastlar büyük miktarda ESM bileşeni üretir, bu da interstisyel matriksin aşırı birikmesine, ağırlıklı olarak tip I ve tip III kollajenler ve fibronektin içeren kollajen liflerin oluşumuna yol açar. Bu fibrotik matriks proteinlerinin nasıl sentezlendiği, salgılandığı, interstisyel boşlukta uygun şekilde bir araya getirildiği ve son olarak proteolize

direnecek şekilde nasıl değiştirildiği, renal fibrogenezin yürütme aşamasını anlamak için temel bir soru olarak karşımıza çıkmaktadır (21).

2.2.6.1 Fibrojenik Moleküler Mekanizmaların Oluşumu

ESM proteinlerinin matris üreten hücreler tarafından ekspresyonu ve sentezi, öncelikle çeşitli hücre dışı fibrojenik ipuçlarına yanıt olarak gen transkripsiyonu seviyesinde kontrol edilir. Anahtar fibrojenik faktörler arasında TGF- β 1, PDGF, FGF2, CTGF ve anjiyotensin II yer alırken, hepatosit büyüme faktörü ve kemik morfogenetik protein 7, esas olarak TGF- β 1 hareketini antagonize ederek matris bileşenlerinin üretimini inhibe eder (90,129-133). Bu fibrojenik sitokinler, ilgili reseptörleri ve spesifik hücre içi akış sinyal kaskadları aracılığıyla, transkripsiyonlarını aktive etmek için kollajen ve fibronektin genlerinin promotör bölgelerindeki aynı kökenli elementler üzerinde etki eden bir dizi transkripsiyon faktörünü aktive eder. Bu tür sinyal iletim basamakları ve matris genlerinin ifadesi de çeşitli mikroRNA'lar tarafından düzenlenir (134-138). Bu çalışmalar, matris genlerinin moleküler düzeyde düzenlenmesini anlamak için önemli bilgiler sağlamıştır. Bununla birlikte, bu in vitro çalışmalardan elde edilen verilerin in vivo olarak fibrotik böbreklerdeki matris genlerinin düzenlenmesini gerçekten yansıtmayı yansıtmadığı belirsiz kalır. Fibrotik ortamdaki fibroblastlar tipik olarak bir sitokin kokteyli ile bombardımana tutulduklarından, bu uyarılara koordineli bir şekilde nasıl tepki verdikleri çözülmemiş bir muammadır (21).

Aktive edilmiş fibroblastlar, stres lifleri içerir ve hücre dışı fibronektin içeren matris ile hücre içi aktin mikrofilamentleri arasında bol miktarda transmembran bağlantıları (aynı zamanda fibroneksus olarak da bilinir) sergiler (139), bunun ESM ve integrinlerin etkileşiminin arttığını düşündürür (25). İntegrinler, α ve β alt birimlerinden oluşan ve ESM'ye ve hücre iskeletine bağlanan, böylece hücreler ve onların hücre dışı ortamları arasındaki 'dıştan içe' ve 'içten dışa' sinyalleri entegre eden bir heterodimerik transmembran reseptör ailesidir (140,141). İntegrinler, enzimatik veya aktin bağlayıcı aktiviteye sahip olmadıklarından, iletim yönünde ki efektör kinazı, fokal adezyon kinazı ve ILK'yı aktive ederek sinyallerini iletirler. Kapsamlı araştırmalar, bir iskelet veya adaptör proteini ve bir serin/treonin protein kinaz olan ILK'nın, çeşitli fibrojenik sinyalleri entegre eden moleküler bir platform olarak hizmet etmeye uygun olduğunu göstermektedir (142).

2.2.6.2 Matriks Biriktirme ve Modifikasyon

Fibriler kollajenlerin in vivo olarak birleştirilmesi ve birikmesi de integrin bağımlı bir olaydır. Renal fibrozisin erken evresinde, fibronektin birikimi, fibriler kollajenlerin üretiminden önce gelir. Fibronektin integrinleri aktive eder, prokollajen sekresyonu ile birlikte lokalize olur ve fibriler kollajenler için gevşek yapı iskeleti oluşturur. Bu süreci, salgılanan asidik ve sistein açısından zengin protein (SPARC) ve tip IV kollajen gibi çeşitli yeni matris proteinlerinin yanı sıra vitronektin, trombospondin, dekorin ve heparan sülfat proteoglikan üretimi takip eder (143) Fibronektine ek olarak SPARC, fibriler kollajen düzeneğinin düzenlenmesinde özellikle önemli görünmektedir (144). SPARC, kollajeni bağlayan matriselüler protein olarak adlandırılan bir proteindir ve yetişkin dokularındaki ekspresyonu sıklıkla aşırı kollajen birikimi ile ilişkilidir. SPARC-eksik fareler, çeşitli uyaranlara karşı güçlü bir fibrotik tepki üretmez (144). İlginç bir şekilde SPARC, $\beta 1$ integrin'e bağlanabilir ve ILK sinyalini etkinleştirir, bu da integrin-ILK kompleksi ve matris düzeneği arasında potansiyel bir bağlantı olduğunu gösterir (145).

Renal fibrozisin erken evresinde, kollajen matriksi proteolize duyarlıdır ve bu nedenle fibrozis potansiyel olarak tersine çevrilebilir ve bu da yara iyileşmesine yol açar. Bununla birlikte, fibroz ilerledikçe, fibrotik böbreklerdeki matriks, normal dokulara kıyasla önemli ölçüde değiştirilir. Matriks proteinlerinin çapraz bağlanma yoluyla biyokimyasal modifikasyonları, doku transglutaminaz ve lisil oksidaz gibi enzimler tarafından indüklenir ve bu da onları sert ve proteolize dirençli hale getirir (143). KBH olan hastalardan alınan biyopsi örneklerinde, doku transglutaminaz ekspresyonu artmıştır ve renal fibrozisin ciddiyeti ile yakından ilişkilidir (25). Tutarlı bir şekilde, farelerde hem genetik ablasyon hem de doku transglutaminazın farmakolojik inhibisyonu, hasarlanmadan sonra renal fibrozisi önemli ölçüde azaltır (146,147).

2.2.7 Progresyon

Renal fibrozisin yalnızca matriks bileşenlerinin aşırı birikiminin bir sonucu olduğu kavramı aşırı derecede basit ve yanıltır ve hatalı olabilir (21). Fibrozisin kendisinin gerçekten böbrek yetmezliğine neden olup olmadığı açık bir soru olarak kalmaya devam ediyor; ne de olsa, fibrozis yara iyileşmesine verilen normal ve erken bir tepkidir. Matriks bileşenlerinin üretiminin ötesindeki birçok hücrel ve moleküler olay, fibrotik hasarın ilerlemesini teşvik eder ve aslında böbrek fonksiyonunun ilerleyici

kaybından sorumludur. Pek çok yönden, progresyon fazında meydana gelen olaylar, renal fibrogenezin geri döndürülebilirliğini ve nihai sonucunu belirleyebilmektedir (21).

2.2.8 Tübüler Hasarlanma ve Atrofi

Tübüler epitel hücreleri, böbrek parankiminin büyük bölümünü oluşturur ve çeşitli metabolik, immünolojik, iskemik ve toksik saldırıların birincil hedefidir (21). Yaralanmanın ciddiyetine ve süresine bağlı olarak, tübüler hücreler proliferasyon, otofaji, büyümenin durması, EMG ve apoptoz gibi çok çeşitli tepkiler sergiler. KBH'li hastalarda, tübüler hasarın histopatolojik sunumu, muhtemelen apoptoz ve EMG'nin bir sonucu olarak sıklıkla tübüler atrofi olarak karakterize edilir (21).

Tübüler epitelin renal fibrosiz potansiyel katılımı, hasarlanmadan sonra renal tübüllerde majör enflamatuar ve fibrojenik sinyalleme aktivasyonu ile gösterilmektedir. Hücre stresine veya yaralanmalarına yanıt olarak, renal tübüler epitelde NF κ B sinyali aktive olur, bu da enflamatuar sitokinlerin üretimini ve salınmasını tetikler ve peritübüler inflamasyonu başlatır. Tübüler epitel hücreleri, hem hasarlı tübül hem de infiltre edici hücreler tarafından üretilen TGF- β 1'e duyarlıdır ve EMG'yi içeren bir fibrojenik programı başlatır (21). Tübüler epitel hücrelerinde sürekli hasar ayrıca ILK, β -katenin, Notch1 ve hipoksi ile indüklenebilir faktör 1'i (HIF1) aktive eder, bunların tümü renal fibrojenizde yer alan anahtar hücre içi sinyal araçlarıdır(147,117,149-152). Özünde, NF κ B, Smad ve β -katenin gibi majör fibrojenik sinyalleme tübüler aktivasyonu, çeşitli fibrotik böbrek hastalıklarının karakteristiğidir (52,137,149).

Tübüler epitel hasarı, en azından başlangıçta, genellikle otofaji ve hücre proliferasyonu gibi koruyucu ve rejeneratif tepkileri tetikler (21). Fibrotik böbreklerin renal tübüllerinde hücre proliferasyonu artmasına rağmen, muhtemelen artan apoptoz ve EMT oranı nedeniyle tübüler atrofiye yol açan epitel hücrelerinin net kütlesi azalır (153). Ayrıca, G2/M fazında bekleme gibi, hasarlanmadan sonra hücre döngüsünün ilerlemesindeki kusurlar, tübüler hücrelerin artan bir TGF- β ekspresyonu ile pro-fibrotik bir fenotipe geçmesine neden olarak fibrozisi teşvik eder (153).

Tübüler yaralanma ve atrofi şüphesiz tübüler işlevi bozar ve endojen koruyucu mekanizmalarının etkinliğini azaltır. Örneğin, normal böbreklerdeki tübüler hücreler tarafından üretilen bir antifibrotik faktör olan kemik morfogenetik protein 7 seviyeleri, KBH'li hastalarda ilerleyici olarak azalır (154). Proksimal tübüller aynı zamanda 1 a hidroksilazın etkisiyle aktif D vitamini sentezinin yapıldığı yerdir. Bu nedenle, tübüler

atrofi D vitamini eksikliğine neden olabilirken, kusurlu D vitamini reseptörü sinyali EMG'i, tübüler atrofiyi ve renal fibrozu teşvik ederek bir kısır döngü oluşturur (149,155-157). Kronik hasarlanma sadece tübüler hücelere zarar vermekle kalmaz, aynı zamanda altta yatan tübüler bazal membranın (TBM) bütünlüğünü de bozar. Kalınlaşmış bir TBM, ilerlemiş KBH'nin önemli bir patolojik özelliği olmasına rağmen, TBM'nin bütünlüğü bozulur ve TBM'nin ana bileşeni olan tip IV kollajen, renal fibrojenizde geçici olarak azalır (119,158). Tutarlı bir şekilde, tip IV kolajeni ve laminin'i parçalayan proteazlar olan matriks metalo-proteinaz 2 (MMP2) ve MMP9, hasarlı böbreklerde indüklenir (119), ve MMP2'nin transgenik ekspresyonu veya MMP9'un eliminasyonu renal fibrozisi sırasıyla destekler veya iyileştirir (158,159). Bu nedenle MMP'ler, renal fibrozisin patogeneğinde fibroz aşamasına özgü ikili bir işleve sahip olabilir (160). MMP'ler, ileri aşamada ESM'nin bozulmasını teşvik ederek matriks birikimini azaltarak böbreği koruyabilse, erken aşamadaki aktivasyonları, TBM'nin bütünlüğünü bozarak ve EMG'i kolaylaştırarak genellikle patojeniktir (119,158).

2.2.9 Mikrovasküler Yoğunluğun Azalması

Renal fibrozis tipik olarak, özellikle ileri evrede, peritübüler mikrovasküler yoğunluğun azalması ile ilişkilidir. Fibrotik böbreklerdeki peritübüler kılcal damarların kaybından birden fazla mekanizma sorumlu olabilir (21). Yukarıda tartışıldığı gibi, EndoMG işlemi yalnızca matriks üreten fibroblastları ve/veya miyofibroblastları üretmekle kalmaz, aynı zamanda doğrudan endotel hücrelerinin kaybına da yol açar (21). Buna göre, EndoMG'in spesifik bir Smad3 inhibitörü (SIS3) tarafından bloke edilmesi endoteli koruyabilir, renal fibrozu azaltabilir ve diyabetik nefropatinin ilerlemesini geciktirebilir (161). Perisit-miyofibroblast farklılaşması, vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) izomerlerinin (VEGF164'ten VEGF120 ve VEGF188'e) salgılanmasında bir geçişi tetikleyerek endotel kaybına ve renal fibrojenizde mikrovasküler seyrekleşmeye yol açar (162).

Peritübüler damar sistemi, ilerlemiş KBH'de endotel hücrelerinin apoptozunun neden olduğu hasara karşı hassastır. İskemi ve oksidan stres, endotelyal hücreler için bilinen apoptotik uyarıcılardır ve peritübüler kılcal damarların seyrelmesine yol açan potansiyel bir mekanizma olabilir (163,164). Benzer şekilde, peritübüler kılcal damarların bütünlüğü endotel disfonksiyonu ile bozulabilir. Endotel hücrelerinde, ilerlemiş renal fibrozda yaygın bir bulgu olan ileri glikasyon son ürünleri için reseptörün aktivasyonu, süperoksit oluşumunu, NADPH oksidaz ve p38 mitojenle

aktive olan protein kinazın aktivasyonunu ve NFκB'nin nükleer translokasyonunu indükleyebilir (165).

2.2.10 Kronik Hipoksi

Renal interstisyumdaki kronik hipoksi, ilerlemiş KBH'nin karakteristiğidir ve bu durumdaki hastalarda yaygın bir patolojidir (161-163). Mikrovasküler seyrekleşme, fibrozisin bir sonucu olarak ortaya çıkan azalan oksijen difüzyonu ve tübüler hücrelerin artan metabolik ihtiyaçları da dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar hasarlı böbreklerde kronik hipoksiye yol açar. Hipoksi, tübüler EMG'e veya apoptoza yol açabilir, stabil fibroblastları aktive edebilir ve peritübüler kılcal damarları bozabilir, böylece kronik hipoksi ve ilerleyici böbrek yetmezliği döngüsü yaratabilir (21). HIF1, hipoksiye hücre yanıtlarının ana düzenleyicisidir (164). HIF1, hipoksiye karşı adaptif tepkilere aracılık eden bir gen pilini kontrol etse de, HIF1'in uygunsuz aktivasyonu, EMG'i uyandırdığı ve fibrojenik genlerin ekspresyonunu indüklediği için zararlı olabilir (151,152).

2.2.11 Renal Fibrozis Patofizyolojisinin Çözülmesi Nasıl Katkı Sağlar?

Renal fibrojeniz, böbreklerdeki hemen hemen tüm hücre tiplerini ve ayrıca infiltrate hücreleri içeren son derece karmaşık, dinamik bir süreçtir. Son on yılda, renal tübülointerstisyel fibrozis anlayışı, özellikle inflamasyonun, fibroblast aktivasyonunun, tübüler ve mikrovasküler hasarın fibrojenize nasıl katkıda bulunduğuna ilişkin olarak, önemli ölçüde gelişmiştir (24,25). Matriks üreten fibroblastların çeşitli kökenleri ve fenotipik heterojenliği için artık eskisinden daha iyi bir anlayışına sahibiz (21). Ayrıca, proteazlar ve makrofajlar gibi fibrozisteki iyi bilinen birkaç faktörün yeni karakterize edilen eylemleri, bu alanda yerleşik dogmaya meydan okumaktadır ve bunların renal fibrojeniz ve yaralanmanın onarımındaki rolleri hakkındaki düşüncemizde bir değişikliğe sebep olmaktadır (33,165).

Renal fibrozisi durdurmak için temel patojenik mediatörleri ve yolları hedefleyen çeşitli stratejiler hayvan modellerinde etkili olduğundan, bu modellerden bazıları gelecekte KBH hastaları için klinik olarak anlamlı hale gelmelidir (21). Renal interstisyel fibrozisin KBH progresyonuna neden olduğu da göz önüne alındığında fibrozisi öngörmede kullanılacak her türlü belirteç ve molekülün tesbiti önemli hale gelmektedir.

2.3. Proteinüri

Fizyolojik koşullarda idrarla günlük protein atılımı 150 mg'ın altındadır. Tekrarlanan ölçümlerde bu değerin üzerinde protein atılımının saptanması, yani proteinüri, gözardı edilmemeli ve ileri değerlendirme yapılmalıdır (166). Bu düzeyin üzerindeki protein atılımı genel olarak altta yatan böbrek hasarının önemli bir göstergesidir

İdrarda protein atılımının normal sınırlarda olup olmadığının değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan yöntem 24 saatlik idrarda protein ölçümüdür. Daha kolay olması nedeniyle son dönemde bu yonteme alternatif olarak spot idrarda kreatinin ve protein oranının hesaplanmasının kullanımı gündemdedir. Bu oran $1,73 \text{ m}^2$ vücut alanına sahip bir bireyde günlük protein atılımının yaklaşık bir göstergesi olabilmektedir (166). Bu yöntemde elde edilen oran rakamsal olarak günlük protein atılımına denk gelmektedir (Örn: İdrarda total protein / kreatinin oranının 4,9 saptanması günlük protein atılımının $4,9 \text{ g}/1,73 \text{ m}^2$ olduğunu gösterir) (167). Bu yöntem her zaman doğru sonuçlar vermeyebilir. İdrarda atılan kreatinin miktarının umulandan farklı çıktığı durumlar da bunlardan biridir. Örneğin kas kitlesi yüksek ve buna bağlı olarak da idrarda atılan kreatinin miktarı fazla olan kişilerde protein atılımı az görülürken, aksine kaşektik kişilerde mevcuttan daha fazla protein atılımı hesaplanabilir. Yine bu yöntemle benign proteinüri durumlarını (ortostatik proteinüri vb) tanımlamak da tek başına mümkün olmayabilir (166).

Klinikte, proteinüri varlığı çoğunlukla bu yöntemlerden önce, idrar çubukları vasıtasıyla farkedilmektedir. Bu çubuklar albumine karşı duyarlıdır ve bu nedenle albumin dışındaki moleküllerin atılımının arttığı iyi huylu durumlarda, multipl myelomda ve mikroalbuminüri düzeyindeki diabetik hastalarda tanı için yeterli olamamaktadırlar (166). Açıklanamayan böbrek hasarı varlığında idrarın sulfasalilik asit ile test edilmesi halinde mevcut olan bütün protein miktarı tespit edilebilir. Bu yöntem Glomerüler hipertansiyonun, artmış angiotensin-II'nin de katkısıyla, glomerül duvarını gererek zarar görmesine ve 'por'ların genişleyip protein filtrasyonundaki boyut-seçiciliği özelliğini kaybederek, multipl myelom tanısında faydalıdır (166). Diabetik nefropatili hastalarda ise idrar çubuğunda proteinin pozitifleşmesi hastalığın geç bir bulgusudur. Bunun nedeni bu çubukların ancak günlük 300-500 mg üzerinde albumin atılımı varlığında pozitifleşiyor olmasıdır. Bundan daha düşük düzeylerdeki proteinürinin tespitinde yetersizdirler.

Proteinüri, klinikte karşımıza esas olarak iki şekilde çıkabilir.

2.3.1. Geçici Proteinüri

En sık rastlanan proteinüri şeklidir. Kadınların %7'sinde, erkeklerin ise %5'inde ortaya çıkabilir (168). Egzersiz, ateş gibi stres yaratan faktörler geçici olarak artmış protein atılımına yol açabilirler. Mekanizmasında norepinefrin ya da angiotensin-II artışına bağlı ortaya çıkan geçirgenlik değişikliğinin rol oynadığı düşünülmektedir (168-170). Egzersize bağlı proteinüri 1.5 mg/dk'ya kadar ulaşabilir. Hem düşük hem de yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin atılımının artması, tübüler ve glomerüler patolojinin bir arada olduğunu düşündürmektedir. Geçici proteinüri; fizyolojik (ateş vb. etkenlere yanıt olarak), intermitant (arasında normal dönemler olan ataklar halinde) ya da ortostatik (ayakta iken proteinürinin mevcut olduğu ancak yatar pozisyonda kaybolduğu tip) olabilir.

2.3.2. Kalıcı Proteinüri

Bu durum çoğunlukta altta yatan sistemik ya da böbreğe ait bir hastalığın varlığında ortaya çıkmaktadır. Örneğin konjestif kalp yetmezliğinde, artmış angiotensin II ve norepinefrine bağlı geçirgenlik artışı ve proteinüri olabilir (171). Glomerüler hastalıklarda ise primer (fokal glomerüloskleroz, membranöz nefropati vb) ya da sekonder (DM,HT vb) tutulumla bağlı olarak gelişebilir.

2.3.3. Proteinüri Dereceleri

- Normal: 150 mg/24 saatten az veya 15 mg/mmol
- Nefritik: 150-3000 mg/24 saat veya 12-300 mg/mmol
- Nefrotik: 3500 mg/24 saatten fazla veya 350 mg/mmol'den fazla

Proteinüriyi oluşturan protein tipi, immünoelektroforez ile belirlenebilir (172).

2.3.4 Albüminüri (mg/gün)

- Normal: 30'dan az
- Mikroalbüminüri: 30-300
- Makroalbüminüri: 300'den fazla (173)

2.3.5 Proteinüri Tipleri:

Proteinüri, oluşma mekanizmasına göre temel olarak üç başlık altında toplanır: Glomerüler, tübüler ve 'overflow' proteinüri şeklindedir.

2.3.5.1 Glomerüler Proteinüri:

Bu durum makromoleküllerin (albumin) glomerüler duvardan normalden fazla filtre edilmesi ile ortaya çıkar. İyi huylu sebepleri olsa da (ortostatik proteinüri, egzersize bağlı proteinüri) daha ciddi sebeplere de (diabetes mellitus ve diğer glomerüler hastalıklar) bağlı olabilir. İyi huylu sebeplere bağlı olarak ortaya çıkan proteinüri genel olarak 1-2 gr/gün'ü geçmez. Hastada glomerüler bir hastalık düşündürülen idrar bulguları; hematüri, eritrosit silendirleri, lipidüri ve zaman zaman nefrotik sınırlara varan proteinürüdür. Glomerüler hasar yapan çok sayıda hastalık vardır. Bunlar böbrek kaynaklı primer veya sistemik ya da sekonder olabilirler.

2.3.5.2 Tübüler Proteinüri:

Bu durum düşük molekül ağırlıklı proteinlerin (Beta-2 mikroglobulin, aminoasitler, retinol bağlayıcı protein, immünglobulin ve hafif zincir proteinleri) atılmasıyla ortaya çıkmaktadır. Bu proteinler sağlıklı bireylerde glomerüllerden filtre edildikten sonra neredeyse tamamen geri emilmektedirler, ancak tübülointerstisiyel bir hasar varsa bu geri emilimi bozabilmektedir. Tübülointerstisiyel proteinüri zaman içerisinde, altta yatan hastalığın yarattığı nefron kaybına bağlı olarak glomerüler proteinüriye dönebilir. İdrar çubukları düşük molekül ağırlıklı proteinleri tanımadıklarından tanıda faydalı değildir.

