

Enzimüri ve Mikroproteinürinin Klinik Önemi

Clinical Significance of Enzymuria and Microproteinuria

Sema Uslu

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir

ÖZET

Bazı idrar enzimleri ve düşük molekül ağırlıklı proteinler böbrek hasarının erken belirteçleri olarak kullanılmaktadır ve çeşitli patolojik durumlarda tübüler epitel hücrelerin fonksiyonundaki küçük değişikliklerin tanımlanması için faydalıdır. Bunların, kreatinin gibi böbrek fonksiyonunun diğer belirteçlerinin artışından uzun süre önce idrara ekskresyonları artar. Bu derlemenin ilk kısmında idrar enzim ve proteinlerinin kaynakları tanımlandı, idrardaki enzim aktivitelerinin ve protein düzeylerinin belirlenmesinde dikkat edilmesi gereken preanalitik ve analitik noktalar tartışıldı. İdrarla atılan ve tanısız öneme sahip enzim ve düşük molekül ağırlıklı proteinlerin özelliklerinin tanımlanmasından sonra akut tübüler nekroz, diyabetik nefropati, nefrotoksik maddelere bağlı böbrek hasarı ve böbrek transplantasyonundan sonraki komplikasyonların erken tesbitinde enzimüri ve mikroproteinürinin belirlenmesinin klinik değerleri tartışıldı.

Anahtar Sözcükler: Enzimüri, mikroproteinüri

ABSTRACT

Some urinary enzymes and low molecular weight proteins have been used as early markers of kidney damage and useful for the detection of small changes in the function of tubular epithelial cells in many pathological conditions. Their excretions increase long before elevation of other markers of renal function, such as creatinine. The first part of this review describes the sources of urinary enzymes and proteins and discusses the preanalytical and analytical problems with estimation of enzymatic activity and protein levels in the urine, mainly the problem of quantitative expression of excretion of urinary enzymes. After the description of main characteristics of diagnostically most important enzymes and low molecule weight proteins excreted in the urine, the diagnostic validity of enzymuria and microproteinuria with acute tubular necrosis, diabetic nephropathy, kidney damage due to nephrotoxic substances and in early detection of the complications after kidney transplantation are discussed.

Key Words: Enzymuria, microproteinuria

GİRİŞ

Biyolojik sıvılarda enzim aktivitelerinin tayini, yaygın bir laboratuvar tanı metodu olup enzim

aktivitelerinin tayini için en sıklıkla kullanılan biyolojik sıvı kan plazması veya serumdur. Ancak enzim aktiviteleri aynı zamanda idrar,

serebrosipinal sıvı, amniyotik sıvı gibi başka biyolojik sıvılarda da tayin edilebilir. İdrar enzim aktivitelerinin ölçümü, renal fonksiyon kaybının erken dönemde tesbitinde faydalı non-invaziv testler olarak kabul edilir (1).

İdrarda enzim aktivitesi ilk kez 1908 yılında Wohlgemunth tarafından idrarda amilaz enziminin incelenmesi ile gösterilmiştir. İdrar enzimlerinin klinik amaçlar için kullanılması, Rosalki ve Wilkinson tarafından böbrek hastalığı olan hastaların idrarlarında artmış enzim aktivitelerinin tanımlanmasıyla başlamıştır. 1950-1960'lı yıllar arasında, özellikle laktat dehidrogenaz, alkalen fosfataz ve lösin aminopeptidaz ve -glukronidaz'ın klinik olarak kullanılması ile daha geniş çaplı araştırma girişimleri başlatıldı. Bugüne kadar böbrek hastalıklarının tanısı için en az 50 enzim analiz edilmiştir (1,2).

Düşük molekül ağırlıklı proteinler (MA<70.000 kDa) glomerüler bazal membrandan serbestçe filtre edilebilir. Normal koşullarda, pratik olarak tüm düşük molekül ağırlıklı proteinler tamamen geri emilir (~%99). Bu proteinler ancak renal tübüller tarafından glomerüler filtrata geri emilim azaldığında idrarda tesbit edilebilirler. Renal tübüler hücrelerin filtre edilen proteinleri reabsorbe edememesi tübüler hasarın göstergesi olarak alınır (3). Üriner enzimler ve düşük molekül ağırlıklı proteinler nefrotoksisitenin erken belirteçleri olarak ve bir çok patolojik durumlarda tübüler epitel hücrelerin fonksiyonundaki küçük değişikliklerin tanımlanması için kullanılmaktadır (3-5).