2.3.5.2.1 'Overflow' Proteinüri:

Bu durum, nefronun normal geri emme kapasitesini aşacak dereceden daha çok miktarda düşük molekül ağırlıklı protein üretilmesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu proteinlerin tama yakını immunoglobulin hafif zincir proteinleridir (multipl myelom, benign monoklonal gammapati vb).

2.3.6 Proteinüriye Bağlı Hasar Mekanizmaları:

Yukarıda proteinüri gelişme mekanizmaları kabaca verilmiştir. Bu bölümde ise proteinürinin meydana gelen hasar üzerindeki etkileri ve bunların mekanizmaları anlatılacaktır.

Bugün, proteinüri, altta yatan primer hastalığın bir bulgusu olmasının yanı sıra, nefronlara hasar veren bir başka etken olarak da görülmektedir. Geçmişe bakıldığında; 1978 yılında Cameron ve arkadaşlarının nefrotik düzeyde proteinürisi olan hastaların prognozunun, nefrotik düzeyde proteinüri geliştirmeyen hastalara göre belirgin kötü olduğunu göstermesi, yine benzer sonuçların mezengiokapiller (174) ve membranöz glomerülo nefritli (175) hastalarda da rapor edilmesi, proteinüri ve renal hasarın ilerleyişi arasındaki ilişkinin ilk kanıtları olarak karşımıza çıkmaktadır. O yıllarda, bu durumun uzun süreli nefrotik sendromun glomerüler kapillerlerde trombüse yol açmasına bağlı olduğu ya da direkt olarak proteinüriye bağlı hasar geliştiği iddia edilmiştir.

Takip eden dönemde, nefron kaybını karşılamak için sağlam nefron başına düşen GFH'nin artırılmasının ve buna bağlı gelişen glomerüler hipertansiyonun, zaman içinde altta yatan hastalık ortadan kalksa bile, sağlam nefronlarda da hasar oluşmasına yol açtığı anlaşılmış olup buna bağlı olarak protein ultrafiltrasyonuna yol açtığı iddia edilmiştir (176-178).

Günümüzde glomerüler hasarın temelinde artmış intraglomerüler basıncın ve eşlik eden inflamasyonun rolü açık olarak bilinmektedir. İntraglomerüler basınç artışı, esas olarak üç ana sebepten dolayı; var olan nefron kaybını karşılamak amacıyla kompensatuar olarak, diabetes mellitus örneğinde olduğu gibi renal vazodilatasyon sonucu ya da glomerüler hastalık sonucu geçirgenliğin bozulması ve buna bağlı olarak glomerüler filtrasyon hızının azalmasına bir tepki olarak düzeltici amaçlı ortaya çıkabilir. Artan basınç, direkt mekanik etki ile endotel hücre hasarına, mesangial hücreler üzerinde yarattığı baskı ile de inflamatuvar sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınmasına yolaçar. İnflamasyon ise zaten var olan hasarın artmasına sebep olur ve bu iki etken kısır döngü ile birbirlerine bağlanırlar. Proteinüri ise bu iki etkenin hem sonucu hem de sebebi olarak karşımıza çıkabilir.

Sonuç olarak, günümüzde; proteinürinin eşlik ettiği glomerülopatilerde, glomerüler kapiler bariyer üzerinden gerçekleşmekte olan anormal protein trafiğinin hastalığın bir parçası olmasının yanı sıra intrinsik bir toksisiteye yolaçtığı ve hastalığın ilerlemesine doğrudan katkısı olduğu kabul edilmektedir. Proteinürinin bu etkisini,

varolan inflamasyonu artırarak gösterdiği düşünülmektedir. Buna yönelik kanıtlar arasında atılan protein miktarının, tübülointerstisiyel infiltrattaki -inflamatuvar hücre ve özellikle T lenfosit miktarı ile ilişkisi olması gösterilebilir (178). Özellikle T lenfosit miktarı, böbrek fonksiyon kaybının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Proteinürinin tübülointerstisiyel hasarı artırmasına yol açan birden fazla mekanizma var gibi gözükmektedir. Bu mekanizmalar aşağıda özetlenmiştir.

Uzun süreli ve fazla miktarda protein geri Emilimi proksimal hücre fonksiyonunu bozmakta ve lizozomal enzim kaçığına yol açmaktadır (179).

Albumin geri Emilimi sırasında albumin ile birlikte yağ asitleri de Emilimde, bu yağ asitleri kapiler duvarlarda ve interstisiyumda birikerek kemoatraktan aktiviteleri sayesinde inflamasyonu uyarmaktadırlar (180).

Filtre edilerek tübüler alana geçen kompleman faktörleri, özellikle proksimal tübül hücrelerine bağlanarak aktive olmakta ve hücre hasarına yol açmaktadır (181).

Transferrin gibi bazı moleküllerin proksimal hücreler üzerinde doğrudan toksik etkileri vardır (182).

Protein geri Emilimi, özellikle proksimal tübül hücrelerinde, gen transkripsiyonunu da etkilemektedir. Yapılan in-vitro çalışmalarda; lipidden arındırılmış albumin, transferrin ve immunoglobulin G'ye maruz bırakılan proksimal tübül hücrelerinin konsantrasyona bağımlı şekilde giderek artan miktarlarda endotelin-1 sentezledikleri gösterilmiştir (183). Albumin ve transferrinin, monosit kemoatraktan protein (MCP-1) geninin transkripsiyonunu uyardığı, bu uyarının luminal protein geri Emiliminin lizin aracılığıyla engellenmesi halinde ortadan kalktığı gösterilmiştir (184).

Benzer şekilde albuminin RANTES sitokinin miktarında artışa yol açtığı bilinmektedir (185). Kültür hücrelerinde MCP-1, RANTES ve endotelin-1'in, tübülointerstisiyel alandaki hasarın lokalizasyonu ile uyumlu olacak şekilde, bazolateral bölgelerde kümelenmeye eğilimli oldukları da bilinmektedir (186). Endotelin-1, MCP-1 ve RANTES ile ilgili bu in-vitro çalışmalar in-vivo gözlemlerle de uyumludur. Moleküler düzeyde inflamatuvar gen transkripsiyonunun artmasına yol açan faktör, nükleer faktör-kB'dır (NF-kB). Normalde proksimal hücre sitoplazmasında inaktif durumda bulunan bu faktör, proksimal hücre içindeki albumin ve idrarla atılan protein miktarının artmasına paralel olarak artmakta ve inflamatuvar gen transkripsiyonu üzerindeki engellemeyi ortadan kaldırmaktadır (187).

Proteinüriye eşlik eden inflamasyonda, normalde proksimal hücre bazal duvarda bulunması gereken T lenfosit CD40 reseptörleri tübüler duvara kaymaktadır

(188). T lenfositlerine bağlanmış proksimal hücreler daha fazla inflamatuvar sitokin ve kemoatraktan üretmektedirler.

Protein geri emilimine bağlı hormonal (artmış glukagon ve IGF-1 salınımı) ve intrarenal (artmış sodyum emilimi sonucu aktive olan tübüloglomerüler geri uyarı) değişikliklerle ortaya çıkan hiperfiltrasyon ve artmış intraglomerüler basınç söz konusudur. Proteinüri, bu etkilerinin yanısıra, glomerüler hipertansiyona, intraglomerüler ozmotik basıncı artırarak ve hiperfiltrasyona yolaçarak da katkıda bulunabilmektedir. Bu kısır döngü ile nefron hasarı geri dönüşümsüz noktaya ulaşabilmektedir.

2.3.7 Proteinüri ile Kronik Böbrek Hastalığı ve Renal Fibrozis Arasındaki İlişki

Alta yatan Proteinürinin önemli olması, onun ilerleyici böbrek fonksiyon kaybı ve nihai böbrek yetmezliği sonuçlanmasıyla ilişkilidir (189). Ayrıca, proteinürideki değişiklikler böbrek fonksiyonları ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (189). Örneğin, büyük bir popülasyonda yapılan kohort çalışmasında, albuminürideki artış katsayısı ile böbrek yetmezliği derecesi arasında ilişki bulunmuştur. Stabil albüminürisi olan ya da albüminüri düzeyleri azalan hastalarda daha az renal fonksiyon bozulması görülmüştür (190). Artan proteinüri ile diyabete bağlı ve diyabetik olmayan KBH'da ve pediyatrik popülasyonlarda dahil olmak üzere hemen hemen tüm böbrek hastalıklarında daha kötü prognoz görülür (191). Proteinürinin kendisinin, böbrek fonksiyonunun kötüleşmesiyle sonuçlanan patofizyolojik süreci yönlendirdiği açıktır ve proteinüri, kardiyovasküler riski de doğrudan etkiler (189).

Proteinüriyi böbrek fonksiyon kaybına bağlayan patofizyoloji karmaşıktır ve hala tam olarak anlaşılammıştır. Ancak filtre edilen proteine, tübüler epitel hücrelerin tepkisi üzerine odaklanılmıştır. Yukarıda da bahsedildiği gibi filtrelenmiş albumin, proksimal tübüler epitel hücreleri tarafından yeniden emilir (189).

Bununla birlikte, ağır veya kalıcı proteinüri ile başa çıkmak için tasarlanmış lizozimler ve endoplazmik retikulumu içeren hücre içi yollar aktiflenir (192). Tübüler hücreler buna, sitokinlerin üretimiyle yanıt verir, inflamasyonu teşvik eder ve makrofajlar gibi enflamuar hücreleri çeker (193). Albuminin, ayrıca tübüler hücre fonksiyonunda apoptozla sonuçlanabilecek bir dizi değişikliği indüklediği de düşünülmektedir (194). Ayrıca albumine bağlı serbest yağ asit (özellikle oleik/linoleik asit) ve metabolitleri esansiyel olmayan yağ asidi uzun zincirli asil-CoA, tübüler

hücrelerin lipoapoptozunu uyarır (195). Genel olarak stresli renal tübüler hücrelerdeki değişiklikler dönüştürücü büyüme faktörü-beta 1 (TGF- β 1) gibi profibrotik araçların üretimini içeren kısmi bir mezenkimal fenotipe doğru bir kaymayı temsil eder (196). Renal tübüler hücrelerin bir kısmı bu geçişi daha da ileri götürür ve mevcut olan interstisyel fibroblastlar birlikte interstitium'a göç eder, doğrudan ekstraselüler matriks ve fibrozis üretimine katkıda bulunurlar.

Ayrıca Albümine doğrudan maruz kalma bir epigenetik mekanizma yoluyla, proksimal tübüler hücrelerde Klotho ekspresyonunu azaltır; Bunun hiperfosfatemiye, daha yüksek fibroblast büyüme faktörü-23 seviyelerine ve dolaşım da daha düşük seviyelerde Klotho bulunmasına sebep olduğuna inanılmaktadır (197,198). Bu durum, albüminürinin diğer belirteçlerden farklı olarak kardiyovasküler risk faktörü olarak önemini açıklayabilir. Kanagliflozinle albüminüri seviyelerinde sağlanan düşüşün kardiyovasküler riski %36 azalttığı görülmüştür (199).

Renal tübüler epitelin proteinüri ve fibrozis gelişimine yanıtında yer alan sinyal yollarına ilişkin anlayışımız sürekli gelişmektedir (189). Çeşitli sitokinlerin, mikroRNA ve ekstraselüler veziküllerin, tübüler epitel içindeki hücrelerin kendi arasında ya da epitel ile interstisyum arasında bilgi ilettiği bilinmektedir (200).

Proteinüri varlığında aktive olan yollar şunları içerir: TGF- β /SMAD, protein kinaz C ve mitojenle aktive olan kinaz, anjiyotensin II, c-Jun amino-terminal kinaz ve Janus kinaz/sinyal transdüserleri ve transkripsiyon aktivatörlerini içerirler (201,202).

Bu yolların aktivasyonu , üzerine normal T hücresi eksprese edilir ve salgılanır ,TGF- β 1, vazokonstriktör peptid endotelin-1, monosit kemoatraktan protein-1, tümör nekroz faktörü- α , interlökin-8, interlökin-6 ve fraktalkin gibi vazoaktif, enflamatuar ve profibrotik sitokinlerin üretimiyle sonuçlanır (203). Bunlar daha sonra renal tübüler epitel hücrelerinin çoğalmasına, hücre dışı matris birikmesine ve o bölgeye daha fazla nötrofiller, lenfositler, monositler, makrofajlar, miyofibroblastlar ve T hücrelerinin çekilmesine neden olur. Bu enflamasyon döngüsü ve aktive edilmiş hücresel yanıt, böbrek epitel hücrelerinin çoğalmasına ve mezenkimal bir fenotipe farklılaşmasına , progresif tübüler hasara ve apoptoza ve nihai olarak geri dönüşümsüz interstisyel fibroza doğru ilerlemeye sebep olur.ilginç bir şekilde Proteinüriye bağlı tübüler hasarın kendisi , patolojik yan etki potansiyeli ile glomerüler patolojiye sebep olur. Sonuç olarak proteinüri ve glomeruloskleroz gelişmesine müteakip selektif tübüler hasar görülmüştür (204,205). Nefrini parçalara ayıran ve podosit ayaklarının silinmesine neden olan, tübüler metalloproteinazların üretim

meknizması için yapılan öneriler tam olarak anlaşılammıştır (206-209). Glomerüler patoloji tarafından başlatılan ve böbrek hastalığının kötüye gitmesinde rolü olan tübüler- glomerüler patolojiler ilerde daha da araştırılacaktır (189).

2.4 Serum Gastrin Salgılatıcı Peptid

2.4.1 Gastrin Salgılatıcı Peptid Tanımı Ve Özellikleri

GSP, bir amfibi tetradekapeptid bombesinin insan analogudur (208). McDonald ve arkadaşları sGSP'yi memeli gastrointestinal kanalında tanımlayan ilk kişilerdi (209). GSP Başlangıçta gastrin salınımı uyarma yeteneği nedeniyle bu adı almıştır (210). Ancak GSP'nin ifadesi sadece Gastrointestinal sistemle kısıtlı değildir. Ayrıca merkezi sinir sisteminde yaygın ve homojen bir şekilde dağılır (208).

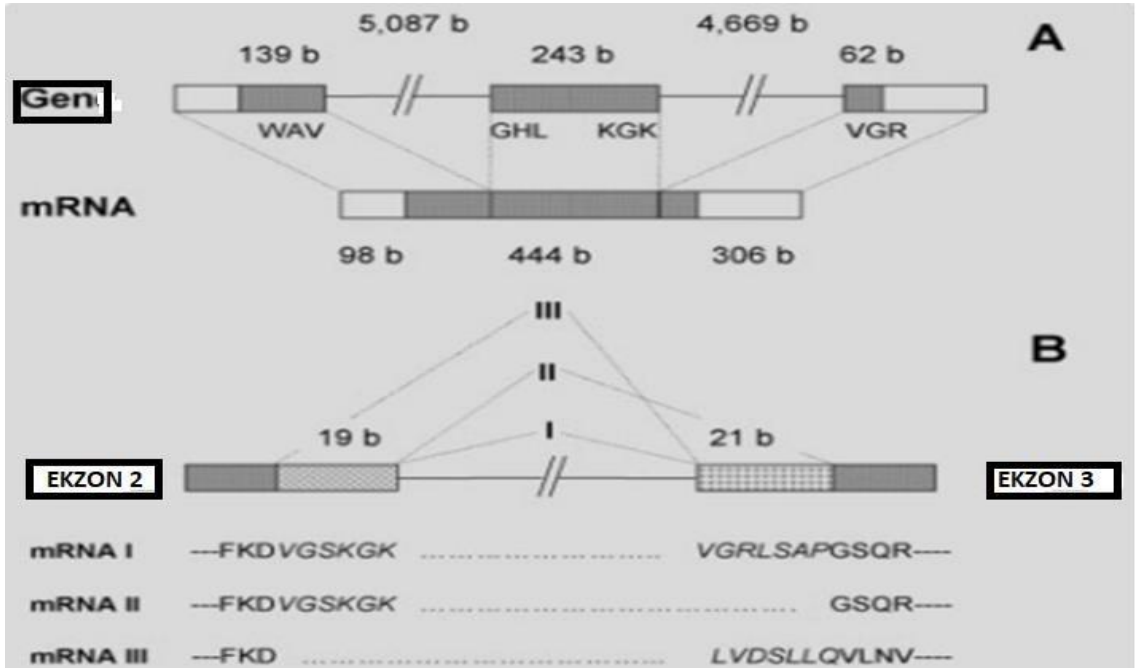
GSP, ekzokrin ve endokrin sekresyonlar, intestinal geçiş gis metabolizması, düz kas kasılması, ağrı iletimi, kan basıncının korunması, tokluk, vücut ısısının düzenlenmesi dahil olmak üzere çok sayıda fizyolojik fonksiyonda önemli bir rol oynar (211,212). Ayrıca, GSP belirli kanserlerde otokrin veya parakrin etkiyle bir mitojen, morfojen ve proanjijojenik faktör olarak işlev görür (213,214).

2.4.2 Gastrin Salgılatıcı Peptid Yapısı

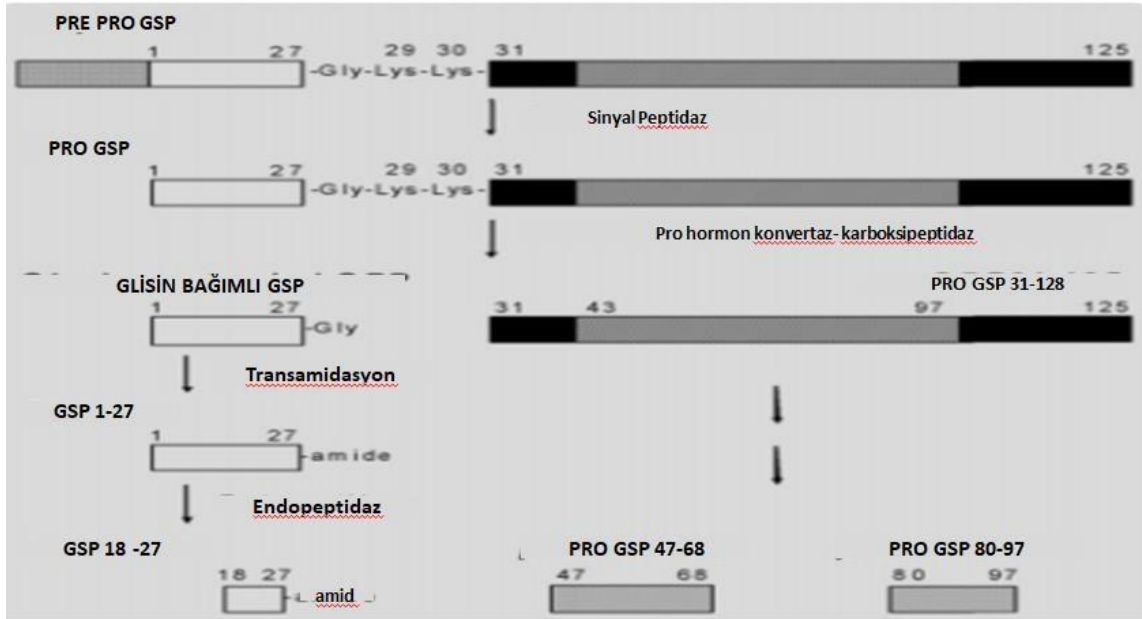
İnsan GSP geni, 18q21 kromozomunda bulunur ve üç ekzon ve iki intron içerir (Şekil 1) (215). Üç izoformu C-terminal uçlarında farklılık gösteren proGSP, tek bir mRNA'dan alternatif birleştirme ile ortaya çıkar (217). Bu Formlar için mRNA'lar ilk 122'si için amino asitleri aynı olan sırasıyla I, II ve III, 148, 141 ve 138 amino peptitleri kodlar (216). PreproGSP (form I) başlangıçta bir 148 prepropeptid olarak sentezlenir (Şekil 2). 23 amino asit peptid sinyalinin çıkarılması proGSP1-125'i üretir ve daha sonra 29-30 konumlarındaki Lys-Lys sekansından sonra C-terminal parçası proGSP31-125 i serbest bırakmak için bölünme meydana gelir. Sonrasında ise bir karboksi peptidaz iki lizini GSP1-30'un C-terminalinden GSP1-27gly üretmek için uzaklaştırır. Metiyoninin C-terminalinin amidasyonu GSP1-27amid verir ve 17 konumunda yüksek oranda korunmuş tek arginin içeren GSP18-27amid üretir. GSP18-27amid ise GSP olarak anılacaktır. Bu bağlamda GSP alternatif bölünme ile birden fazla forma dönüştüğü görülmekte olup içerdikleri aminopeptidlere göre farklı aktivite şekilleri almaktadır (216). Yapılan çalışmalarda GSP'nin yarı ömrünün kısa olması sebebiyle kanda ölçülmesi ve izlenmesi son derece zordur. Pro-peptid olan pro-gastrin salan peptid

(proGSP) ise uzun bir yarılanma ömrüyle stabildir ve hasta takiplerinde kullanılmaktadır (217).

Üç adet memeli GSP reseptörü alt tipi vardır, GSP reseptörü (GSP-R), nöromedin B reseptörü (NMB R) ve bombesin reseptörü alt tipi 3 (BRS-3). Her üçü de yedi transmembranlı G-protein-bağlı reseptörler üzerinden etki ederler (216). Memelilerde GSP-R (218) ve NMB-R (219) için doğal ligandlar tanımlanmıştır ancak BRS-3 (220,221) için tanımlanamamıştır.



Şekil 3:GSP'nin gen ve mRNA yapısı



Şekil 4: preproGSP ve proGSP ‘nin işlenmesi ve sinyal moleküllerinin ortadan kaldırılması

2.4.3 Gastrin Salgılatıcı Peptidin Kullanıldığı Alanlar ve Hastalıklarla İlişkisi

GSP’nin bu zamana kadar birden fazla hastalık türünde ilişkisi olduğu ve farklı organ lokasyonlarındaki tümör hücrelerinde eksprese edildiği tespit edilmiştir (222). Kolon kanseri hastalarının %62’sinde, pankreas adenokarsinomu olan hastaların %59’unda, prostat kanseri hastalarının %60’ında, meme kanseri hastalarının %39’unda, Küçük Hücreli Akciğer Kanserin (KHAK) %74’ünde ve akciğer karsinoid tümör hastalarının %42’sinde tespit edilmiştir (223,224).

2.4.3.1 Gastrin Salgılatıcı Peptid ve Yara Onarımı

GSP’nin inflamasyon ve yara onarımındaki rolü büyük ilgi uyandırmaktadır. GSP-R antagonistleri sepsisin zararlı etkileri azaltmak için olası tedaviler olarak önerilmiştir (225,226). Amitlenmiş GSP analog bombesinin (14 kalıntılı bir kurbağa peptidi, amidlenmiş Yedi kalıntısı GSP21– ile aynı olan C-terminali 27) muhtemelen NMB-R (227) aracılığıyla yara onarımında gerekli faktörlerin ifadesini uyardığı da düşünülmektedir. Ek olarak, GSP ve reseptörünün artritteki rolü araştırılmış, artritli diz eklemlerin sinovyum hücrelerinde ve inflamatuvar infiltratta GSP, GSP-R mRNA ve protein miktarının artmış olduğu bulunmuştur (228,229). Aynı zamanda, artritli dizlerin kondrosit kaplamasında GSP-R immünoreaktivitesi bulunmuşken bu aktivite

normal dizlerin eklem yüzeyinde tespit edilmemiştir (229). Bu durum bize GSP'nin doku hasarı ve inflamasyonla ilişkili olabileceğinin düşündürmektedir.

2.4.3.2 Gastrin Salgılatıcı Peptid ve Renal Hücreli Kanser ilişkisi

GSP sadece medüller tiroid karsinomları (230), küçük hücreli akciğer karsinomları (231) nöroblastomlar, gibi nöroendokrin maligniteler için değil aynı zamanda meme karsinomları, kolon, prostat ve pankreas kanserleri içinde önemli bir büyüme faktörü olarak belirlenmiştir (230-236).

Pansky ve arkadaşları tarafından Renal hücreli karsinomun (RHK) büyümesi, çeşitli RHK hücre hatlarının büyümesini uyaran GSP ve reseptörünün varlığı ile ilişkili bulunmuştur (237).

Rubi ve arkadaşları insan RHK örneklerinde Bir radyoaktif ligand kullanarak tümör epiteli üzerinde GSP reseptörünü tanımlamıştır. Yakın zamanda yapılan çalışmalar GSP reseptörünün sadece tümör epitelinde bulunmadığını, aynı zamanda mikrovasküler yapılarda da mevcut olduğunu göstermektedir (239). Aynı şekilde mikrovasküler GSP reseptörünün, potansiyel olarak RHK'de neo anjiyogenez ile ilgili olduğu da gösterilmiştir. Çünkü mikrodamar oluşumunun GSP reseptörü antagonisti RC-3095 tarafından bir hayvan modeli çalışmada inhibe edildiği ortaya konulmuştur (208).

Malign tümörler %50'ye kadar stromal hücreler içerir monositler/makrofajlar da bunun ölçülebilen ve işlevsel önemli alt popülasyonudur. Tümör mikroçevresi ve hipoksi, tümörle ilişkili makrofajların (TİM) büyümeyi artırabilen ve tümör hücrelerinin yayılmasına sebep olan sitotoksik bir fenotipe farklılaşmasını indükler (240-245). Nöropeptitler, örn. GSP, makrofajların işlevi önemli ölçüde modüle eder. GSP'nin GSP reseptörü bulunduran makrofajlarda, adezyon değişikliği, göç ve fagositoz üzerinde etkisi vardır (246,247). Yapılan çalışmada GSP reseptör ekspresyon analizi, özellikle TİM ve mikrovasküler yapılarda ve tüm vakaların tümör hücrelerinde pozitif bulunmuştur (208). İlginç bir şekilde, makrofajlarda GSP salınımı sadece, kronik bronşit ve akciğer iltihabı ve fibrozis gibi inflamasyon altında ifade edilmiştir (248,249).

Şimdiye kadar araştırmacılar, GSP ve GSP-R'nin makrofajlar ve mikrovasküler yapılar üzerindeki ekspresyonuna dikkat etmemişdiler. Bağışıklık hücrelerinde bombesin/GSP ekspresyonu, dolaşımdaki periferik monositlerde ve alveolar makrofajlarda tanımlanmıştır (250). Ayrıca, GSP murin peritoneal makrofajlar için

kemoatraktan olarak görev yapabilir (247) ve sitotoksik doğal öldürücü hücreleri hem in vivo hem de in vitro olarak uyarabilir (251). Buna karşılık, Meloni ve arkadaşları, bombesin/GSP'nin periferik monositler tarafından interlökin-8 (IL-8) salınımını uyardığını ve böylece dolaylı olarak neoanjyogenezi ve tümör büyümesini destekleyebileceğini gösterdiler (250). Renal karsinomlarda ise, çok sayıda infiltrat monosit ve makrofaj zaten tanımlanmıştır (252).

Sonuç olarak, RHK'de hem GSP hem de GSP reseptörünün varlığı mevcut olup TİM, intratümöral GSP'nin ana kaynağıdır (208). Renal karsinomlarda TİM, tümör epiteli ve mikrodamarlar arasında bir parakrin/otokrin sinyal iletimi mevcuttur. GSP reseptörlerinin mikrodamarlar ve tümör epitelindeki fonksiyonel önemi araştırılmışken, makrofajlarda ki GSP reseptörü ekspresyonunun önemi ve fonksiyonunun daha fazla açıklığa kavuşturulması gerekmektedir (208).

2.4.3.3 Gastrin Salgılatıcı Peptid ile Akciğer Fibrozis ve Sarkoidoz

GSP akciğerde, nöroendokrin hücrelerde, nöroepitelyal cisimlerde ve sinir uçlarında bulunur (253-255). GSP bronş epitel hücreleri, küçük hücreli akciğer karsinomu ve fibroblastlar için bir büyüme faktörüdür (256-258). sGSP interstisyel akciğer hasarlarında fibrozisin ilerlemesinde granülom oluşumunda rol oynayabilir (259).

Yapılan bir çalışmada IPF'li ve Sarkoidozlu hastaların serumlarında ProGSP (31-98) düzeyleri sağlıklı deneklerle karşılaştırılmıştır. Hastalarda, sağlıklı kişilere göre serum ProGSP (31-98) değerleri ile BAL sıvısı ProGSP (31-98) değerleri ile anlamlı şekilde yüksek tespit edilmiştir (259).

Day ve arkadaşları (260,261) tarafından asbeste maruz kalan sıçanların akciğerlerinde BLP'nin artmış seviyelerde olduğu bildirilmiş olup, Nöroendokrin hücrelerin, asbest maruziyeti nedeniyle pulmoner inflamasyon ve fibrozdan etkilendiği tespit edilmiştir. Bombesinin (GSP analogu) , aktiveleştirilmiş alveoler makrofajlar tarafından, interlökin-beta salınımını arttırdığı ve insan fibroblastlarının proliferasyonunu uyardığı bulunmuştur (262,263). GSP'nin amfibi bombesin ile aynı biyolojik etkilere sahip olduğu varsayımıyla, GSP'nin akciğer fibrozu ve granülom oluşumu süreçleri sırasında çok önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (259).

GSP, alveoler makrofajlardan granülosit/monosit koloni uyarıcı faktör ve interlökin-1 beta gibi sitokinlerin salınımını uyarabilir (262, 264). Bu sonuçlar ışığında

sGSP'in interstisyel akciğer hastalıklarında fibrozis ve granülom oluşumunda rol oynayabileceği düşünülmektedir (259).

2.4.3.4 Gastrin Salgılatıcı Peptid ve Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

Pro-gastrin salgılatıcı peptid (pro-GSP), KHAK teşhisinde faydalı, yeni ortaya çıkan, dolaşımdaki bir biyobelirteçtir (265-267). Pro-gastrin salgılatıcı peptid, fizyolojik sindirim sürecinde yer alan aktif bir hormon olan gastrin salan peptidin (GSP) öncüsüdür. GSP fetüsün akciğerlerinin nöroendokrin hücrelerinde, sinir sistemi hücrelerinde, normal bronşiyal epitel hücrelerinde, pulmoner fibroblastlarda ve yetişkin nöroendokrin hücrelerinde gösterilmiştir (269-271). GSP, KHAK için in vitro mitojenik aktivite göstermektedir, ancak skuamöz hücreli kanser veya akciğer adenokarsinomu için aynı aktiviteyi göstermemiştir (272). Pro-GSP'nin doğrudan türevi olan GSP, KHAK hücreleri için bir otokrin büyüme faktörü görevi görebilir ve GSP reseptör mRNA'sı, KHAK vakalarının beşte ikisinde bulunur (273). Akciğer kanseri örneklerinde GSP'nin ilk tespiti 1983'te olmuştur. Bu molekülün başlıca sınırlaması, yarılanma ömrününün yaklaşık 2 dakika gibi kısa bir süre olmasıdır. (274). Bu nedenle, son yıllarda çok daha kararlı olan öncü pro-GSP'i tanımlamak için laboratuvar testleri geliştirilmiştir (275).

Pro-GSP diğer tümör markerlarının aksine KHAK ve KHDAK ayrımını yapmada istatistiksel olarak anlamlı farka sahiptir. Kemoterapi sonrasında yapılan seri ölçümlerde serum pro-GSP seviyeleri hastalık regresyonu ile korele azalım göstermektedir. Hastalığın progresyonu durumlarında ise serum pro-GSP seviyeleri artmaktadır. Tümör evrelemesinde ek faktörler de devreye girdiği için o konuda çok belirgin ayırım yapılamamıştır. Ayrıca Tedavi öncesi yüksek serum Pro-GSP konsantrasyonuna (140, 410 ng/L) sahip olunması olumsuz prognostik faktör olarak bulunmuştur (276 -279).

2.4.3.5 Gastrin Salgılatıcı Peptid ve Medüller Tiroid Kanseri

Medüller tiroid kanseri nöroendokrin kökenli bir kanserdir (280). Serum Pro – GSP 'nin medüller tiroid kanserinde teşhiste ve izlemde kullanılabileceği üzerine literatürde çalışmalar mevcuttur. Luca ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada serum Pro-GSP seviyeleri aktif medüller tiroid kanserli hastalarda kür olanlara göre belirgin yüksek bulunmuştur (280). Ayrıca medüller tiroid kanserli hastaların serum

pro-GSP seviyeleri non- medüller tiroid kanserleri hastaların serum pro-GSP seviyelerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yükseklik göstermiştir. Non- medüller tiroid kanseri ve diğer benign tiroid hastalıklarında serum pro-GSP seviyelerinde ise farklılık tespit edilmemiştir (280).

2.4.3.6 Gastrin Salgılatıcı Peptid ve Diğer Kanser Türleri

GSP ayrıca kolon, pankreas, prostat ve meme dahil olmak üzere diğer bazı karsinom türleri için güçlü bir mitojen etkiye sahiptir (281,282).

2.4.3.7 Gastrin Salgılatıcı Peptid ve Kalp Yetmezliği

GSP'nin inflamasyon ve doku onarımındaki rolü ve nöroendokrin aktivasyonu yansıtmaya kabiliyetine dayanarak, serum pro-GSP seviyelerinin Kalp yetmezliği (KY) sırasında da etkilenebileceği düşünülebilir (283). ProGSP'nin, miyokardiyal fibrozis ve enflamasyonu teşvik ederek KY'nin ilerlemesinde yer alan bir makrofaj aktivasyon belirteci olan galektin-3 ile güçlü bir korelasyon gösterdiğine dair bulgu, proGSP'nin miyokardın yeniden şekillenmesinde rol oynadığını düşündürülebilir (284,285).

GSP katekolamin sekresyonunun önemli bir düzenleyicisidir, (286) bu da BNP üretimini artırabilir, (287) KY'deki proGSP seviyeleri, nörohormonal aktivasyonu, kötüleşen böbrek fonksiyonunu ve miyokardiyal yeniden şekillenmeyi yansıtır gibi görünmektedir (283). Bununla birlikte, yetersiz miyokardın kendisinin, en azından kısmen, KY hastalarında yüksek proGSP seviyelerine katkıda bulunma olasılığında düşünülmektedir (283).

Sonuç olarak, bir nöropeptit olan serum pro GSP seviyeleri özellikle ciddi klinik KY bulguları olan ve böbrek fonksiyonu bozulmuş, kalp yetmezliği hastalarında artmaktadır (283).

2.4.3.8 Gastrin Salgılatıcı Peptid ile Kronik Böbrek Hastalığı ve Nefropati İlişkisi

Pro-GSP böbreklerde metabolize edilir ve oradan eliminasyona uğrar (288). Bu nedenle pro-GSP 'nin böbrek hasarlarının tespitini öngörmeye değerli bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir (289). Dai ve ark. yaptığı bir çalışmada farklı patojenik nedene göre nefropati grupları analiz edilmiş. Akut böbrek hasarı ve KBH gruplarında

serum proGSP düzeyleri yükselirken, renal parankimi hasar görmemiş olan diğer böbrek hastalıklarında pro-GSP seviyeleri normal bulunmuştur (290).

Serum pro-GSP renal tübül fonksiyonunu değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan idrar α 1-makroglobulin ve idrar β 2-makroglobulin ile pozitif korelasyon göstermekteyken idrar N-acetyl- β -D-glukozidaz ile göstermemiştir. Bunlar arasında α 1-m ve β 2-m küçük moleküllü (1,2–1,3 kDa) proteinlerdir ve kolaylıkla glomerüler bazal membrandan (GBM) geçerler ve yaklaşık %99,9'u proksimal tübüller tarafından yeniden emilir, yani idrar α 1-m ve β 2-m böbrek tübüller kapasitesini yansıtabilir (290).

Dumesny ve ark. (19), GSP mRNA'sının normal yetişkin böbreğinde, özellikle Henle kulpunun çıkan kalın kolu hücrelerde bulunduğunu belirlemişlerdir. (291). GSP vazopressin, glukagon ve kalsitonin gibi diğer gastrointestinal peptid hormonlarla renal tübüldeki Na-K-2CL'nin ko transporter sistemi üzerinden elektrolit dengesinde görev yapar (290).

Renal tübüller geri emilim bozulduğunda vücutta elektrolit dengesizliğine yol açar, gastrointestinal peptidler sodyum salgılar ve bu da kanda proGSP'yi yükseltebilir (290). Gastrin için yüksek afiniteli bir GSP reseptörü normal böbrekte saptanır ve bu GSP sekresyonun elektrolit dengesine aracılık eder. Yukarıda ki üç göstergenin ilişkilerini analiz edildiğinde serum proGSP'nin, böbrek tübüller hasarından bağımsız olarak elektrolit dengesizliğini düzenlemek için arttığı düşünülmektedir (290).

Pro-GSP düşük moleküllü bir proteindir ve glomerüler bazal membrandan serbestçe geçer (292). Bu nedenle böbrek hasarının erken evresinde serum pro-GSP seviyelerinin esas olarak elektrolit dengesizliğinden ve gastrointestinal sekresyonunun kendisinden etkilendiği düşünülmektedir (290). Böbrek hasarı orta ve geç aşamalara ilerlediğinde, glomerüler bazal membran ciddi şekilde hasar görür ve proGSP, endotel hücreleri ve baziler membranın içinden geçemez ve bu nedenle kan dolaşımında birikebilmektedir (293). Bu mekanizma bize serum proGSP seviyelerinin, GBM hasarının şiddeti ile kademeli olarak yükselebileceğini düşündürmektedir (290).

Sonuç olarak Böbrek hasarının başlangıç aşamasında serum pro-GSP seviyelerinin muhtemelen elektrolit dengesi ile tutarlı olduğu; orta ve geç aşamalarda ise glomerüler filtrasyon işlevini yansıttığı düşünülmektedir (290).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Etik Yönü

Serum gastrin salgılatıcı peptid renal tübülointersitisyal fibrozis için bir biyobelirteç midir? başlıklı tez çalışması Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun onayı alındıktan (29/11/2021 tarihli, Karar No:504) sonra başlandı.

3.2. Çalışma Grubu

Yaptığımız kontrollü klinik kesitsel çalışmada yaş aralığı 18-70 olan, bu çalışmaya Hitit Üniversitesi Erol Olçok EAH, nefroloji kliniğinde takipli 49 hasta ve 20 sağlıklı kontrol katılımcı alındı. Çalışma öncesi etik kurul onayı alındı, Helsinki Deklarasyonuna uyuldu. Çalışmaya alınan hastaların tümüne yapılacak işlemler, bu işlemlerde kullanılacak yöntemler hakkında bilgi verildi. Araştırmaya katılan hastalardan tetkiklerin uygulanabilmesi, fizik muayenelerin yapılabilmesi için gerekli yazılı onam belgesi alındı. Tüm hastaların isim, soy isim, yaş, cinsiyet ve diğer demografik özellikleri kaydedildi. Araştırmanın yapılacağı gün sabah, 8 saatlik açlık sonrasında hastaların ayakkabısız olarak boy (metre cinsinden) ve ağırlıkları (kg cinsinden) ölçülerek kaydedildi. Kilogram olarak ağırlık, metre cinsinden boy ölçümünün karesine bölünerek vücut kitle indeksi (VKİ) hesaplandı. Araştırma grupları 2 gruba ayrıldı; Grup 1, kontrol grubu olup; KBH olmayan, böbrek fonksiyonları korunmuş iç hastalıkları veya nefroloji polikliniğine başvuran ve rutin kan tahlili istenen gönüllülerden, Grup 2 ise Onsekiz yaş üzeri proteinüri ve/veya hematüri ve açıklanamayan böbrek fonksiyon bozukluğu nedeni ile böbrek biyopsisi planlanan hastalardan çalışmaya katılmak isteyenlerden oluşturuldu. Katılımcıların ayrıntılı fizik muayene, rutin takipte kullanılan laboratuvar testleri, eşlik eden ek hastalıkları ile ilaç ve alışkanlıkları kayıt edildi.

3.2.1. Çalışmaya Dahil Etme Kriterleri

Çalışmaya Onsekiz yaş üzeri proteinüri ve/veya hematüri ve açıklanamayan böbrek fonksiyon bozukluğu nedeni ile böbrek biyopsisi planlanan hastalar ile yaş ve cinsiyet uyumlu olan KBH'sı olmayanlar dahil edildi.

3.3. Katılımcılarda Değerlendirilen Biyokimyasal Parametreler

Katılımcılardan değerlendirme amaçlı böbrek biyopsisi planlanan hastalardan biyopsi yapılacağı gün en az 8 saatlik açlıktan sonra ve kontrol grubunda çalışmaya dahil edildiklerinde alınan kan parametreleri; tam kan sayımı, glukoz, kan üre azotu (BUN), kreatinin (Kre), GFH, total protein, albumin, ürik asit, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), lipid paneli, tam idrar mikroskopisi ve 24 saatlik idrarda protein düzeyleri bakıldı.

3.3.1 Böbrek Biyopsisi

Böbrek dokuları ultrason rehberliğinde Yarı otomatik Tru-cut 16G 15 cm biyopsi iğneleri (Ref No: GSN1615, Geotek Medical Ltd. Türkiye kullanılarak) elde edildi. Histopatolojik değerlendirmeler. sGSP sonuçları ve hastalıktan habersiz iki patolog tarafından yapıldı. Farklı karar aşamasında kalındığında ise biyopsi örnekleri iki patolog tarafından aynı anda yeniden değerlendirildi. 10 ve üzeri glomerül içeren biyopsi materyali yeterli kabul edildi. Biyopsi materyalleri %10 nötr tamponlu formalinde fikse edildi, ardından dereceli alkollerde kurutuldu ve parafine gömüldü. birincil tanı ve histopatolojik değerlendirme için, 0,4 mm kesitler doku örneklerinden hazırlandı ve periyodik asit Şift (PAS), trikrom, hematoksilin ve eozin ile boyandı ve immünfloresan mikroskop ile değerlendirildi. IFTA'nın değerlendirilmesi için, trikrom ve PAS kesitlerindeki kortikal alanlar sırayla Nikon mikroskobunda 200x büyütme ile incelendi. IFTA'nın kapsamı tübüler dilatasyon şeklindeki alanların yüzdesi, korteksin alanı başına fibrozis ve interstisyel infiltrasyon sayılarak değerlendirildi. IFTA puanı, aşağıdakilere dayalı bir puanlama sistemi kullanılarak hesaplandı: IFTA yüzdesi (1= \leq %10; 2=%10–24; 3=%25–50; 4= \geq %50). Bu global glomerülosklerozun değerlendirilmesi benzer bir puanlama sistemi ve ortalama değerler alınarak hesaplanmıştır (294,295)

3.3.2. Serum Gastrin Salgılatıcı Peptid Düzeyinin Ölçümü

sGSP manuel olarak ölçüldü. Çalışma için alınan kanlardan 5 mL'si biyokimya tüpüne alınarak 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 1,310 g de 10 dakika süresince santrifüj edildi ve ayrılan serum analiz edilene kadar – 80 C de muhafaza edildi. Çalışma günü çözdüren serum örnekleri tekrar santrifüj edildi. Pro GSP ölçümü sağlanan mikro ELISA plakası, insan ProGSP'ye özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Dilüe edilmiş standart, kör ve numune için kuyucuklar belirlenmiştir. Uygun kuyucuklara standart, kör ve numunenin her dilüsyonundan 100 µL eklenmiştir. Plaka kitle verilen mühürleyici ile kapatılmıştır. 37°C'de 90 dakika inkübe edilmiştir. Sonrasın da her kuyudan sıvılar boşaltılmış ancak yıkanmamıştır. Hemen her kuyucuğa 100 µL Biotinlenmiş antikor belirleme çalışma solüsyonu eklenmiştir. Plaka yeni bir mühürleyici ile örtülmüştür ve 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Her haznedeki çözelti boşaltılmış ve haznelere 350 µL yıkama tamponu eklenmiştir. Bu tampon 1 dakika bekletilmiş ve solüsyon her kuyudan aspire edilerek boşaltılmış ve temiz emici kağıt üzerinde kurulanmıştır. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlanmıştır. Daha sonra her kuyucuğa 100 µL İnsan ProGSP ve Avidin-Yaban Turpu Peroksidaz konjugatına özgü biyotinlenmiş saptama antikor eklenmiştir. Plaka yeni bir mühürleyici ile örtülmüş ve 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Her kuyudan solüsyon boşaltılmış ve yıkama işlemi 5 kez tekrarlanmıştır. Her kuyucuğa 90 µL sübstrat Reaktif eklenmiş ve plaka yeni bir mühürleyici ile örtülmüştür ve 37°C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edilmiştir. Plaka ışıktan korunmuş ve her kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu, sübstrat solüsyonuyla eş zamanlı olarak eklenmiştir. 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro plaka okuyucu ile her kuyucuğun optik yoğunluğunu spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Optik yoğunluk değeri, Human ProGSP konsantrasyonu ile orantılıdır. Örneklerdeki ProGSP konsantrasyonu standart eğriye göre karşılaştırarak elde edilmiştir. ProGSP ölçüm aralığı 15,63 -1000 pg/ml olarak alınmıştır.

3.3.3. Kullanılan Gereçler

Otoklav, inkübatörler, santrifüj, mikrosantrifüj, manyetik karıştırıcı, hassas terazi, pH metre, buzdolabı, -20 ve -80 °C'lik derin dondurucular, vorteks, çalkalayıcı, farklı boyutlarda tüpler, enjektörler, pastör pipetleri, otomatik pipetler, otomatik pipet uçları, güç kaynağı, pastör fırını, ependorf tüpler, spektrofotometre, buz makinesi, mikrodalga fırın, distile su cihazı ve etüv.

3.4. İstatistiksel Yöntem

Tüm istatistiksel analizler Windows için SPSS 23.0 paketi (IBM Corp.; Armonk, NY, ABD) kullanılarak yapıldı. Grupların normal dağılımını belirlemek için Shapiro Wilks ve Kolmogorov Smirnov analizleri kullanıldı. Veriler, sırasıyla Gauss ve Gauss olmayan dağıtılmış değişkenler için ortalama \pm standart sapma ve medyan (25.-75. çeyrekler arası aralık) olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı ve sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Normal dağılan gruplarda parametrelerin karşılaştırılmasında tek yönlü Bonferroni düzeltmesi yapılan ANOVA ve Student t-testi, normal dağılmayan gruplarda ise Kruskal Wallis ve Mann Whitney U testleri kullanıldı. Parametreler arasındaki ilişkiyi belirlemek için Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Ayrıca her bir değişkenin IFTA varlığı üzerindeki bağımsız etkisi tek değişkenli lojistik regresyon analizi kullanılarak değerlendirildi ve ardından istatistiksel olarak anlamlı parametreler çok değişkenli lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi. Tüm istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık sınırı için $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Araştırmaya katılan 69 katılımcının 20'si (%28,9) kontrol grubunu, 49'u (%71,1) hasta grubunu oluşturdu. Hasta grubunda katılımcıların %46,9'u (n=23), kontrol grubunda ise %40'i (n=8) erkekti ve yaş ortalaması hasta grubunda $44,1 \pm 15,0$ yıl (min-max: 29-59), kontrol grubunda ise $43,4 \pm 7,2$ yıl (min-max: 37-51) idi. Araştırma grupları arasında yaş ortalamaları, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ) değerleri, sistolik kan basıncı (SKB) ve diyastolik kan basınçları (DKB) ölçümleri istatistiksel olarak benzerdi (sırasıyla, $p=0,815$; $p=0,599$; $p=0,367$; $p=0,908$; $p=0,781$). Hasta grubunun %18,4'ünde (n=9) DM, %34,7'sinde (n=17) HT mevcuttu. Hasta grubunun %12,2'si (n=6), kontrol grubunun ise %35'si (n=7) sigara içmekteydi ve bu durum istatistiksel olarak anlamlıydı ($p= 0,042$).

Hasta grubunun böbrek biyopsilerinde FSGS %22,4 (n=11), IgAN %16,3 (n=8), DNP %14,3 (n=7), MDH %12,2 (n=6), MNP %8,2 (n=4), diğer %26,4 (n=13) oranlarında saptandı.

Araştırma grupları arasında laboratuvar değerlerinin karşılaştırılmasında, glukoz, sodyum, fosfor, HDL-k, LDL-k ve ysCRP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu (sırasıyla, $p=0,211$; $p=0,545$; $p=0,789$ $p=0,468$; $p=0,102$; $p=0,989$). Ancak bakılan hemoglobin, BUN, kreatinin, eGFR, potasyum, kalsiyum, albümin, ürik asit, NLO, ESH, proteinüri ve pro-GSP değerlerinin hepsinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p < 0,05$).

Gruplar arasında demografik özelliklerinin ve laboratuvar değerlerinin karşılaştırılmasına ilişkin ayrıntılı veriler Tablo 4'de gösterildi.

Tablo 4. Hasta ve kontrol gruplarının demografik ve laboratuvar özellikleri

Parametreler	Hastalar (n=49)	Kontroller (n=20)	P
Yaş (yıl)	44,1 ± 15,0	43,4 ± 7,2	0,815
Cinsiyet (erkek)	23 (46,9)	8 (40)	0,599
VKİ (kg/m ²)	28,4 ± 4,6	27,4 ± 3,9	0,367
SKB (mm/Hg)	123 (111-135)	123 (109-126)	0,908
DKB, (mm/Hg)	76 (68-84)	77 (70-84)	0,781
DM	9 (18,4)	-	
HT	17(34,7)	-	
Sigara	6 (12,2)	7 (35)	0,042
Histopatolojik teşhisler*			
FSGS	11 (22,4)	-	
IgAN	8 (16,3)	-	
DNP	7 (14,3)	-	
MDH	6 (12,2)	-	
MNP	4 (8,2)	-	
Diğer	13 (26,4)	-	
RAAS blokörleri	11(22,4)	-	
Hemoglobin (g/dL)	12,6 ± 2,2	14,4 ± 1,43	0,002
Glukoz (mg/dL)	95 (90 - 104)	92 (81 -102)	0,211
BUN (mg/dL)	21 (14 - 27)	11 (9 - 13)	< 0,001
Kreatinin (mg/dL)	1 (0,7- 1,6)	0,7 (0,6 – 0,8)	< 0,001
eGFR(mL/min/1.73 m ²)	89 (47 - 106)	108 (102 - 117)	< 0,001
Sodyum (mmol/L)	139,4 ± 2,8	139,1± 1,2	0,545
Potasyum (mmol/L)	4,4 ± 0,4	4,2± 0,1	0,038
Kalsiyum (mg/dL)	8,8± 0,8	9,1± 0,3	0,022
Fosfor (mg/dL)	3,7± 0,8	3,7± 0,2	0,789
Albumin (g/L)	3,3 ± 0,9	4,3 ± 0,3	< 0,001
Urik asit (mg/dL)	6,2 ± 1,4	4,8 ± 1,5	< 0,001
HDL-k (mg/dL)	50 ± 16	53 ± 12	0,468
LDL-k (mg/dL)	134 (97 - 180)	111 (87 - 133)	0,102
NLO	2,04(1,55-2,84)	1,57 (1,24-2,26)	0,039
ESH (mm/saat)	31 (15 - 60)	8 (5 - 17)	< 0,001
ysCRP (mg/L)	3,4 (2 - 10)	4 (3 – 5,5)	0,989
Proteinüri (mg/day)	3591 (2000 – 6000)	62 (50 - 72)	< 0,001
sGSP (U/L)	30,0 (22,1 – 48,1)	19,6 (12,7 – 30,3)	0,004

Kategorik veriler sıklık ve yüzde olarak sunulmuştur; sürekli değişkenler dağılımlarına bağlı olarak ortalama±standart sapmalar veya medyan ve çeyrakler arası aralıklar (IQR:25-75) olarak sunulur.

Kısaltmalar; VKİ, Vücut kütle indeksi; BUN, Kan Üre Azotu; DKB, Diastolik kan basıncı; DM, Diabetes mellitus; eGFR, Tahmini glomerular filtrasyon hızı; ESH, eritrosit sedimentasyon hızı; FSGS, Fokal segmental glomeruloskleroz; HDL-k, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol; hsCRP, yüksek sensitiviteli c reaktif protein; HT, Hipertansiyon; IgAN, IgA nefropati; LDL-k, Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol; RAAS, Renin anjiotensin aldosteron sistem; SKB, Sistolik kan basıncı; MGN, membranöz glomerülonefrit; MDH, Minimal değişiklik hastalığı; NLO, Nötrofil lenfosit oranı.

Hastalar IFTA skorlarına göre 1, 2, 3, 4 olarak ayrıldı ve gruplarda sırasıyla 19 (%38,7), 16 (%32,6), 8 (%16,3), 6 (%12,2) hasta mevcuttu. IFTA skor 3 ve 4'e sahip olan hasta sayısı az olduğu için bu gruplar birleştirildi ve istatistiksel olarak birlikte değerlendirildi. IFTA skoru 1, 2, 3+4 grupları yaş, cinsiyet, VKİ, SKB, DKB, DM, HT, sigara, RAAS blokörleri kullanımı gibi demografik ve glukoz, sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor, albümin, ürik asit, HDL-k, LDL-k, NLO gibi laboratuvar bulguları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). IFTA skor 1'e göre IFTA skor 2'de hemoglobin anlamlı düşüktü ($p=0,044$). BUN, kreatinin, ESH, ysCRP seviyelerininin IFTA skoru arttıkça yükseldiği görüldü (sırasıyla $p = 0,002$, $p<0,001$, $p<0,009$, $p<0,039$). eGFR'nin IFTA skoru arttıkça düştüğü ve tüm gruplar arasında istatistiksel anlamlı olduğu görüldü (sırasıyla $p=0,027$, $p<0,001$). IFTA skor 3+4'de proteinüri miktarı IFTA skor 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p =0,016$). Bununla birlikte, IFTA skoru 1 olan grupta sGSP düzeyleri daha düşük tespit edildi, ancak istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı [IFTA skor 1, 2 ve 3+4'te sırasıyla, 38,5 (28,3-65,0); 23,2 (19,5-48,6); 27,2 (22,2– 36,5), ($p= 0,090$)]

IFTA skorlarına göre hastaların demografik ve biyokimyasal verilerinin karşılaştırılması Tablo 5'de sunulmuştur.

Tablo 5. IFTA skorlarına göre hastaların demografik ve biyokimyasal verilerinin karşılaştırılması

Parametreler	Skor 1 (n=19)	Skor 2 (n=16)	Skor 3+4 (n=14)	P
Yaş (yıl)	42 ± 18	46 ± 16	45 ± 10	0,748
Cinsiyet (erkek)	9 (47,4)	6 (37,5)	8 (57,1)	0,377
VKİ (kg/m ²)	29,2± 4,4	27± 4,6	28,9 ± 4,8	0,327
SKB (mm/Hg)	123 (112 - 134)	120 (109 - 131)	128 (113-143)	0,212
DKB (mm/Hg)	75 (67 - 83)	74 (66 - 82)	78 (69 - 87)	0,428
DM	3(15,8)	3(18,8)	3(21,4)	1,000
HT	6(31,6)	5(31,3))	6(42,9)	0,803
Sigara	2(10,5)	1(6,3)	3(21,4)	0,553
RAAS blokörleri	4(21,1)	3(18,8)	4(28,6)	0,831
Hemoglobin (g/dL)	13,6 ± 1,9 ^a	11,8 ± 2,5	12,1 ± 1,7	0,044
Glukoz (mg/dL)	96 (88 - 106)	94 (90 - 100)	98 (88 - 128)	0,571
BUN (mg/dL)	16 (12 - 22) ^b	18 (12 - 30)	29 (22 - 47)	0,002
Kreatinin (mg/dL)	0,8 (0,6- 0,9) ^c	1,1 (0,8 – 1,4) ^d	1,9 (1,4 – 3,2)	<0,001
Egfr (mL/min/1.73 m ²)	106 (94-120) ^{e,f}	80 (55-100)	33 (20-61)	<0,001
Sodyum (mmol/L)	139±2,8	139,5±2,6	139,8±3	0,713
Potasyum (mmol/L)	4,3±0,4	4,4±0,5	4,3±0,3	0,855
Kalsiyum (mg/dL)	9±0,7	8,7±0,9	8,5±0,6	0,229
Fosfor (mg/dL)	3,4(3-4)	3,55(3,3-4)	3,7(3,27-4,45)	0,236
Albumin (g/L)	3,5 ± 0,9	3,1 ± 1,1	3,1 ± 0,7	0,251
Urik asit (mg/dL)	6,3 ± 1,4	6,1 ± 1,7	6,4 ± 1,2	0,870
HDL-K (mg/dL)	45(40-59)	43(35-51)	34(50-68)	0,530
LDL-K (mg/dL)	135(90-197)	131(90-161)	128(104-239)	0,711
NL oranı	1,87 (1,5- 2,7)	2,59(2,0 – 3,6)	1,74(1,5- 2,9)	0,102
ESH (mm/saat)	22 (10 - 29) ^g	35 (13 - 63)	47 (33- 63)	0,009
ysCRP (mg/L)	3,1 (0,7 - 5) ^h	4 (27 - 10)	7,5(3,1 - 23)	0,039
Proteinüri (mg/gün)	3352 (1640 - 4764) ⁱ	3294 (2000 - 6000)	5932 (3368 – 9270)	0,016
sGSP (U/L)	38,5 (28,3 –65,0)	23,2 (19,5- 48,6)	27,2 (22,2-36,5)	0,209

Kategorik veriler sıklık ve yüzde olarak sunulmuştur; sürekli değişkenler dağılımlarına bağlı olarak ortalama ±standart sapmalar veya medyan ve çeyrakler arası aralıklar (IQR:25-75) olarak sunulur

^ap = 0.032 skor 2 ile karşılaştırıldığında,

^bp = 0.002 skor 3+4 ile karşılaştırıldığında,

^cp <0.01 skor 2 ile karşılaştırıldığında,

^dp < 0.001 skor 3+4 ile karşılaştırıldığında,

^ep = 0.027 skor 2 ile karşılaştırıldığında,

^fp < 0.001 skor 3+4 ile karşılaştırıldığında,

^gp = 0.009 skor 3+4 ile karşılaştırıldığında,

^hp = 0.039 skor 3+4 ile karşılaştırıldığında,

ⁱp = 0.016 skor 3+4 ile karşılaştırıldığında,

Kısaltmalar ; BKİ, Beden kitle indeksi ; BUN, Kan Üre Azotu , DKB, Diastolik kan basıncı; DM, Diabetes mellitus; eGFR, Tahmini glomerular filtrasyon hızı ESR, eritrosit sedimentasyon hızı ; FSGS, Fokal segmental glomeruloskleroz ; HDL-C, yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol; hsCRP, yüksek sensitiviteli c reaktif protein ; HT, Hipertansiyon; IgAN, IgA nefropati; LDL-C, Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol ; RAAS, Renin anjiotensin aldosterone system ; SKB, Sistolik kan basıncı; MGN, membranöz glomerülo nefrit; MDH, Minimal değişiklik hastalığı ; NLO, Nötrofil lenfosit oranı

Serum gastrin salgılatıcı peptid ile değişkenlerin korelasyon analizinde, sGSP ile total kolesterol, LDL-k, proteinüri ve kalsiyum arasında pozitif yönde istatistiksel anlamlı ilişki bulundu (sırasıyla $r_s=0,303$, $r_s=0,313$, $r_s=0,304$, $r_s=0,298$, $p=0,015$, $p=0,012$, $p=0,012$, $p=0,013$). Potasyum, eGFR arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan pozitif ilişki, kalsiyum ve fosfor arasında ise istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan negatif ilişki tespit edildi (sırasıyla $r_s=0,067$, $r_s=0,099$, $r_s=-0,059$, $r_s=-0,108$, $p=0,586$, $p=0,422$, $p=0,633$, $p=0,328$).

Serum gastrin salgılatıcı peptid ile değişkenler korelasyon analizi tablo 6'da sunulmuştur.

Tablo 6. Serum gastrin salgılatıcı peptid ile değişkenlerin korelasyon analizi

sGSP (n=49)		
Değişkenler	r_s	p
Total kolesterol	0,303	0,015
LDL-k	0,313	0,012
Proteinüri	0,304	0,012
Sodyum	-0,059	0,633
Potasyum	0,067	0,586
Kalsiyum	0,298	0,013
Fosfor	-0,108	0,378
eGFR	0,099	0,422

Anlamlılık Spearman rank korelasyon katsayısı kullanılarak belirlendi.

Kısaltmalar; LDL-K, düşük dansiteli lipoprotein kolesterol; sGSP, serum gastrin salgılatıcı peptid.

IFTA skoruna göre değişkenlerin korelasyon analizinde IFTA skoru ile eGFR arasında negatif yönde, IFTA skoru ile proteinüri, ESH, ysCRP ve fosfor arasında ise pozitif yönde istatistiksel anlamlı ilişki saptandı (sırasıyla $r_s=-0,675$, $r_s=0,415$,

rs=0,419, rs=0,368, rs=0,289; $p<0,001$, $p=0,03$, $p=0,03$, $p=0,010$, $p=0,044$). Albumin, sodyum, potasyum ve sGSP ile ise istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan negatif ilişki bulundu (sırasıyla rs= -0,252, , rs=-0,111, rs=-0,239, rs=-0,202; $p=0,059$, $p=0,446$, $p=0,098$, $p=0,168$). IFTA skoru değişkenler korelasyon analizi tablo 7’de sunuldu.

Tablo 7. IFTA skoruna göre değişkenlerin korelasyon analizi

Değişkenler	IFTA skor (n=49)	
	r_s	P
eGFR	-0,675	< 0.001
Proteinuria	0,415	0,003
ESH	0,419	0,003
ysCRP	0,368	0,01
Albumin	-0,252	0,059
sGSP	-0,202	0,168
Sodyum	-0,111	0,446
Potasyum	0,000	1,000
Kalsiyum	-0,239	0,098
Fosfor	0,289	0,044

Anlamlılık Spearman rank korelasyon katsayısı kullanılarak belirlendi.

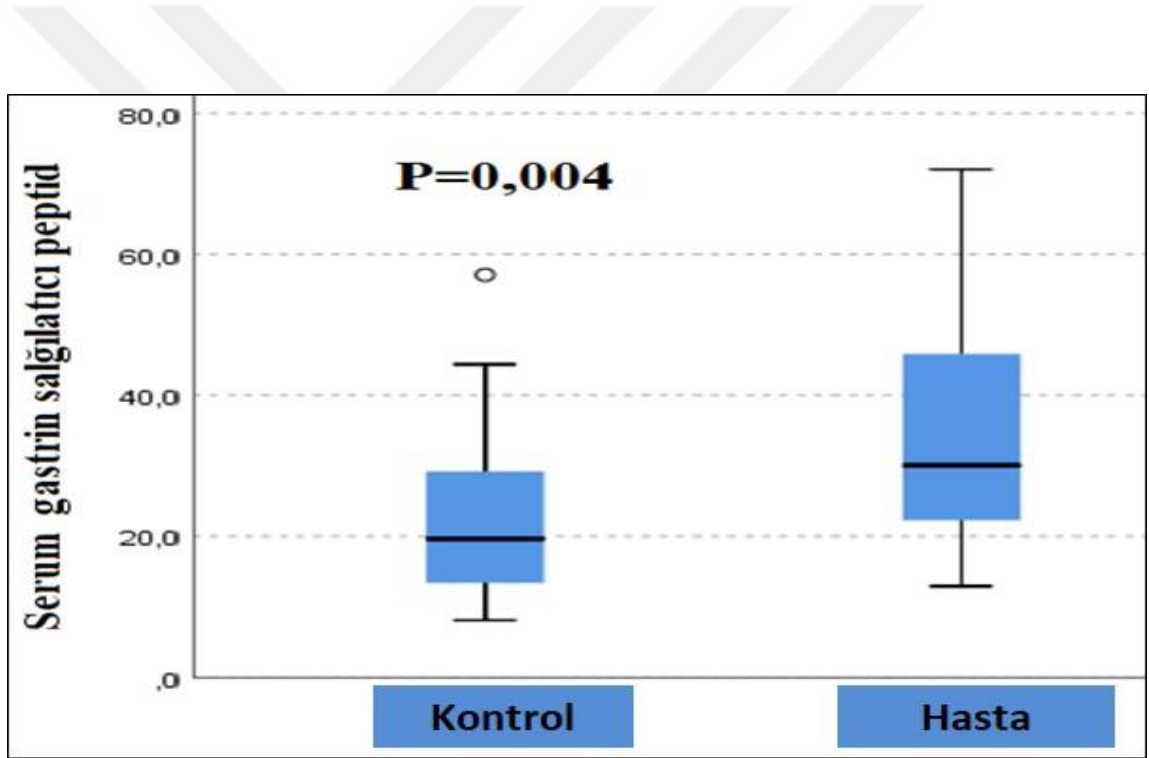
Kısaltmalar; hsCRP, yüksek sensitivite c reaktif protein; eGFR, tahmini glomerüler filtrasyon hızı, ESR, eritrosit sedimentasyon hızı; IFTA, intersitisyel fibrozis tübüler atrofi; sGSP, serum gastrin salgılatıcı peptid.

Tek değişkenlikli ve çok değişkenlikli lojistik regresyon analizleri, tübüler atrofi varlığıyla sGSP düzeyleri ve proteinüri arasındaki ilişkiyi belirlemek amaçlı yapıldı ve aralarındaki ilişki sınırda anlamsız bulundu. P değerleri sırasıyla tekli analiz için ($p=0,068$, $p=0,061$), çoklu analiz için ($p=0,061$, $p=0,059$) olarak tespit edilmiştir. Renal tübüler atrofi varlığına göre sGSP ve proteinürinin tekli ve çoklu regresyon analizleri tablo 8’de sunulmuştur.

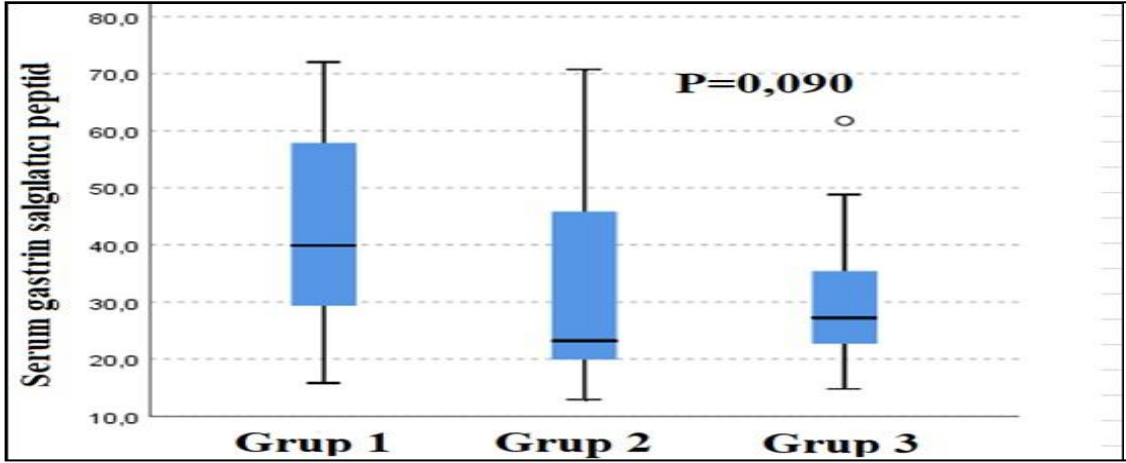
Tablo 8. Renal tübüler atrofi varlığına göre sGSP ve proteinürinin tekli ve çoklu regresyon analizleri

Değişkenler	Tekli analiz			Çoklu analiz		
	Or (95% cı)	Wald	p	Or (95% cı)	Wald	P
sGSP	0,968 (0,936-1,002)	3,336	0,068	0,967(0,933-1,002)	3,517	0,061
Proteinüri	1,000(1,000-1,001)	3,519	0,061	1,000(1,000-1,001)	3,558	0,059

Hasta ve kontrol grubu arasında sGSP düzeyleri karşılaştırması şekil 5’de, IFTA şiddetine göre oluşturulan grupların sGSP düzeyleri ise şekil 6’da gösterildi.

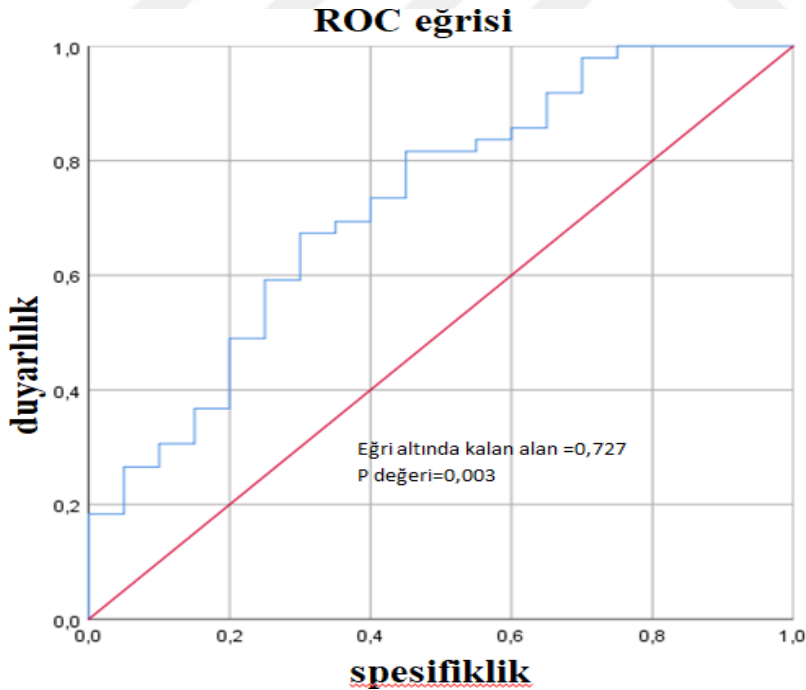


Şekil 5: Hasta ve kontrol grubunun serum gastrin salgılatıcı peptid düzeyleri



Şekil 6: Interstisyel fibrozis/tubuler atrofi şiddetine göre oluşturulan grupların serum gastrin salgılatıcı peptid düzeyleri.

Serum gastrin salgılatıcı peptid seviyeleri ile fibrozis seviyelerini belirlemek için, en yüksek ayırt etme gücüne sahip, optimum eşik değerlerini seçmek için ROC eğrisi analizi kullanıldı. sGSP seviyeleri ROC eğrisi altında en geniş alanı verdi (0,727 (0,593-0,861), $p=0,003$) (Şekil 7). sGSP için kesme noktası olan 23,259'un spesifitesi %65 ve sensivitesi %66,9 dur.



Şekil 7: Serum Gastrin Salgılatıcı peptid ve Renal Fibrozis arasında ilişkinin ROC eğrisi analiz

5. TARTIŞMA

Kronik böbrek hastalığı, çeşitli nefronların ilerleyici ve geri dönüşümsüz azalması ve bununla ilişkili olarak anormal böbrek fonksiyonları ve GFR’de azalma ile karakterize bir hastalıktır (4) Ayrıca hayat kalitesi, morbidite ve mortaliteyi etkileyen önemli bir halk sağlığı problemidir (296) . Türk Nefroloji Derneği 2019 kayıt raporuna göre; 2019 yılı sonu itibariyle Türkiye’de RRT gerektiren son dönem böbrek hastalığı nokta prevalansı milyon nüfus başına 1007,6 olarak saptanmış olup 83783 hasta RRT almaktadır. Bu hastaların %73,21’ine HD tedavisi, %3,93’üne PD tedavisi, %22,86’sına renal transplantasyon tedavisi uygulanmaktadır (297). Bu veriler doğrultusunda KBH ‘nın ülkemizde önemli bir sağlık sorunu olduğu görülmektedir.

Bizim bilgilerimize göre bu çalışma, persistan proteinürisi olan yetişkin hastalarda IFTA skoru ve sGSP düzeyleri arasındaki ilişkiyi değerlendiren ilk çalışmadır. Araştırmaya katılan 69 katılımcının 20’si kontrol grubunu, 49’u hasta grubunu oluşturdu. İki grup arasında sGSP düzeyleri ve diğer laboratuvar tetkikleri karşılaştırıldı. Hasta gruplarında sGSP düzeyleri, sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0,004$). sGSP düzeylerinin bağımsız olarak IFTA'nın varlığı ile de ilişkilendirilebileceği gösterilmiştir. Çalışmamızda hasta grupları IFTA skorlarına göre ayrılıp incelendi IFTA skoru 1 olan grupta sGSP düzeylerinin daha yüksek olduğu görüldü ancak istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı. sGSP düzeyleri ve değişkenlerin korelasyon analizi yapıldı ve sGSP düzeyleri ile sGSP ile Total kolesterol, LDL-k, proteinüri ve kalsiyum arasında pozitif yönde istatistiksel anlamlı ilişki bulundu (sırasıyla $r_s=0,303$, $r_s=0,313$, $r_s=0,304$, $r_s=0,298$ $p=0,015$, $p=0,012$, $p=0,012$, $p=0,013$)

Ayrıca IFTA skoruna göre değişkenlerin korelasyon analizi yapıldı IFTA skoru eGFR ile negatif korelasyon gösterirken IFTA skoru ile proteinüri, inflamasyon belirteçleri olan ESH ysCRP ve bunun yanında fosfor arasında ise pozitif yönde istatistiksel anlamlı ilişki saptandı (sırasıyla $r_s= -0,675$, $r_s=0,415$, $r_s=0,419$, $r_s=0,368$, $r_s=0,289$ $p<0,001$, $p=0,03$, $p=0,03$, $p=0,010$, $p=0,044$). Albümin, sodyum, potasyum ve

sGSP ile ise istatistiksel anlamlılığa ulaşmayan negatif ilişki bulundu (sırasıyla $r_s = -0,252$, $r_s = -0,111$, $r_s = -0,239$, $r_s = -0,202$, $p = 0,059$, $p = 0,446$, $p = 0,098$, $p = 0,168$).

Bizim bilgilerimize göre IFTA ve sGSP düzeyi arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bu ilk çalışmada, renal hasarlanma ve proteinüri varlığında sGSP düzeyinin yükselebileceği ve IFTA şiddeti ile sGSP arasında zıt ilişki olabileceği gösterildi.

KBH ilerlemesinin altında yatan mekanizmanın en yaygın kabul gören görüşü, proteinürinin doğrudan toksik etkisinin neden olduğu tubulointerstisyel hasardır (298). Proteinüri, tübül hücrelerinin sinyal yollarının düzenlenmesini etkileyerek tübül hücre büyümesi, apoptoz ve gen transkripsiyonunda değişikliklere neden olur. Bu, inflamasyona ve fibroza neden olan proinflamatuvar faktörlerin üretimi ile sonuçlanır (299).

Proteinüriyi böbrek fonksiyon kaybına bağlayan patofizyoloji karmaşıktır ve hala tam olarak anlaşılammıştır. Ancak filtre edilen proteine, tübüler epitel hücrelerin tepkisi üzerine odaklanılmıştır. Yukarıda da bahsedildiği gibi filtrelenmiş albümin, proksimal tübüler epitel hücreleri tarafından yeniden emilir (189).

Bununla birlikte, ağır veya kalıcı proteinüri ile başa çıkmak için tasarlanmış lizozimler ve endoplazmik retikulumu içeren hücre içi yollar aktiflenir (192). Tübüler hücreler buna, sitokinlerin üretimiyle yanıt verir, inflamasyonu teşvik eder ve makrofajlar gibi enflamuar hücreleri çeker (193). Albüminin, ayrıca tübüler hücre fonksiyonunda apoptozla sonuçlanabilecek bir dizi değişikliği indüklediği de düşünülmektedir (194).

Ayrıca albümine bağlı serbest yağ asit (özellikle oleik/linoleik asit) ve metabolitleri esansiyel olmayan yağ asidi uzun zincirli asil-CoA, tübüler hücrelerin lipoapoptozunu uyarır (195). Genel olarak, stresli renal tübüler hücrelerdeki değişiklikler dönüştürücü büyüme faktörü-beta 1 (TGF- β 1) gibi profibrotik araçların üretimini içeren kısmi bir mezenkimal fenotipe doğru bir kaymayı temsil eder (196). Renal tübüler hücrelerin bir kısmı bu geçişi daha da ileri götürür ve mevcut olan interstisyel fibroblastlar birlikte interstitium'a göç eder, doğrudan ekstraselüler matriks ve fibrozis üretimine katkıda bulunurlar.

Alta yatan Proteinürinin önemli olması onun ilerleyici böbrek fonksiyon kaybı ve nihai böbrek yetmezliği sonuçlanmasıyla ilişkilidir (189). Ayrıca, proteinürideki değişiklikler böbrek fonksiyonları ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (189). Örneğin, büyük

bir popülasyonda yapılan kohort çalışmasında, albuminüride ki artış katsayısı ile böbrek yetmezliği derecesi arasında ilişki bulunmuştur. Stabil albüminürisi olan ya da albüminüri düzeyleri azalan hastalarda daha az renal fonksiyon bozulması görülmüştür (190). Artan proteinüri ile diyabete bağlı ve diyabetik olmayan KBH'da ve pediyatrik popülasyonlarda dahil olmak üzere hemen hemen tüm böbrek hastalıklarında daha kötü prognoz görülür (191).

Daha önce literatürde proteinüri ve sGSP arasında ki ilişkiyi inceleyen bir çalışma olmadığından bahsetmiştik ve bizim çalışmamız bu anlamda yapılan ilk çalışmadır. Bizim çalışmamızda proteinüri miktarı arttıkça sGSP 'nin yükseldiği gözlenmiştir. Proteinüri ve sGSP arasında ki istatistiksel anlamlı pozitif korelasyonu açıklayacak bir durum üzerinde durmaktayız. Yukarıda bahsedildiği gibi artan proteinüri ilerleyici böbrek fonksiyon kaybı ile sonuçlanmaktadır. Proteinüri düzeyindeki yükseklikle sGSP düzeylerinin arasında ki pozitif ilişki, renal hasar ve sGSP arasındaki muhtemel ilişkiyi desteklemektedir. Bu çalışmanın bize renal hasarı erken dönemde tespit etmede, sGSP seviyelerinin kullanılabilirliği konusunda öncü fikir olabileceği düşünülmektedir

Kronik böbrek hasarı, ESM birikimi de dahil olmak üzere çeşitli yapısal değişikliklerle kendini gösterir. ESM birikimi olarak kabul edilen yapısal değişikliklerin tümü, hem tübüler hücre ölümü ve tübüler atrofi hem de tübüler dejenerasyon dahil interstisyel fibrozis ile karakterize edilir (300).

IFTA KBH'nın patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır

Renal fibrozis, özellikle tübülointerstisyel fibroz, neredeyse tüm ilerleyici kronik böbrek hastalıklarının ortak nihai sonucudur. Renal fibrozis ayrıca prognozun güvenilir bir göstergesi ve böbrek yetmezliğinin önemli bir belirleyicisidir (16).

ABD'deki yetişkin nüfusun tahminen %13'ünde bir dereceye kadar KBH vardır (17,18). Önemli bir oranı sonunda, ömür boyu diyaliz veya böbrek nakli gerektiren yıkıcı bir durum olan son dönem böbrek yetmezliğine ilerler. Çok sayıda epidemiyolojik çalışma, son dönem böbrek hastalığı olan hastaların prevalansının dünya çapında arttığını göstermektedir (17,19-20). Sonuç olarak, KBH, etkilenen bireylere, ailelere ve toplumlara muazzam sosyoekonomik yükler getiren küresel ölçekte önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. DM ve obezite hasta popülasyonu artmaya devam ettikçe, KBH prevalansındaki bu artış eğiliminin öngörülebilir gelecekte sona ermeyeceği kuvvetle muhtemeldir. Bu sorunun büyüklüğüne rağmen, klinik ortamda KBH için mevcut terapötik seçenekler azdır ve çoğu zaman etkisizdir. Spesifik olarak

renal fibrozisi hedef alan onaylanmış bir tedavi neredeyse yoktur. Bu bağlamda, renal fibrozun hücrel ve moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, yalnızca sürecin patogenezi ile ilgili yeni içgörüler kazanmak için değil, aynı zamanda fibrotik böbrek bozukluğu olan hastaları tedavi etmede rasyonel stratejiler geliştirmek için de önemlidir (21).

Renal fibrojeniz, genel olarak, çeşitli yaralanmaların başlangıcından sonra ortaya çıkan başarısız bir yara iyileşme süreci olarak kabul edilir (22,23). Bu bağlamda, hasarlı böbreklerdeki hücrel ve moleküler tepkiler, büyük ölçüde hasarı onarmak ve yara iyileşmesini sağlamak için ortaya çıkar (21). Fibroblastlar, tübüler epitel hücreleri, perisitler, endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri, mezangiyal hücreler ve podositler dahil olmak üzere böbreklerdeki hemen hemen tüm hücre tipleri ve ayrıca lenfositler, makrofajlar ve fibrositler gibi infiltratör hücreler de muazzam karmaşıklığa sahip olan renal fibrozun patogenezi içinde bir şekilde yer alırlar (24,25).

Tübülointerstisyel fibrozdaki başlıca hücrel olaylar şunları içerir: inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu; çeşitli kaynaklardan fibroblast aktivasyonu ve büyümesi büyük miktarda ekstra selüler matriks (ESM) bileşenlerinin üretimi ve birikmesi ve tübüler atrofi ve mikrovasküler seyrelme (Şekil 1) (21). Muhtemelen, bu patolojik özelliklerin her biri, fibrozisin amansız bir şekilde ilerlemesine, kendine ait yollarla katkıda bulunabilir. Bu olaylar böbrek parankiminin nihai yıkımına ve böbrek fonksiyonunun kaybına neden olan bir dizi çekirdek fibrojenik olay oluştururlar (21). Bu yıkıcı olayların sonucu olarak ilerleyici renal fibrozis oluşur.

Çalışmamızda hastalar yapılan böbrek biyopsilerindeki fibrozis skoruna göre sırasıyla IFTA skor1, IFTA skor2, IFTA skor3+4 olarak 3 gruba ayrıldı (tablo 6). IFTA skor 1’de sGSP düzeyleri ifta skor 2 ve ifta skor3+4 e göre daha yüksek, ifta skor 3+4 ‘de ise ifta skor 2 ye göre daha yüksek sGSP seviyeleri tespit edildi. Ifta skor 2’den 3+4 ‘e doğru fibrozisin ilerlemesiyle sGSP düzeylerinin artışı numerik olarak tespit edildi ancak bu durum istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı. IFTA skor 1’de sGSP düzeylerinin daha yüksek tespit edilmesi ve ifta skor artışıyla sGSP düzeylerinin yükselmesine rağmen çalışmamızda bu yönden istatistiksel anlamlılığa ulaşamaması, erken evre olarak değerlendirilen ifta skor 1 grubundaki hasta sayısının diğer iki gruba göre belirgin yüksek olmasına bağlı olarak düşünüldü. Bu durum ise KBH ve diğer sebeplere bağlı böbrek biyopsi yapılma sıklığı arttığı için erken evre hasta sayısının daha çok olabileceği yönünde düşünülmüştür. Sonuç olarak bizim çalışmamızda hastalarda renal fibrozis artışıyla sGSP düzeylerinin arttığı görüldü ancak belirgin fibrozisi olan (ifta

skor 3+4) hasta sayısı görece az olduğundan istatistiksel anlamlılığa ulaşamadığını düşünmekteyiz. Bununla birlikte bu yorumun yapılabilmesi için ilerde yeni çalışmalara gerek duyulmaktadır.

GSP'nin inflamasyon ve yara onarımındaki rolü büyük ilgi uyandırmaktadır. GSP-R antagonistler sepsisin zararlı etkileri azaltmak için olası tedaviler olarak önerilmiştir (225,226). Amitlenmiş GSP analog bombesinin (14 kalıntılı bir kurbağa peptidi, amidlenmiş Yedi kalıntısı GSP21– ile aynı olan C-terminali 27), muhtemelen NMB-R (227) aracılığıyla yara onarımında gerekli faktörlerin ifadesini uyardığı da düşünülmektedir. Ek olarak, GSP ve reseptörünün artritteki rolü araştırılmış, artritli diz eklemlerin sinovyum hücrelerinde ve inflamatuvar infiltratta GSP, GSP-R mRNA ve protein miktarının artmış olduğu bulunmuştur (228,229). Aynı zamanda, artritli dizlerin Kondrosit kaplamasında GSP-R immünoreaktivitesi bulunken bu aktivite normal dizlerin eklem yüzeyinde tespit edilmemiştir (229). Bu durum bize GSP'nin doku hasarı ve inflamasyonla ilişkili olabileceğinin düşündürmektedir (216).

Enflamasyon, yaralanmaya yanıt olarak konakçı savunma mekanizmalarının ayrılmaz bir parçası olmasına rağmen, çözilemeyen enflamasyon, fibrotik hastalığın gelişiminde önemli bir itici güçtür (28,29). Bu nedenle, sürekli bir hasardan sonraki inflamasyon, fibrojenik aşamayı kuran ve doku fibrojenizini tetikleyen bir primer görevi görür (21). Yukarı anlatıldığı gibi proteinüri doğrudan inflamasyonu teşvik etmektedir.

Çalışmamızda da proteinüri düzeyleri ve sGSP arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşan pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. Artan proteinüri seviyelerinin inflamasyonu artıracağı ve kontrolsüz inflamasyonunda fibrozisle sonlanacağı düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında sGSP ölçümlerinin fibrozisi öngörmede kullanılabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca çalışmamızda da inflamasyon belirteçleri olan ysCRP ve ESH ile IFTA skoru arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşan pozitif bir korelasyon bulunmuştur ve IFTA skoru arttıkça sGSP düzeyleri yükselmektedir. Bu bilgiler ışığında inflamasyonla ilişkisi olduğu düşünülen sGSP 'nin bizim çalışmamızın da amacı olan fibrozisi öngörmede bir mediyatör olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Literatürde ki çalışmalara bakıldığında sGSP 'nin özellikle kanserlerde bir biyobelirteç olarak kullanılması hususunda durulmuştur. Özellikle KHAK, Medüller

torid kanseri ve ayrıca kolon, pankreas, prostat ve meme dahil olmak üzere diğer bazı karsinom türleri için güçlü bir mitojen etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (268,280-282).

Pansky ve arkadaşları tarafından RHK büyümesi, çeşitli RHK hücre hatlarının büyümesini uyaran sGSP ve reseptörünün varlığı ile ilişkili bulunmuştur (237). Malign tümörler %50'ye kadar stromal hücreler içerir, monositler/makrofajlar da bunun ölçülebilen ve işlevsel önemli alt popülasyonudur (240). Nöropeptitler, örn. GSP, makrofajların işlevi önemli ölçüde modüle eder. GSP'nin GSP reseptörü bulunduran makrofajlarda, adezyon değişikliği, göç ve fagositoz üzerinde etkisi vardır (246,247). İlginç bir şekilde, makrofajlarda GSP salınımı sadece, kronik bronşit ve akciğer iltihabı ve fibrozis gibi inflamasyon altında ifade edilmiştir (248,249).

Makrofajların renal fibrogeze katkısı açıkça ortaya konulmuştur (32,34). Dolaşımdaki kandan monositler, sitokin salınımına yanıt olarak yaralı bölgeye toplandıklarında, klasik olarak aktive edilmiş (M1) veya alternatif olarak aktive edilmiş (M2) olarak kategorize edilen iki geniş farklı makrofaj alt kümesine farklılaşırlar (33,37). Genel olarak, M1 makrofajları tipik bir proinflamatuvar fenotip gösterir, çeşitli kemokinler ve ayrıca serbest oksijen radikalleri üretir ve bu nedenle doku hasarına ve fibroze yol açan patojenik fonksiyonlara sahiptir. Buna göre, ortamdaki makrofajların tükenmesi faydalıdır ve çeşitli yaralanmalardan sonra böbrek fibrozunu iyileştirirken, makrofajların bölgeye planlı transferi ise oluşan fibrotik lezyonları ağırlaştır bu da bize makrofajların renal fibrogezdeki profibrotik rollerini gösterir (37-39).

Bu bilgiler ışığında inflamasyondan fibroze giden yolda sGSP'in aktif rol oynadığı görülmektedir. Çalışmamızda bu moleküler ilişkiyi ortaya koymayı amaçlamıştır. Nitekim inflamasyon sebebi olan proteinüri ile sGSP arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmuştur, Ayrıca fibrozis arttıkça sGSP seviyeleri artmıştır ancak toplam hasta sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı hale gelmediği düşünülmektedir.

GSP akciğerde, nöroendokrin hücrelerde, nöroepitelyal cisimlerde ve sinir uçlarında bulunur (253-255). GSP bronş epitel hücreleri, küçük hücreli akciğer karsinomu ve fibroblastlar (9) için bir büyüme faktörüdür (256-258). sGSP interstisyel

akciğer hastalıklarında fibrozisin ilerlemesinde granülom oluşumunda rol oynayabilir (259).

Yapılan bir çalışmada IPF'li ve Sarkoidozlu hastaların serumlarında ProGSP (31-98) düzeyleri sağlıklı deneklerle karşılaştırılmıştır. Hastalarda, sağlıklı kişilere göre serum ProGSP (31-98) değerleri ile BAL sıvısı ProGSP (31-98) değerleri ile anlamlı şekilde yüksek tespit edilmiştir (259).

Day ve arkadaşları (260,261) tarafından asbeste maruz kalan sıçanların akciğerlerinde BLP'nin artmış seviyelerde olduğu bildirilmiş olup, nöroendokrin hücrelerin, asbest maruziyeti nedeniyle pulmoner inflamasyon ve fibrozdan etkilendiği tespit edilmiştir. Bombesinin (GSP analogu), aktive edilmiş alveoler makrofajlar tarafından, interlökin-beta salınımını arttırdığı (262) ve insan fibroblastlarının proliferasyonunu uyardığı bulunmuştur (263). GSP'nin amfibi bombesin ile aynı biyolojik etkilere sahip olduğu varsayımıyla, GSP'nin akciğer fibrozu ve granülom oluşumu süreçleri sırasında çok önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (259).

GSP, alveoler makrofajlardan, granülosit /monosit koloni uyarıcı faktör ve interlökin-1 beta gibi sitokinlerin salınımını uyarabilir (262, 264). Bu sonuçlar ışığında sGSP'in interstisyel akciğer hastalıklarında fibrozis ve granülom oluşumunda rol oynayabileceği düşünülmektedir (259).

Yukarıda ki çalışmalar ve anlatılan bilgiler ışığında fibroblast aktivitesinin inflamasyonda ne kadar önemli olduğu görülmekte olup, kontrolsüz inflamasyonun da fibrozisle sonuçlandığı belirtilmektedir ve sGSP ile fibroblast arasında ki belirgin ilişkiden bahsedilmektedir. Bu bilgiler ışığında da sGSP seviyelerinin fibrozisi öngörmede faydalı bir belirteç olacağını düşünmekteyiz. Nitekim çalışmamızda fibrozis seviyesi arttıkça sGSP düzeylerinin arttığı görüldü ancak ileri fibrozise sahip olan IFTA skor 3+4 hastaya sayısı yeterli değildi. Bu hasta sayısının azlığı nedeniyle, çalışma sonuçlarının istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığını düşünmekteyiz. İleride daha fazla hasta ile IFTA skor grupları belirgin şekilde ayrılarak, bizim çalışmamızdan yola çıkılarak bir çalışma yapılabilir.

GSP'nin inflamasyon ve doku onarımındaki rolü ve nöroendokrin aktivasyonu yansıtmaya kabiliyetine dayanarak, serum proGSP seviyelerinin KY sırasında da etkilenebileceği düşünülebilir (283). ProGSP'nin, miyokardiyal fibrozis ve enflamasyonu teşvik ederek KY'nin ilerlemesinde yer alan bir makrofaj aktivasyon belirteci olan galektin-3 ile güçlü bir korelasyon gösterdiğine dair bulgu, proGSP'nin miyokardın yeniden şekillenmesinde rol oynadığını düşündürülebilir (284,285).

Yukarıdaki çalışma bize fibrozis ve sGSP arasında ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda serum Ldl kolesterol ve total kolesterol seviyeleri ile sGSP arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşan pozitif korelasyon bulunmuştur. Literatüre baktığımızda ne kardiyak fibrozis ne de serum Ldl ve total kolesterol seviyeleri ile sGSP arasında ki ilişkiyi inceleyen çalışma yoktur. Literatürde bu zamana kadar yapılmış tüm çalışmalarda Ldl kolesterol ateroskleoz öncüsü olarak belirtilmektedir. Ateroskleroz tıkayıcı seviyeye geldiğinde kardiyak iskemiye sebep olmakta, uzun dönem süren iskemi ise fibrozise kadar gidebilmektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda tespit edilen Ldl ve total kolesterol ile sGSP arasında ki pozitif ilişki, sGSP'nin ateroskleroza, kardiyak iskemiye ve fibrozisi erken öngörmede kullanılabilme ihtimalini düşündürmektedir. Bu ilişkiyi destekleyecek çalışmalara ihtiyaç vardır, bizim çalışmamızın ise bu konuda yapılması muhtemel çalışmalara kapı aralayacağını düşünmekteyiz.

Serum proGSP renal tübül fonksiyonunu değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan idrar α 1-makroglobulin ve idrar β 2-makroglobulin ile pozitif korelasyon göstermekteyken idrar N-acetyl- β -D-glukozidaz ile göstermemiştir. Bunlar arasında α 1-m ve β 2-m küçük moleküllü (1,2–1,3 kDa) proteinlerdir ve kolaylıkla glomerüler bazal membrandan (GBM) geçerler ve yaklaşık %99,9'u proksimal tübüller tarafından yeniden emilir, yani idrar α 1-m ve β 2-m böbrek tübüller kapasitesini yansıtabilir (290).

Dumesny ve arkadaşları (19), GSP mRNA'sının normal yetişkin böbreğinde, özellikle Henle kulpunun çıkan kalın kolu hücrelerde bulunduğunu belirlemiştir (291). GSP vazopressin, glukagon ve kalsitonin gibi diğer gastrointestinal peptid hormonlarla renal tübüldeki Na-K-2CL'nin ko transporter sistemi üzerinden elektrolit dengesinde görev yapar (290).

Renal tübüller geri emilim bozulduğunda vücutta elektrolit dengesizliğine yol açar, gastrointestinal peptidler sodyum salgılar ve bu da kanda proGSP'yi yükseltebilir (290). Gastrin için yüksek afiniteli bir GSP reseptörü normal böbrekte saptanır ve bu GSP sekresyonun elektrolit dengesine aracılık eder. Yukarıdaki üç göstergenin ilişkilerini analiz edildiğinde serum proGSP'nin böbrek tübüller hasarından bağımsız olarak elektrolit dengesizliğini düzenlemek için arttığı düşünülmektedir (290).

ProGSP düşük moleküllü bir proteindir ve glomerüler bazal membrandan serbestçe geçer (292). Bu nedenle böbrek hasarının erken evresinde serum proGSP seviyelerinin esas olarak elektrolit dengesizliğinden ve gastrointestinal sekresyonunun kendisinden etkilendiği düşünülmektedir (290). Böbrek hasarı orta ve geç aşamalara

ilerlediğinde, glomerüler bazal membran ciddi şekilde hasar görür ve proGSP, endotel hücreleri ve baziller membranın içinden geçemez ve bu nedenle kan dolaşımında birikebilmektedir (293). Bu mekanizma bize serum proGSP seviyelerinin, GBM hasarının şiddeti ile kademeli olarak yükselebileceğini düşündürmektedir (290).

Sonuç olarak Böbrek hasarının başlangıç aşamasında serum proGSP seviyeleri muhtemelen elektrolit dengesi ile tutarlı olabilir; orta ve geç aşamalarda ise, glomerüler filtrasyon işlevini yansıtabilir (290).

Çalışmamızda elektrolit seviyeleri ve sGSP arasında ki ilişki incelenmiş olup özellikle kalsiyum ile sGSP arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşan pozitif yönde ilişki tespit edilmiştir. Diğer elektrolit seviyeleriyle istatistiksel anlamlı ilişki tespit edilememiştir. Ayrıca çalışmamızda eGFR ile sGSP seviyeleri arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşan bir ilişki tespit edilememiştir. Ancak Çalışmamızda ilerleyen fibrozis aşamalarında IFTA skoru arttıkça IFTA skor 2 ye göre IFTA skor 3+4 de ise sGSP düzeyleri daha yüksek tespit edilmiştir ve proteinüri seviyesi arttıkça sGSP düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Renal fibrozis evresinin ilerlemesinin ve proteinüri miktarının artışının renal hasar seviyesini yansıttığı bilinmektedir. Bu sonuçların yukarıda yapılmış olan çalışmada bahsedildiği gibi renal hasar seviyesi arttıkça sGSP seviyelerinin artabileceği hipotezini destekler nitelikte olabileceği düşünmekteyiz.

Bunun yanı sıra kalsiyum düzeyleri ve sGSP arasında ki istatistiksel anlamlılığa ulaşan pozitif ilişki tespit edilmiştir. Bu ilişki kalsiyum metabolizması ve sGSP seviyeleri arasında ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Ancak kalsiyum metabolizması ve sGSP arasında ki ilişkiyle alakalı literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamız bu konuda yapılması muhtemel çalışmalara öncü olabilir ve ileride bu konuda ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatürde yapılan diğer az sayıda çalışmada ise sGSP'nin inflamasyon ve fibrozisle ilişkili olduğu görülmektedir. Özellikle akciğer üzerinde bu çalışmalar yoğunlaşmış olsa da birden fazla organ ve dokuda fibrozise sebep olabilmektedir, ancak bu konuda çalışmalar yetersizdir.

Çalışmamız renal fibrozis ve sGSP arasında ki ilişkiyi inceleyen, literatürdeki ilk çalışma olması açısından önem arz etmektedir. Bunun yanı sıra elde edilen veriler sayesinde bu konuda yapılması muhtemel birçok çalışmaya da kapı açacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızın kısıtlılıkları da bulunmakta olup bu kısıtlılıklar göz ardı edilmemelidir. İlk olarak çalışmamız tek merkezliydi ve daha fazla hasta içeren bir çalışmada daha anlamlı sonuçlar elde edilebilirdi. Çalışmada fibrozis seviyesi ileri olan hasta sayısı, fibrozisi başlangıç seviyesinde ki hasta sayısına göre numerik olarak daha azdır. Bu durumun Ifta skoru 3+4 olan gruplardaki hastaların daha ileri evre KBH olmalarına ve bu nedenle daha az biyopsi yapılma endikasyonunun konulmasıyla alakalı olabileceği düşünülmüştür. Bu durumda IFTA skorları ve sGSP arasında pozitif ilişki olmasına rağmen istatistiksel anlamlılığa ulaşmamasına sebep olmuş olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle daha yüksek hasta sayılı bir çalışma grubunda benzer bir çalışmanın yapılması önerilebilir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Renal fibroz, özellikle tübülointerstisyel fibroz, neredeyse tüm ilerleyici kronik böbrek hastalıklarının ortak nihai sonucudur. Renal fibrozis ayrıca prognozun güvenilir bir göstergesi ve böbrek yetmezliğinin önemli bir belirleyicisidir. Çalışmamız da invaziv olmayan bir yöntemle sGSP seviyeleri ölçerek hasta ve kontrol grupları arasında, hasta gruplarının da kendi aralarında IFTA skorlarına ve proteinüri düzeylerine aralarında fark olup olmadığını tespit etmeyi amaçladık.

Hasta gruplarında kontrol gruplarına kıyasla sGSP seviyeleri istatistiksel anlamlı yüksekti. Bizim bilgilerimize göre IFTA ve sGSP düzeyi arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bu ilk çalışmada, renal hasarlanma ve proteinüri varlığında sGSP düzeyinin yükselebileceği ve IFTA şiddeti ile sGSP arasında pozitif ilişki olabileceği gösterildi. Bu sonuçlar sGSP'in fibrozisi öngörmede ve fibrozis seviyelerini değerlendirmede kullanabilecek non invaziv bir yöntem olabileceğini düşündürmektedir. Bulgularımız, IFTA şiddeti ve proteinüri ile sGSP düzeyinin geniş katılımlı çalışmalar ile değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır

7. KAYNAKLAR

1. Eser Baris, Dogan Ibrahim, Komut Erdal, Koyuncu Sumeyra, Aydemir Nihal, Colak Aysel, et al. "Relationship between renal tubulointerstitial fibrosis and serum prolidase enzyme activity: " Turkish Journal of Biochemistry, 2020; 45(5): 567-573.
2. Dumesny C, Whitley JC, Baldwin GS, Giraud AS, Shulkes A. Developmental expression and biological activity of gastrin-releasing peptide and its receptors in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004; 287(3): F578-585.
3. Dai Z, Zhu J, Huang H, Fang L, Lin Y, Huang S, Xie F, Sheng N, Liang X. Expression and clinical value of gastrin-releasing peptide precursor in nephropathy and chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)*. 2020; 25(5): 398-405.
4. Kasper D, et al. Harrison's principles of internal medicine. Chronic kidney disease. New York: McGraw-Hill Education. Kasper D. 2015. pp. 1639-1655.
5. George R, Curtis AJ, Nancy A, Peter W, editors. Chronic kidney disease 2006: A Guide to Select NKF-KDOQI Guidelines and Recommendations. New York: 2012. pp. 56.
6. Sever M, Büyüköztürk K. Kronik böbrek yetersizliği. İç hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. Sever M, Büyüköztürk K editörler. 2007; pp. 2601-2617.
7. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2005; 67(6): 2089-2100.
8. İliçin S. Böbrek Hastalıkları, İliçin iç hastalıkları özet kitabı, İliçin S, Editör. İstanbul: Güneş Kitabevi; 2017. pp. 457.
9. Soylemezoglu O. , Düzova A. , Yalcinkaya F. , Arinsoy T. , Süleymanlar G. Chronic renal disease in children aged 5-18 years: a population-based survey in Turkey. *Nephrol Dial Transplant*. 2012; 27: 146-151.
10. Becker GJ. Urinalysis, in Textbook of Nephrology, E. S.G. Massr and R.J. Glasscock, Editor. 2001. pp. 1765-1783.

11. Official Journal of the international Society of nephrology KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease [Internet]. [cited 2020 Jan 11].
12. Romagnani P, Remuzzi G, Glasscock R, Levin A, Jager KJ, Tonelli M, et al. Chronic kidney disease. *Nat Rev Dis Prim.* 2017; 3.
13. Epping-Jordan JE, Pruitt SD, Bengoa R, Wagner EH. Improving the quality of health care for chronic conditions. *Quality and Safety in Health Care.* 2004; 13(4): 299-305.
14. Eknoyan G, Lameire N, Eckardt KU, editors. KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2013. pp.1-150.
15. Gold RS, Bowman S. The codes for chronic kidney disease, help in distinguishing between renal failure and renal insufficiency. *Journal of AHIMA.* 2006;77(1): 76-78.
16. Qi W, Chen X, Poronnik P, Pollock CA. The renal cortical fibroblast in renal tubulointerstitial fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006;38(1): 1-5.
17. Coresh J, et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA.* 2007; 298:2038–2047.
18. United States Renal Data System. Annual Data Report 2009. 2010. [online], <http://www.usrds.org/adr.htm>
19. Sharma SK, Zou H, Togtokh A, Ene-Iordache B, Carminati S, Remuzzi A, et al. Burden of CKD, proteinuria, and cardiovascular risk among Chinese, Mongolian, and Nepalese participants in the International Society of Nephrology screening programs. *Am J Kidney Dis.* 2010;56:915–927.
20. Zhang L, Zhang P, Wang F, Zuo L, Zhou Y, Shi Y, et al. Prevalence and factors associated with CKD: a population study from Beijing. *Am J Kidney Dis.* 2008;51:373–384.
21. Liu Y. Cellular and molecular mechanisms of renal fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2011 18;7(12):684-96.
22. Liu Y. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney Int.* 2006;69:213–217.
23. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol.* 2008;214:199–210.

24. Zeisberg M, Neilson EG. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21:1819–1834.
25. Boor P, Ostendorf T, Floege J. Renal fibrosis: novel insights into mechanisms and therapeutic targets. *Nat Rev Nephrol.* 2010;6:643–656.
26. Eddy AA. Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol.* 2000;15:290–301.
27. Chung AC, Lan HY. Chemokines in renal injury. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22:802–809.
28. Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell.* 2010;140:821–832.
29. Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell.* 2010;140:871–882.
30. Vielhauer V, Kulkarni O, Reichel CA, Anders HJ. Targeting the recruitment of monocytes and macrophages in renal disease. *Semin Nephrol.* 2010;30:318–333.
31. Vernon MA, Mylonas KJ, Hughes J. Macrophages and renal fibrosis. *Semin Nephrol.* 2010;30:302–317.
32. Duffield JS. Macrophages and immunologic inflammation of the kidney. *Semin Nephrol.* 2010;30:234–254.
33. Ricardo SD, van Goor H, Eddy AA. Macrophage diversity in renal injury and repair. *J Clin Invest.* 2008;118:3522–3530.
34. Wang Y, Harris DC. Macrophages in renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22:21–27.
35. Grande MT, Pérez-Barriocanal F, López-Novoa JM. Role of inflammation in tubulointerstitial damage associated to obstructive nephropathy. *J Inflamm.* 2010;7:19.
36. Tapmeier TT, Fearn A, Brown K, Chowdhury P, Sacks SH, Sheerin NS, et al. Pivotal role of CD4 + T cells in renal fibrosis following ureteric obstruction. *Kidney Int.* 2010;78:351–362.
37. Lin SL, Castaño AP, Nowlin BT, Lupper ML Jr, Duffield JS. Bone marrow Ly6Chigh monocytes are selectively recruited to injured kidney and differentiate into functionally distinct populations. *J Immunol.* 2009;183:6733–6743.
38. Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Kipari T, Haslett C, Iredale JP, et al. Galectin-3 expression and secretion links macrophages to the promotion of renal fibrosis. *Am J Pathol.* 2008;172:288–298.

39. Ko GJ, Boo CS, Jo SK, Cho WY, Kim HK. Macrophages contribute to the development of renal fibrosis following ischaemia/reperfusion-induced acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23:842–852.
40. Wang Y, Wang Y, Cao Q, Zheng G, Lee VW, Zheng D, et al. By homing to the kidney, activated macrophages potently exacerbate renal injury. *Am J Pathol*. 2008;172:1491–1499.
41. Kaissling B, Le Hir M. The renal cortical interstitium: morphological and functional aspects. *Histochem Cell Biol*. 2008;130:247–262.
42. John R, Nelson PJ. Dendritic cells in the kidney. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18:2628–2635.
43. Teteris SA, Engel DR, Kurts C. Homeostatic and pathogenic role of renal dendritic cells. *Kidney Int*. 2011;80:139–145.
44. Macconi D, Chiabrando C, Schiarea S, Aiello S, Cassis L, Gagliardini E, et al. Proteasomal processing of albumin by renal dendritic cells generates antigenic peptides. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20:123–130.
45. Heymann F, Meyer-Schwesinger C, Hamilton-Williams EE, Hammerich L, Panzer U, et al. Kidney dendritic cell activation is required for progression of renal disease in a mouse model of glomerular injury. *J Clin Invest*. 2009;119:1286–1297.
46. Hochheiser K, Engel DR, Hammerich L, Heymann F, Knolle PA, Panzer U, et al. Kidney dendritic cells become pathogenic during crescentic glomerulonephritis with proteinuria. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22:306–316.
47. Timoshanko JR, Kitching AR, Semple TJ, Tipping PG, Holdsworth SR. A pathogenetic role for mast cells in experimental crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17:150–159.
48. Holdsworth SR, Summers SA. Role of mast cells in progressive renal diseases. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:2254–2261.
49. Kanamaru Y, Scandiuzzi L, Essig M, Brochetta C, Guérin-Marchand C, Tomino Y, et al. Mast cell-mediated remodeling and fibrinolytic activity protect against fatal glomerulonephritis. *J Immunol*. 2006;176:5607–5615.

50. Anders HJ, Vielhauer V, Frink M, Linde Y, Cohen CD, Blattner SM, et al. A chemokine receptor CCR-1 antagonist reduces renal fibrosis after unilateral ureter ligation. *J Clin Invest.* 2002;109:251–259.
51. Sayyed SG, Ryu M, Kulkarni OP, Schmid H, Lichtnekert J, Grüner S, et al. An orally active chemokine receptor CCR2 antagonist prevents glomerulosclerosis and renal failure in type 2 diabetes. *Kidney Int.* 2011;80:68–78.
52. Tan X, Wen X, Liu Y. Paricalcitol inhibits renal inflammation by promoting vitamin D receptor-mediated sequestration of NF- κ B signaling. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:1741–1752.
53. Wen X, Li Y, Liu Y. Opposite action of peroxisome proliferator-activated receptor γ in regulating renal inflammation: functional switch by its ligand. *J Biol Chem.* 2010;285:29981–29988.
54. Kawai T, Masaki T, Doi S, Arakawa T, Yokoyama Y, Doi T, et al. PPAR γ agonist attenuates renal interstitial fibrosis and inflammation through reduction of TGF β . *Lab Invest.* 2009;89:47–58.
55. Khan SB, Cook HT, Bhangal G, Smith J, Tam FW, Pusey CD. Antibody blockade of TNF α reduces inflammation and scarring in experimental crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2005;67:1812–1820.
56. Giannopoulou M, Dai C, Tan X, Wen X, Michalopoulos GK, Liu Y. Hepatocyte growth factor exerts its anti-inflammatory action by disrupting nuclear factor κ B signaling. *Am J Pathol.* 2008;173:30–41.
57. Gong R, Rifai A, Dworkin LD. Anti-inflammatory effect of hepatocyte growth factor in chronic kidney disease: targeting the inflamed vascular endothelium. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:2464–2473.
58. Jones LK, O'Sullivan KM, Semple T, Kuligowski MP, Fukami K, Ma FY, et al. IL-1RI deficiency ameliorates early experimental renal interstitial fibrosis. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:3024–3032.
59. Yu C, Gong R, Rifai A, Tolbert EM, Dworkin LD. Long-term, high-dosage candesartan suppresses inflammation and injury in chronic kidney disease: nonhemodynamic renal protection. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:750–759.

60. Pate M, Damarla V, Chi DS, Negi S, Krishnaswamy G. Endothelial cell biology: role in the inflammatory response. *Adv Clin Chem.* 2010;52:109–130.
61. López-Novoa JM, Nieto MA. Inflammation and EMT: an alliance towards organ fibrosis and cancer progression. *EMBO Mol Med.* 2009;1:303–314.
62. Nightingale J, Patel S, Suzuki N, Buxton R, Takagi KI, Suzuki J, et al. Oncostatin M, a cytokine released by activated mononuclear cells, induces epithelial cell-myofibroblast transdifferentiation via Jak/Stat pathway activation. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:21–32.
63. Li Q, Liu BC, Lv LL, Ma KL, Zhang XL, Phillips AO. Monocytes induce proximal tubular epithelial mesenchymal transition through NF κ B dependent upregulation of ICAM-1. *J Cell Biochem.* 2011;112:1585–1592.
64. Wu Y, Deng J, Rychahou PG, Qiu S, Evers BM, Zhou BP. Stabilization of snail by NF κ B is required for inflammation-induced cell migration and invasion. *Cancer Cell.* 2009;15:416–428.
65. Boutet A, De Frutos CA, Maxwell PH, Mayol MJ, Romero J, Nieto MA. Snail activation disrupts tissue homeostasis and induces fibrosis in the adult kidney. *EMBO J.* 2006;25:5603–5613.
66. Rowe RG, Li XY, Hu Y, Saunders TL, Virtanen I, Garcia de Herreros A, et al. Mesenchymal cells reactivate Snail1 expression to drive three-dimensional invasion programs. *J Cell Biol.* 2009;184:399–408.
67. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell.* 2009;139:871–890.
68. Inoue T, Takenaka T, Hayashi M, Monkawa T, Yoshino J, Shimoda K, et al. Fibroblast expression of an I κ B dominant-negative transgene attenuates renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21:2047–2052.
69. Li Y, Yang J, Luo JH, Dedhar S, Liu Y. Tubular epithelial cell dedifferentiation is driven by the helix-loop-helix transcriptional inhibitor Id1. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:449–460.
70. Yang Y, Liou HC, Sun XH. Id1 potentiates NF κ B activation upon T cell receptor signaling. *J Biol Chem.* 2006;281:34989–34996.

71. Lin J, Guan Z, Wang C, Feng L, Zheng Y, Caicedo E, et al. Inhibitor of differentiation 1 contributes to head and neck squamous cell carcinoma survival via the NF κ B/survivin and phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling pathways. *Clin Cancer Res.* 2010;16:77–87.
72. Duffield JS. Macrophages in kidney repair and regeneration. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22:199–201.
73. Gandolfo MT, Jang HR, Bagnasco SM, Ko GJ, Agreda P, Satpute SR, et al. Foxp3 + regulatory T cells participate in repair of ischemic acute kidney injury. *Kidney Int.* 2009; 76:717–729.
74. Cao Q, Wang Y, Zheng D, Sun Y, Wang Y, Lee VW, et al. IL-10/TGF β -modified macrophages induce regulatory T cells and protect against adriamycin nephrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21:933–942.
75. Meran S, Steadman R. Fibroblasts and myofibroblasts in renal fibrosis. *Int J Exp Pathol.* 2011; 92:158–167.
76. Grande MT, López-Novoa JM. Fibroblast activation and myofibroblast generation in obstructive nephropathy. *Nat Rev Nephrol.* 2009;5:319–328.
77. Schrimpf C, Duffield JS. Mechanisms of fibrosis: the role of the pericyte. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2011;20:297–305.
78. Barnes JL, Gorin Y. Myofibroblast differentiation during fibrosis: role of NAD(P)H oxidases. *Kidney Int.* 2011;79:944–956.
79. Hewitson TD. Renal tubulointerstitial fibrosis: common but never simple. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009;296:F1239–F1244.
80. Strutz F, Zeisberg M. Renal fibroblasts and myofibroblasts in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:2992–2998.
81. Paliege A, Rosenberger C, Bondke A, Sciesielski L, Shina A, Heyman SN, et al. Hypoxia-inducible factor-2 α -expressing interstitial fibroblasts are the only renal cells that express erythropoietin under hypoxia-inducible factor stabilization. *Kidney Int.* 2010; 77:312–318.
82. Boye K, Maelandsmo GM. S100A4 and metastasis: a small actor playing many roles. *Am J Pathol.* 2010;176:528–535.

83. Grigorian M, Ambartsumian N, Lukanidin E. Metastasis-inducing S100A4 protein: implication in non-malignant human pathologies. *Curr Mol Med*. 2008;8:492–496.
84. Wynn TA. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. *J Clin Invest*. 2007;117:524–529.
85. Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Galli A, Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G. The myofibroblast: one function, multiple origins. *Am J Pathol*. 2007;170:1807–1816.
86. Takeji M, Moriyama T, Oseto S, Kawada N, Hori M, Imai E, et al. Smooth muscle α -actin deficiency in myofibroblasts leads to enhanced renal tissue fibrosis. *J Biol Chem*. 2006;281:40193–40200.
87. Zou J, et al. Upregulation of nestin, vimentin, and desmin in rat podocytes in response to injury. *Virchows Arch*. 2006;448:485–492.
88. Lin SL, Kisseleva T, Brenner DA, Duffield JS. Pericytes and perivascular fibroblasts are the primary source of collagen-producing cells in obstructive fibrosis of the kidney. *Am J Pathol*. 2008;173:1617–1627.
89. Floege J, Eitner F, Alpers CE. A new look at platelet-derived growth factor in renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:12–23.
90. Boor P, Floege J. Chronic kidney disease growth factors in renal fibrosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2011;38:391–400
91. Phanish MK, Winn SK, Dockrell ME. Connective tissue growth factor-(CTGF, CCN2)—a marker, mediator and therapeutic target for renal fibrosis. *Nephron Exp Nephrol*. 2010;114:e83–e92.
92. Böttinger EP. TGF β in renal injury and disease. *Semin Nephrol*. 2007;27:309–320.
93. Strutz F, et al. Basic fibroblast growth factor expression is increased in human renal fibrogenesis and may mediate autocrine fibroblast proliferation. *Kidney Int*. 2000;57:1521–1538.
94. Ostendorf, T.; Eitner, F.; Floege, J. The PDGF family in renal fibrosis. *Pediatr Nephrol*.
95. Hu K, et al. tPA protects renal interstitial fibroblasts and myofibroblasts from apoptosis. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:503–514.

96. Hao S, Shen H, Hou Y, Mars WM, Liu Y. tPA is a potent mitogen for renal interstitial fibroblasts: role of β 1 integrin/focal adhesion kinase. *Am J Pathol.* 2010;177:1164–1175.
97. Lin L, et al. tPA activates LDL receptor-related protein 1-mediated mitogenic signaling involving the p90RSK and GSK3 β pathway. *Am J Pathol.* 2010;177:1687–1696.
98. Hu K, Wu C, Mars WM, Liu Y. Tissue-type plasminogen activator promotes murine myofibroblast activation through LDL receptor-related protein 1-mediated integrin signaling. *J Clin Invest.* 2007;117:3821–3832.
99. Lin SL, Kisseleva T, Brenner DA, Duffield JS. Pericytes and perivascular fibroblasts are the primary source of collagen-producing cells in obstructive fibrosis of the kidney. *Am J Pathol.* 2008;173:1617–1627.
100. Duffield JS, Humphreys BD. Origin of new cells in the adult kidney: results from genetic labeling techniques. *Kidney Int.* 2011; 79:494–501.
101. Humphreys BD, Lin SL, Kobayashi A, Hudson TE, Nowlin BT, Bonventre JV, et al. Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis. *Am J Pathol.* 2010; 176:85–97.
102. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2009; 119:1420–1428.
103. Acloque H, Adams MS, Fishwick K, Bronner-Fraser M, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest.* 2009; 119:1438–1449.
104. Sleeman JP, Thiery JP. SnapShot: the epithelial-mesenchymal transition. *Cell.* 2011; 145:162.e1.
105. Li J, Qu X, Bertram JF. Endothelial-myofibroblast transition contributes to the early development of diabetic renal interstitial fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice. *Am J Pathol.* 2009; 175:1380–1388
106. Zeisberg EM, Potenta SE, Sugimoto H, Zeisberg M, Kalluri R. Fibroblasts in kidney fibrosis emerge via endothelial-to-mesenchymal transition. *J Am Soc Nephrol.* 2008; 19:2282–2287.
107. Kriz W, Kaissling B, Le Hir M. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) in kidney fibrosis: fact or fantasy? *J Clin Invest.* 2011; 121:468–474.

108. Zeisberg M, Duffield JS. Resolved: EMT produces fibroblasts in the kidney. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21:1247–1253
109. Liu Y. New insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21:212–222
110. Li J, Bertram JF. Endothelial-myofibroblast transition, a new player in diabetic renal fibrosis. *Nephrol.* 2010; 15:507–512.
111. Burns WC, Thomas MC. The molecular mediators of type 2 epithelial to mesenchymal transition (EMT) and their role in renal pathophysiology. *Expert Rev Mol Med.* 2010; 12:e17.
112. Grgic I, Duffield JS, Humphreys BD. The origin of interstitial myofibroblasts in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrology.*
113. Quaggin SE, Kapus A. Scar wars: mapping the fate of epithelial-mesenchymal-myofibroblast transition. *Kidney Int.* 2011; 80:41–50.
114. Yang J, Liu Y. Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis. *Am J Pathol.* 2001; 159:1465–1475.
115. Iwano M, Plieth D, Danoff TM, Xue C, Okada H, Neilson EG. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest.* 2002; 110:341–350.
116. Li L, Zepeda-Orozco D, Black R, Lin F. Autophagy is a component of epithelial cell fate in obstructive uropathy. *Am J Pathol.* 2010; 176:1767–1778.
117. He W, Dai C, Li Y, Zeng G, Monga SP, Liu Y. Wnt/ β -catenin signaling promotes renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20:765–776.
118. Li Y, Tan X, Dai C, Stolz DB, Wang D, Liu Y. Inhibition of integrin-linked kinase attenuates renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20:1907–1918.
119. Yang J, Shultz RW, Mars WM, Wegner RE, Li Y, Dai C, et al. Disruption of tissue-type plasminogen activator gene in mice reduces renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Clin Invest.* 2002; 110:1525–1538.
120. Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15:1–12.

121. Hertig A, Anglicheau D, Verine J, Pallet N, Touzot M, Ancel PY, et al. Early epithelial phenotypic changes predict graft fibrosis. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19:1584–1591
122. Herzog EL, Bucala R. Fibrocytes in health and disease. *Exp Hematol*. 2010; 38:548–556.
123. Wada T, Sakai N, Sakai Y, Matsushima K, Kaneko S, Furuichi K. Involvement of bone-marrow-derived cells in kidney fibrosis. *Clin Exp Nephrol*. 2011; 15:8–13.
124. Pilling D, Fan T, Huang D, Kaul B, Gomer RH. Identification of markers that distinguish monocyte-derived fibrocytes from monocytes, macrophages, and fibroblasts. *PLoS ONE*. 2009; 4:e7475.
125. Niedermeier M, Reich B, Rodriguez Gomez M, Denzel A, Schmidbauer K, Göbel N, et al. CD4 + T cells control the differentiation of Gr1 + monocytes into fibrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106:17892–17897.
126. Shao DD, Suresh R, Vakil V, Gomer RH, Pilling D. Pivotal Advance: Th-1 cytokines inhibit, and Th-2 cytokines promote fibrocyte differentiation. *J Leukoc Biol*. 2008; 83:1323–1333.
127. Sakai N, Wada T, Matsushima K, Bucala R, Iwai M, Horiuchi M, et al. The renin-angiotensin system contributes to renal fibrosis through regulation of fibrocytes. *J Hypertens*. 2008; 26:780–790.
128. Roufosse C, Bou-Gharios G, Prodromidi E, Alexakis C, Jeffery R, Khan S, et al. Bone marrow-derived cells do not contribute significantly to collagen I synthesis in a murine model of renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17:775–782.
129. Yang J, Dai C, Liu Y. Hepatocyte growth factor suppresses renal interstitial myofibroblast activation and intercepts Smad signal transduction. *Am J Pathol*. 2003; 163:621–632.
130. Schnaper HW, Jandeska S, Runyan CE, Hubchak SC, Basu RK, Curley JF, et al. TGF β signal transduction in chronic kidney disease. *Front Biosci*. 2009; 14:2448–2465.
131. Dai C, Liu Y. Hepatocyte growth factor antagonizes the profibrotic action of TGF β 1 in mesangial cells by stabilizing Smad transcriptional corepressor TGIF. *J Am Soc Nephrol*. 2004; 15:1402–1412.
132. Liu Y. Hepatocyte growth factor in kidney fibrosis: therapeutic potential and mechanisms of action. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004; 287:F7–F16

133. Luo DD, Phillips A, Fraser D. Bone morphogenetic protein-7 inhibits proximal tubular epithelial cell Smad3 signaling via increased SnoN expression. *Am J Pathol.* 2010; 176:1139–1147.
134. Wang B, Koh P, Winbanks C, Coughlan MT, McClelland A, Watson A, et al. miR-200a prevents renal fibrogenesis through repression of TGF β 2 expression. *Diabetes.* 2011; 60:280–287.
135. Kato M, Arce L, Wang M, Putta S, Lanting L, Natarajan R. A microRNA circuit mediates transforming growth factor β 1 autoregulation in renal glomerular mesangial cells. *Kidney Int.* 2011; 80:358–368
136. Inui M, Martello G, Piccolo S. MicroRNA control of signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010; 11:252–263.
137. Chung AC, Huang XR, Meng X, Lan H. Y miR-192 mediates TGF β /Smad3-driven renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21:1317–1325.
138. Zhou Q, Fan J, Ding X, Peng W, Yu X, Chen Y, et al. TGF β -induced MiR-491-5p expression promotes Par-3 degradation in rat proximal tubular epithelial cells. *J Biol Chem.* 2010; 285:40019–40027
139. Eyden B. Fibronexus junctions associated with in vivo human endothelium. *Ultrastruct Pathol.* 2009; 33:28–32.
140. Margadant C, Sonnenberg A. Integrin-TGF β crosstalk in fibrosis, cancer and wound healing. *EMBO Rep.* 2010; 11:97–105.
141. Legate KR, Fässler R. Mechanisms that regulate adaptor binding to β -integrin cytoplasmic tails. *J Cell Sci.* 2009; 122:187–198.
142. Legate KR, Montañez E, Kudlacek O, Fässler R. ILK, PINCH and parvin: the tIPP of integrin signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006; 7:20–31.
143. Eddy AA. Progression in chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2005; 12:353–365
144. Bradshaw AD. The role of SPARC in extracellular matrix assembly. *J Cell Commun Signal.* 2009; 3:239–246.

145. Weaver MS, Workman G, Sage EH. The copper binding domain of SPARC mediates cell survival in vitro via interaction with integrin β 1 and activation of integrin-linked kinase. *J Biol Chem.* 2008; 283:22826–22837.
146. Shweke N, Boulos N, Jouanneau C, Vandermeersch S, Melino G, Dussaule JC, et al. Tissue transglutaminase contributes to interstitial renal fibrosis by favoring accumulation of fibrillar collagen through TGF β activation and cell infiltration. *Am J Pathol.* 2008; 173:631–642
147. Huang L, Haylor JL, Hau Z, Jones RA, Vickers ME, Wagner B, et al. Transglutaminase inhibition ameliorates experimental diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2009; 76:383–394
148. Li Y, Yang J, Dai C, Wu C, Liu Y. Role for integrin-linked kinase in mediating tubular epithelial to mesenchymal transition and renal interstitial fibrogenesis. *J Clin Invest.* 2003; 112:503–516.
149. He W, Kang YS, Dai C, Liu Y. Blockade of Wnt/ β -catenin signaling by paricalcitol ameliorates proteinuria and kidney injury. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22:90–103.
150. Bielez B, Sirin Y, Si H, Niranjan T, Gruenwald A, Ahn S, et al. Epithelial Notch signaling regulates interstitial fibrosis development in the kidneys of mice and humans. *J Clin Invest.* 2010; 120:4040–4054.
151. Higgins DF, Kimura K, Bernhardt WM, Shrimanker N, Akai Y, Hohenstein B, et al. Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2007; 117:3810–3820.
152. Sun S, Ning X, Zhang Y, Lu Y, Nie Y, Han S, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α induces Twist expression in tubular epithelial cells subjected to hypoxia, leading to epithelial-to-mesenchymal transition. *Kidney Int.* 2009; 75:1278–1287.
153. Yang L, Besschetnova TY, Brooks CR, Shah JV, Bonventre JV. Epithelial cell cycle arrest in G2/M mediates kidney fibrosis after injury. *Nat Med.* 2010; 16:535–543.
154. Wang S, de Caestecker M, Kopp J, Mitu G, Lapage J, Hirschberg R. Renal bone morphogenetic protein-7 protects against diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17:2504–2512.
155. Tan X, He W, Liu Y. Combination therapy with paricalcitol and trandolapril reduces renal fibrosis in obstructive nephropathy. *Kidney Int.* 2009; 76:1248–1257.

156. de Zeeuw D, Agarwal R, Amdahl M, Audhya P, Coyne D, Garimella T, et al. Selective vitamin D receptor activation with paricalcitol for reduction of albuminuria in patients with type 2 diabetes (VITAL study): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2010; 376:1543–1551.
157. Mirkovic K, van den Born J, Navis G, de Borst MH. Vitamin D in chronic kidney disease: new potential for intervention. *Curr Drug Targets*. 2011; 12:42–53.
158. Wang X, et al. Mice lacking the matrix metalloproteinase-9 gene reduce renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010; 299:F973–F982.
159. Cheng S, Pollock AS, Mahimkar R, Olson JL, Lovett DH. Matrix metalloproteinase 2 and basement membrane integrity: a unifying mechanism for progressive renal injury. *FASEB J*. 2006; 20:1898–1900.
160. Zeisberg M, Khurana M, Rao VH, Cosgrove D, Rougier JP, Werner MC, et al. Stage-specific action of matrix metalloproteinases influences progressive hereditary kidney disease. *PLoS Med*. 2006; 3(4):e100.
161. Mimura I, Nangaku M. The suffocating kidney: tubulointerstitial hypoxia in end-stage renal disease. *Nat Rev Nephrol*. 2010; 6:667–678.
162. Touyz RM, Briones AM. Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension. *Hypertens Res*. 2011; 34:5–14.
163. Fine LG, Norman JT. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney diseases: from hypothesis to novel therapeutics. *Kidney Int*. 2008; 74:867–872.
164. Gunaratnam L, Bonventre JV. HIF in kidney disease and development. *J Am Soc Nephrol*. 2009; 20:1877–1887.
165. Hu K, Mars WM, Liu Y. Novel actions of tissue-type plasminogen activator in chronic kidney disease. *Front Biosci*. 2008; 13:5174–5186.
166. Tatal E , Sezer S. Proteinüri: Tanısı, Hasar Mekanizmaları Ve Tedavisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi I Official Journal of the Turkish Society of Nephrology* 2003;12 (3) 127-133
167. Steinhauslin F, Wauters JP. Quantification of proteinuria in kidney transplant recipients: Accuracy of the urine protein/creatinine ratio. *Clin Nephrol* 1995; 43:110.

168. Robinson RR. Isolated proteinuria in asymptomatic patients. *Kidney Int* 1980; 18:395.
169. Poortmans JR. Postexercise proteinuria in humans. Facts and mechanisms. *JAMA* 1985; 253:236.
170. Poortmans JR, Brauman H, Staroukine M, Verniory A, Decaestecker C, Leclercq R. Indirect evidence of glomerular/tubular mixed-type postexercise proteinuria in healthy humans. *Am J Physiol*. 1988;254:F277
171. Carrie BJ, Hilberman M, Schroeder JS, Myers BD. Albuminuria and permselective properties of glomerulus in cardiac failure. *Kidney Int*. 1980; 17:507
172. Lyubimova NV, Timofeev YS, Abaev VM, Votyakova OM, Kushlinskii NE. Immunochemical Diagnosis of Multiple Myeloma. *Bull Exp Biol Med*. 2018 May;165(1):84-87.
173. Snyder S, John JS. Workup for proteinuria. *Prim Care*. 2014 Dec;41(4):719-35.
174. Cameron JS, Turner DS, Ogg GS, Chantler C, Williams DG. The long term prognosis of patients with focal segmental glomerulosclerosis. *Clin Nephrol*. 1978; 10:213-18.
175. Row PG, Cameron JS, Turner DR, Evans DJ, White RHR, Ogg CS, et al. Membranous nephropathy. Long term follow-up and association with neoplasia. *Q J Med* 1975;44:207-9
176. Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation and intrinsic renal disease. *N Eng J Med* 1982; 307:652-9.
177. Boher MP, Deen WM, Robertson CR, Brenner BM. Mechanism of angiotensin II induced proteinuria in the rat. *Am J Physiol*. 1977; 233:F13-21
178. D'Amico G, Ferrario F, Rastaldi MP. Tubulointerstitial damage in glomerular diseases: it's role in progression of renal damage. *Am J Kidney Dis*. 1995; 26:124-32.
179. Remuzzi G, Bertani T. Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? *Kidney Int*. 1990; 38:3
180. Kees-Folts D, Sadow JL, Schreiner GF. Tubular catabolism of albumin is associated with release of an inflammatory lipid. *Kidney Int*. 1994; 45:1697-1709.

181. Biancone L, David S, Delia Pietra V, Montrucchio G, Cambi V, Camussi G. Alternative pathway activation of complement by cultured human proximal tubular epithelial cells. *Kidney Int* 1994; 45:451-60.
182. Burton C, Harris KPG. The role of proteinuria in the progression of chronic renal failure. *Am J Kidney Dis.* 1996; 27:765.
183. Zoja C, Morigi M, Figliuzzi M, Bruzzi I, Oldroyd S, Benigni A et al. Proximal tubular cell synthesis and secretion of endothelin-1 on challenge with albumin and other proteins. *Am J Kidney Dis.* 1995; 26:934-41.
184. Wang Y, Chen J, Chen L, Tay Y-C, Rangan GK, Harris DCH. Induction of monocyte chemoattractin-1 in proximal tubule cells by urinary protein. *J Am Soc Nephrol.* 1997; 8:1537-45
185. Zoja C, Donadelli R, Colleoni S, Figliuzzi M, Bonazzola S, Morigi M, Remuzzi G. Protein overload stimulates RANTES production by proximal tubular cells depending on NF-kB activation. *Kidney Int.* 1998; 53:1608-15.
186. Remuzzi G, Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Eng J Med.* 1998; 339:1448-56.
187. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory disease. *N Eng J Med* 1997;336:1066-1071.
188. Van Kooten C, Gerritsma JSJ, Paape MA, Van Es LA, Banchereau J, Daha MR. Possible role for CD40- CD40L in the regulation of interstitial infiltration in the kidney. *Kidney Int* 1997; 51:711 -721.
189. Sharma S, Smyth B. From Proteinuria to Fibrosis: An Update on Pathophysiology and Treatment Options. *Kidney Blood Press Res.* 2021;46(4):411-420.
190. Carrero JJ, Grams ME, Sang Y, Ärnlöv J, Gasparini A, Matsushita K, et al. Albuminuria changes are associated with subsequent risk of end-stage renal disease and mortality. *Kidney Int.* 2017; 91(1):244–51.
191. Ruggenenti P, Schieppati A, Remuzzi G. Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet.* 2001;357:1601–8.

192. Ruggenenti P, Perna A, Remuzzi G; GISEN Group Investigators. Retarding progression of chronic renal disease: the neglected issue of residual proteinuria. *Kidney Int.* 2003; 63(6):2254–2261.
193. Liu D, Wen Y, Tang TT, Lv LL, Tang RN, Liu H, et al. Megalin/cubulin-lysosome-mediated albumin reabsorption is involved in the tubular cell activation of NLRP3 inflammasome and tubulointerstitial inflammation. *J Biol Chem.* 2015 17; 290(29):18018–18028.
194. Jia Y, Zheng Z, Xue M, Zhang S, Hu F, Li Y, et al. Extracellular vesicles from albumin-induced tubular epithelial cells promote the M1 macrophage phenotype by targeting klotho. *Mol Ther.* 2019 7; 27(8):1452–66.
195. Kamijo A, Kimura K, Sugaya T, Yamanouchi M, Hase H, Kaneko T, et al. Urinary free fatty acids bound to albumin aggravate tubulointerstitial damage. *Kidney Int.* 2002; 62:1628–37.
196. Böttinger EP. TGF-beta in renal injury and disease. *Semin Nephrol.* 2007; 27:309–320.
197. Fernandez-Fernandez B, Izquierdo MC, Valiño-Rivas L, Nastou D, Sanz AB, Ortiz A, et al. Albumin downregulates Klotho in tubular cells. *Nephrol Dial Transplant.* 2018 1; 33(10):1712–22.
198. Delitsikou V, Jarad G, Rajaram RD, Ino F, Rutkowski JM, Chen CD, et al. Klotho regulation by albuminuria is dependent on ATF3 and endoplasmic reticulum stress. *FASEB J.* 2020; 34(2):2087–104.
199. Oshima M, Neuen BL, Li J, Perkovic V, Charytan DM, de Zeeuw D, et al. Early change in albuminuria with canagliflozin predicts kidney and cardiovascular outcomes: a post hoc analysis from the credence trial. *J Am Soc Nephrol.* 2020; 31(12):2925–2936.
200. Sheng L, Zhuang S. New insights in to the role and mechanism of partial epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis. *Front Physiol.* 2020; 11:569322.
201. Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:1–12.
202. Eddy AA. Molecular insights into renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 1996;7: 2495–508.

203. Abbate M, Zoja C, Remuzzi G. How does proteinuria cause progressive renal damage? *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:2974–84.
204. Burlaka I, Nilsson LM, Scott L, Holtbäck U, Eklöf AC, Fogo AB, et al. Prevention of apoptosis averts glomerular tubular disconnection and podocyte loss in proteinuric kidney disease. *Kidney Int.* 2016; 90(1):135–48.
205. Wohlfarth V, Drumm K, Mildenerger S, Freudinger R, Gekle M. Protein uptake disturbs collagen homeostasis in proximal tubule-derived cells. *Kidney Int Suppl.* 2003;84: S103–9.
206. Sanchez-Niño MD, Benito-Martin A, Gonçalves S, Sanz AB, Uceró AC, Izquierdo MC, et al. TNF superfamily: a growing saga of kidney injury modulators. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:182958.
207. Sheng L, Zhuang S. New insights in to the role and mechanism of partial epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis. *Front Physiol.* 2020 15;11:569322.
208. Bedke J, Hemmerlein B, Perske C, Gross A, Heuser M. Tumor-associated macrophages in clear cell renal cell carcinoma express both gastrin-releasing peptide and its receptor: a possible modulatory role of immune effectors cells. *World J Urol.* 2010 Jun;28(3):335-41.
209. McDonald TJ, Nilsson G, Vagne M, Ghatei M, Bloom SR, Mutt V. A gastrin releasing peptide from the porcine nonantral gastric tissue. *Gut.* 1978; 19(9):767-74.
210. Walsh J, Dockray GJ, Bunnet. *Gut peptides.* Raven Press New York.1994; pp 423;445
211. Gonzalez N, Moody T, W Igarashi, H Ito, T and Jensen R. T. Bombesin-related peptides and their receptors: recent advances in their role in physiology and disease states. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.*2008; 15, 58–64.
212. Ohki-Hamazaki H, Iwabuchi M, and Maekawa F. Development and function of bombesin-like peptides and their receptors. *Int. J. Dev. Biol.* 2005; 49, 293–300
213. Jensen R, T Battey, J.F Spindel, E.R and Benya R. V. International Union of Pharmacology. LXVIII. Mammalian bombesin receptors: nomenclature, distribution, pharmacology, signaling, and functions in normal and disease states. *Pharmacol. Rev.* 2008; 60, 1–42
214. Patel O, Shulkes A, and Baldwin G,S. Gastrin-releasing peptide and cancer. *Biochim. Biophys. Acta* 2006; 1766, 23–41

215. Naylor S.L, Sakaguchi A.Y, Spindel E, and Chin W.W. Human gastrin-releasing peptide gene is located on chromosome 18. *Somat. Cell Mol. Genet.* 1987; 13: 87–91
216. Ischia J, Patel O, Shulkes A, Baldwin GS. Gastrin-releasing peptide: different forms, different functions. *Biofactors.* 2009 Jan-Feb;35(1):69-75.
217. Ueland T, Gullestad L, Kou L, Aukrust P, Anand IS, Broughton MN, McMurray JJ, van Veldhuisen DJ, Warren DJ, Bolstad N. Pro-gastrin-releasing peptide and outcome in patients with heart failure and anaemia: results from the RED-HF study. *ESC Heart Fail.* 2018; 5(6):1052-1059.
218. Spindel E.R, Giladi E, Brehm P, Goodman R.H, and Segerson T.P. Cloning and functional characterization of a complementary DNA encoding the murine fibroblast bombesin/gastrin-releasing peptide receptor. *Mol. Endocrinol.* 1990; 4:1956–1963.
219. Wada E, Way J, Shapira H, Kusano, K, Lebacqz-Verheyden A.M, Coy D, et al. cDNA cloning, characterization, and brain region-specific expression of a neuromedin-B-preferring bombesin receptor. *Neuron* 1991; 6: 421–430.
220. Gorbulev V, Akhundova A, Buchner H, and Fahrenholz F. Molecular cloning of a new bombesin receptor subtype expressed in uterus during pregnancy. *Eur. J. Biochem.* 1992; 208:405–410.
221. Fathi Z, Corjay M.H, Shapira H, Wada E, Benya, R, Jensen R, et al. BRS-3: a novel bombesin receptor subtype selectively expressed in testis and lung carcinoma cells. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 5979–598
222. Wojcik E, Kulpa JK. Pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP) as a biomarker in small-cell lung cancer diagnosis, monitoring and evaluation of treatment response. *Lung Cancer (Auckl).* 2017 28; 8:231-240.
223. Patel O, Shulkes A, Baldwin GS. Gastrin-releasing peptide and cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1766(1):23–41.
224. Sciarra A, Mariotti G, Voria G, Pastore A, Monti S, Di Silverio F. Neuroendocrine differentiation in human prostate tissue: is it detectable and treatable? *BJU Int.* 2003;91(5):1464–4096

225. Cornelio D, Dal-Pizzol F, Roesler R, and Schwartzmann G. Targeting the bombesin/gastrin-releasing peptide receptor to treat sepsis. *Recent Patents Anti-Infect. Drug Discov.* 2007; 2: 178–181.
226. Petronilho F, Roesler R, Schwartzmann G, and Dal Pizzol F. Gastrin-releasing peptide receptor as a molecular target for inflammatory diseases. *Inflamm. Allergy Drug Targets.* 2007; 6, 197–20
227. Baroni A, Perfetto B, Canozo N, Braca A, Farina E, Melito A, et al. Bombesin: a possible role in wound repair. *Peptides.* 2008; 29, 1157–1166.
228. Grimsholm O, Rantapaa-Dahlqvist S, Dalen T, and Forsgren S. Observations favouring the occurrence of local production and marked effects of bombesin/gastrin-releasing peptide in the synovial tissue of the human knee joint—comparisons with substance P and the NK-1 receptor. *Neuropeptides.* 2008; 42, 133–145.
229. Grimsholm O, Guo Y, Ny T, Rantapaa-Dahlqvist S, and Forsgren S. Are neuropeptides important in arthritis? Studies on the importance of bombesin/GRP and substance P in a murine arthritis model. *Ann. NY Acad. Sci.* 2007; 1110, 525–538.
230. Modigliani E, Casanova S, Chayvialle JA, Bernard C, Franc B, Cohen R, et al. Immunoreactive gastrin-releasing peptide in medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 71(4):831-5.
231. Thomas SM, Grandis JR, Wentzel AL, Gooding WE, Lui VW, Siegfried JM. Gastrin-releasing peptide receptor mediates activation of the epidermal growth factor receptor in lung cancer cells. *Neoplasia.* 2005; 7(4):426-31.
232. Gustafson WC, De Berry BB, Evers BM, Chung DH. Role of gastrointestinal hormones in neuroblastoma. *World J Surg.* 2005; 29(3):281-6.
233. Gugger M, Reubi JC. Gastrin-releasing peptide receptors in non-neoplastic and neoplastic human breast. *Am J Pathol.* 1999; 155(6):2067-76.
234. Schwartzmann G, Di Leone LP, Dal Pizzol F, Roesler R. MAPK pathway activation in colorectal cancer: a therapeutic opportunity for GRP receptor antagonists. *Lancet Oncol.* 2005; 6(7):444-5.
235. Lacoste J, Aprikian AG, Chevalier S. Focal adhesion kinase is required for bombesin-induced prostate cancer cell motility. *Mol Cell Endocrinol.* 2005; 235:51–61

236. Schuhmacher J, Zhang H, Doll J, Mäcke HR, Matys R, Hauser H, et al. GRP receptor-targeted PET of a rat pancreas carcinoma xenograft in nude mice with a ⁶⁸Ga-labeled bombesin(6-14) analog. *J Nucl Med.* 2005; 46(4):691-9.
237. Pansky A, DE Weerth A, Fasler-Kan E, Boulay JL, Schulz M, Ketterer S, et al. Gastrin releasing peptide-preferring bombesin receptors mediate growth of human renal cell carcinoma. *J Am Soc Nephrol.* 2000; 11(8):1409-1418.
238. Reubi JC, Wenger S, Schmuckli-Maurer J, Schaer JC, Gugger M. Bombesin receptor subtypes in human cancers: detection with the universal radioligand (125)I-[D-TYR(6), beta-ALA(11), PHE(13), NLE(14)] bombesin(6-14). *Clin Cancer Res.* 2002; 8(4):1139-46.
239. Heuser M, Schlott T, Schally AV, Kahler E, Schliephake R, Laabs SO, Hemmerlein B. Expression of gastrin releasing Peptide receptor in renal cell carcinomas: a potential function for the regulation of neoangiogenesis and microvascular perfusion. *J Urol.* 2005; 173(6):2154-9.
240. Daniliuc S, Bitterman H, Rahat MA, Kinarty A, Rosenzweig D, Lahat N. Hypoxia inactivates inducible nitric oxide synthase in mouse macrophages by disrupting its interaction with alpha-actinin 4. *J Immunol.* 2003, 15; 171(6):3225-32.
241. Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, Greenall M, Clarke J, Harris AL. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res.* 1996, 15; 56(20):4625-9.
242. Siegert A, Denkert C, Leclere A, Hauptmann S. Suppression of the reactive oxygen intermediates production of human macrophages by colorectal adenocarcinoma cell lines. *Immunology.* 1999; 98(4):551-6.
243. Condeelis J, Pollard JW. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell.* 2006; 124:263–266
244. Crowther M, Brown NJ, Bishop ET, Lewis CE. Microenvironmental influence on macrophage regulation of angiogenesis in wounds and malignant tumors. *J Leukoc Biol.* 2001; 70(4):478-90.
245. Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res.* 2006, 15;66(2):605-12.

246. De la Fuente M, Del Rio M, Ferrandez MD, Hernanz A. Modulation of phagocytic function in murine peritoneal macrophages by bombesin, gastrin-releasing peptide and neuromedin C. *Immunology*. 1991; 73(2):205-11.
247. Del Rio M, De la Fuente M. Chemoattractant capacity of bombesin, gastrin-releasing peptide and neuromedin C is mediated through PKC activation in murine peritoneal leukocytes. *Regul Pept*. 1994; 49:185–193
248. Lemaire I. Bombesin-related peptides modulate interleukin-1 production by alveolar macrophages. *Neuropeptides*. 1991; 20:217–223
249. Lemaire I, Jones S, Khan MF. Bombesin-like peptides in alveolar macrophage: increased release in pulmonary inflammation and fibrosis. *Neuropeptides*. 1991 20:63–7
250. Meloni F, Ballabio P, Bianchi L, Mangiarotti P, Grassi G, Bignamini A, et al. Bombesin enhances monocyte and macrophage activities: possible role in the modulation of local pulmonary defenses in chronic bronchitis. *Respiration*. 1996; 63(1):28-34.
251. van Tol EA, Elzo Kraemer CV, Verspaget HW, Masclee AA, Lamers CB. Intravenous administration of bombesin in man stimulates natural killer cell activity against tumour cells. *Neuropeptides*. 1991; 18(1):15-21.
252. Hemmerlein B, Markus A, Wehner M, Kugler A, Zschunke F, Radzum HJ. Expression of acute and late-stage inflammatory antigens, c-fms, CSF-1, and human monocytic serine esterase 1, in tumor-associated macrophages of renal cell carcinomas. *Cancer Immunol Immunother*. 2000; 49(9):485-92.
253. Wharton J, Polak J.M, Bloom S.R, Ghatei M.A, Solcia E, Brown M.A, et al. Bombesin-like immunoreactivity in the lung. *Nature*. 1978;273:769-770.
254. Yamaguchi, K., Abe, T. Kameya, I. Adachi, S. Taguchi, K. Otsubo, and N. Yanaihara. 1983. Production and molecular size heterogeneity of immunoreactive gastrin-releasing peptide in fetal and adult lungs and primary lung tumors. *Cancer Res*. 43:3932-3939.
255. Uddman R, Moghimzadeh E, Sundler F. Occurrence and distribution of GRP-immunoreactive nerve fibres in the respiratory tract. *Arch Otorhinolaryngol*. 1984;239(2): 145-51

256. Willey JC, Lechner JF, Harris CC. Bombesin and the C-terminal tetradecapeptide of gastrin-releasing peptide are growth factors for normal human bronchial epithelial cells. *Exp Cell Res.* 1984;153(1):245-8.
257. Weber S, Zuckerman JE, Bostwick DG, Bensch KG, Sikic BI, Raffin TA. Gastrin releasing peptide is a selective mitogen for small cell lung carcinoma in vitro. *J Clin Invest.* 1985 ; 75(1):306-9.
258. Aguayo SM, King TE Jr, Waldron JA Jr, Sherritt KM, Kane MA, Miller YE. Increased pulmonary neuroendocrine cells with bombesin-like immunoreactivity in adult patients with eosinophilic granuloma. *J Clin Invest.* 1990;86(3):838-44.
259. Shijubo N, Yamaguchi K, Hirasawa M, Shibuya Y, Inuzuka M, Kodama T, Abe S. Progastrin-releasing peptide(31-98) in idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154(6 Pt 1):1694-9.
260. Day R, Lemaire I, Masse S, Lemaire S. Pulmonary bombesin in experimentally induced asbestosis in rats. *Exp Lung Res.* 1985;8(1):1-13.
261. Day R, Lemaire S, Nadeau D, Keith I, Lemaire I. Changes in autacoid and neuropeptide contents of lung cells in asbestos-induced pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis.* 1987 ;136(4):908-15.
262. Lemaire I. Bombesin-related peptides modulate interleukin-I production by alveolar macrophages. *Neuropeptides.*1991; 20:217-22
263. Aguayo SM, King TE Jr, Waldron JA Jr, Sherritt KM, Kane MA, Miller YE. Increased pulmonary neuroendocrine cells with bombesin-like immunoreactivity in adult patients with eosinophilic granuloma. *J Clin Invest.* 1990;86(3):838-44.
264. Aguayo S, R.W Janson, and T.E King Jr. Bombesin increases the production of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor by alveolar macrophages (abstract). *Clin. Res.* 1991;39:846A
265. Miyake Y, Kodama T, Yamaguchi K. Pro-gastrin-releasing peptide(3198) is a specific tumor marker in patients with small cell lung carcinoma. *Cancer Res.* 1994;54(8):2136-2140.

266. Takada M, Kusunoki Y, Masuda N, Matui K, Yana T, Ushijima S, et al. Pro-gastrin-releasing peptide (3198) as a tumour marker of small-cell lung cancer: comparative evaluation with neuron-specific enolase. *Br J Cancer*. 1996;73(10):1227-1232.
267. Shibayama T, Ueoka H, Nishii K, Kiura K, Tabata M, Miyatake K, et al. Complementary roles of pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP) and neuron specific enolase (NSE) in diagnosis and prognosis of small-cell lung cancer (SCLC). *Lung Cancer*. 2001;32(1):61-
268. Cavalieri S, Morelli D, Martinetti A, Galli G, Nichetti F, de Braud F, Platania M. Clinical implications for pro-GRP in small cell lung cancer. A single center experience. *Int J Biol Markers*. 2018 Jan;33(1):55-61.
269. Yamaguchi K, Abe K, Kameya T, Adachi I, Taguchi S, Otsubo K, et al. Production and molecular size heterogeneity of immunoreactive gastrin-releasing peptide in fetal and adult lungs and primary lung tumors. *Cancer Res*. 1983;43(8):3932–3939.
270. Toi-Scott M, Jones C, Kane M. Clinical correlates of bombesin-like peptide receptor subtype expression in human lung cancer cells. *Lung Cancer*. 1996;15(3):341–354.
271. Dumesny C, Patel O, Lachal S, Girand AS, Baldwin GS, Shalkes A. Synthesis, expression and biological activity of the prohormone for gastrin releasing peptide (ProGRP). *Endocrinology*. 2006;147(1):502–509
272. Weber S, Zuckerman JE, Bostwick DG, Bensch KG, Sikic BI, Raffin TA. Gastrin releasing peptide is a selective mitogen for small cell lung carcinoma in vitro. *J Clin Invest*. 1985;75(1):306-309.
273. Uchida K, Kojima A, Morokawa N, Tanabe O, Anzai C, Kawakami M, et al. Expression of progastrin-releasing peptide and gastrin-releasing peptide receptor mRNA transcripts in tumor cells of patients with small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2002;128(12):633-640.
274. Yamaguchi K, Abe K, Kameya T, Adachi I, Taguchi S, Otsubo K, et al. Production and molecular size heterogeneity of immunoreactive gastrin-releasing peptide in fetal and adult lungs and primary lung tumors. *Cancer Res*. 1983;43(8):3932-3939.
275. Yamaguchi K, Aoyagi K, Urakami K, Fukutani T, Maki N, Yamamoto S, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay of pro-gastrin-releasing peptide for small cell lung cancer patients in comparison with neuron-specific enolase measurement. *Jpn J Cancer Res*. 1995;86(7):698-7

276. Nisman B, Nechushtan H, Biran H, Peled N, Gantz-Sorotsky H, Doviner V, et al. New Architect plasma progastrin-releasing peptide assay for diagnosing and monitoring small-cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2016;114(4):469–476.
277. Tang JH, Zhang XL, Zhang ZH, Wang R, Zhang HM, Zhang ZL, et al. Diagnostic value of tumor marker progastrin-releasing peptide in patients with small cell lung cancer: a systemic review. *Chin Med J*. 2011;124(10):1563–1568.
278. Yang HJ, Gu Y, Chen CH, Xu C, Bao YX. Diagnostic value of progastrin-releasing peptide for small cell lung cancer: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(6):1039–1046.
279. Wang H, Qian J. Serum pro-gastrin-releasing peptide in diagnosis of small cell lung cancer: a meta analysis. *J Can Res Ther*. 2016;12(suppl): C260–C263
280. Giovanella L, Fontana M, Keller F, Campenni' A, Ceriani L, Paone G. Circulating progastrin releasing peptide (ProGRP) in patients with medullary thyroid carcinoma. *Clin Chem Lab Med*. 2021.16;59(9):1569-1573.
281. Preston SR, Miller GV, Primrose JN 1996 Bombesin-like peptides and cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 23:225–238
282. Moody TW, Chan D, Fahrenkrug J, Jensen RT 2003 Neuropeptides as autocrine growth factors in cancer cells. *Curr Pharm Des*. 9:495–509
283. Ueland T, Gullestad L, Kou L, Aukrust P, Anand IS, Broughton MN, McMurray JJ, van Veldhuisen DJ, Warren DJ, Bolstad N. Pro-gastrin-releasing peptide and outcome in patients with heart failure and anaemia: results from the RED-HF study. *ESC Heart Fail*. 2018;5(6):1052-1059.
284. Lin YH, Lin LY, Wu YW, Chien KL, Lee CM, Hsu RB, Chao CL, Wang SS, Hsein YC, Liao LC, Ho YL, Chen MF. The relationship between serum galectin-3 and serum markers of cardiac extracellular matrix turnover in heart failure patients. *Clin Chim Acta*. 2009; 409: 96–99.
285. Sharma UC, Pokharel S, van Brakel TJ, van Berlo JH, Cleutjens JP, Schroen B, Andre S, Crijns HJ, Gabius HJ, Maessen J, Pinto YM. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation*. 2004; 110: 3121–3128

286. Okubo M, Kaku K, Kaneko T, Yanaihara N. Effects of bombesin and gastrin releasing peptide on catecholamine secretion from rat adrenal gland in vitro. *Endocrinol Jpn* 1985; 32: 21–27
287. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 1998; 339: 321–328.
288. Nakahama H, Tanaka Y, Fujita Y, Fujii M, Sugita M. CYFRA 21-1 and ProGRP, tumor markers of lung cancer, are elevated in chronic renal failure patients. *Respirology* 1998; 3: 207–10.
289. Fang L, Huang Z, Lin Y, Fu J, Liang X, Liu F. Clinical application of pro-gastrin-releasing peptide. *Clin. Lab.* 2018; 64: 1259–68
290. Dai Z, Zhu J, Huang H, Fang L, Lin Y, Huang S, Xie F, Sheng N, Liang X. Expression and clinical value of gastrin-releasing peptide precursor in nephropathy and chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)*. 2020 May;25(5):398-405.
291. Dumesny C, Whitley JC, Baldwin GS, Giraud AS, Shulkes A. Developmental expression and biological activity of gastrin-releasing peptide and its receptors in the kidney. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2004; 287: F578–85
292. Hanbeyoglu A, Kazez A, Ustundag B, Akpolat N. Determination of urinary N-acetyl-ss-D glucosaminidase (NAG) levels in experimental blunt renal trauma. *Ulus. Travma. Acil. Cerrahi. Derg.* 2011; 17: 475–81
293. Ischia J, Patel O, Sethi K, Nordlund MS, Bolton D, Shulkes A, et al. Identification of binding sites for Cterminal pro-gastrin-releasing peptide (GRP)-derived peptides in renal cell carcinoma: A potential target for future therapy. *BJU Int.* 2015; 115: 829–38
294. Sethi S, Haas M, Markowitz GS, D'Agati VD, Rennke HG, Jennette JC, et al. Mayo clinic/renal pathology society consensus report on pathologic classification, diagnosis, and reporting of GN. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27:1278–87.
295. Chang A, Gibson IW, Cohen AH, Weening JJ, Jennette JC, Fogo AB. A position paper on standardizing the nonneoplastic kidney biopsy report. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012;7:1365–8.

296. Radić J, Ljutić D, Radić M, Kovačić V, Sain M, Curković KD. et al. The possible impact of dialysis modality on cognitive function in chronic dialysis patients. *Neth J Med*, 2010. 68(4): p. 153-7.
297. Türkiye 2019 Yılı Ulusal Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Kayıt Sistemi Raporu. . 2019; Available from: http://www.nefroloji.org.tr/folders/file/registry_2019.pdf
298. Bagnasco SM, Rosenberg AZ. Biomarkers of chronic renal tubulointerstitial injury. *J Histochem Cytochem* 2019;67: 633–41.
299. Liu BC, Tang TT, Lv LL, Lan HY. Renal tubule injury: a driving force toward chronic kidney disease. *Kidney Int* 2018;93:568–79.
300. Farris AB, Alpers CE. What is the best way to measure renal fibrosis? A pathologist's perspective. *Kidney Int Suppl* 2014;4:9–15