İdrar enzim ve proteinlerinin kaynakları

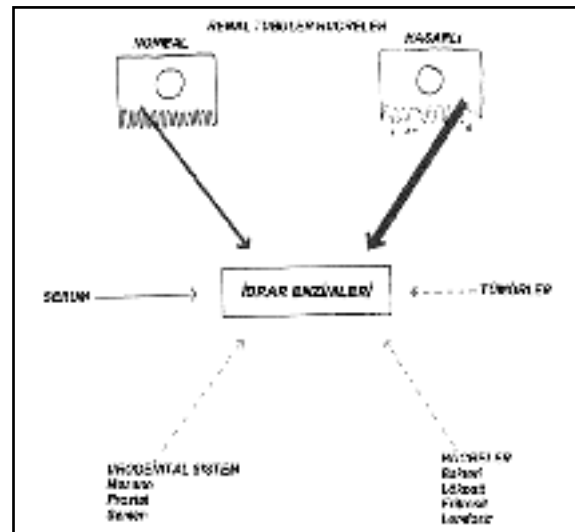
İdrarda enzim aktivitelerine çeşitli kaynaklar katkıda bulunur. İdrar enzimlerinin en büyük kısmı böbrek dokusundan kaynaklanır. Renal tubuler hücreler sayısız biyokimyasal fonksiyonları gerçekleştirmek için çeşitli enzimlerin yüksek aktivitelerini içerirler. İdrarda renal enzim atılımından tübül hücrelerinin membran geçirgenliğindeki değişiklikler kadar tübüler hücrelerin normal turnover oranı da sorumlu tutulmaktadır. Normal koşullarda,

idrara enzim atılımının çok azı glomerüler filtrasyon ile idrara geçen serum kaynaklı enzimlere aittir. Örneğin amilaz ve lizozim gibi düşük molekül ağırlıklı serum enzimlerinin atılımı böbrekler yolu ile olduğu için idrarda bulunurlar. İdrar enzimleri amilaz ve lizozim gibi düşük molekül ağırlıklı enzimler dışında, böbrek tübülus hücrelerinden kaynaklanır. Genital sekresyonlar, eritrosit, lökosit, lenfosit gibi kan hücreleri, üriner sistem veya genital sistem tümörleri ve bakteriler az miktarda idrar enzim aktivitesine katkı sağlarlar (2,6). İdrar enzimlerinin olası kaynakları Şekil 1'de şematize edilmiştir.

Sistemik ve metabolik hastalıklar, idrarın enzimatik aktivitesini etkileyen belirli organların hastalıkları veya üriner yolların değişik hastalıklarında idrar enzimlerinde belirgin değişiklikler ortaya çıkar. Bu değişiklikler idrarda bulunan enzimin aktivitesinde azalma veya artma tarzında olabileceği gibi normalde bulunmayan bir enzimin görülmesi şeklinde de olabilir (2,7).

Patolojik durumda idrar enzimlerinin kaynakları;

1- Böbrekler: Renal enzim atılımı, tübüler hücreler parçalandığında veya tübüler geçirgenliğin bozulduğu durumlarda belirgin artış gösterir. Tübüler hücrelerin hasarında renal enzim atılımı çeşitli faktörlere bağlıdır (2,7):



Şekil 1. İdrar enzimlerinin kaynakları.

- a) Hastalığın şiddetine,
- b) Hasarlı kısımda bulunan enzimlere,
- c) Hasarlı bölgedeki enzimlerin lokalizasyonuna,
- d) Enzimin bulunduğu yere bağlanma şekline,
- e) Enzim molekülünün fiziksel özelliklerine.

2- Serum: Glomerüler filtrasyonun patolojik olarak arttığı ve/veya tübüler reabsorbsiyonun bozulduğu durumlarda serumdaki bazı enzimler idrarda görülmeye başlar. Glomerüler filtrasyondaki değişiklik molekülün boyutlarıyla yakından ilgilidir.

3- Üriner yolların tümörleri: Tümör hücreleri genellikle yüksek enzim aktivitesi içerirler ve idrara geçince parçalandıklarında hücrelerin enzimleri idrarda tesbit edilebilir. Böbrekler, mesane ve genital organ tümörlerinde, başta laktat dehidrogenaz ve asit fosfataz olmak üzere belirli enzimlerin idrarda aktivitesi artar.

4- Eritrositler: Böbrekler, mesane, üriner yollar ve genital organlardaki kanama, idrarda eritrositlerin bulunmasına neden olabilir. Ayrıca ciddi nefritlerde de glomerüllerden eritrositler geçebilir, dolayısıyla idrarda eritrositlerde bulunan enzimler tesbit edilebilir.

5- İnfiltrat hücreler ve Eksuda hücreler:

Böbreklerin ve diğer üriner yolların değişik inflamatuvar prosesleri, lökosit, lenfosit gibi yüksek enzim içeriğine sahip olan hücrelerle birlikte. Bu hücreler sıklıkla idrara geçerler ve idrar enzim aktivitesine katkıda bulunurlar.

6- Bakteriler: Böbreklerin bakteriyel infeksiyonları (piyelonefrit, renal abse) veya ürogenital sistemin infeksiyonlarında idrarda sıklıkla bakteriler de bulunur. Bu durumlarda bakteriyel enzimler idrarda tesbit edilebilir.

Glomerüler bazal membran (GBM) plazma proteinleri için ultrafiltre görevi yapar. Her bir proteinin membrandan geçiş derecesi;

- 1- Molekül büyüklüğü
- 2- Net iyonik yükü
- 3- Plazma konsantrasyonu

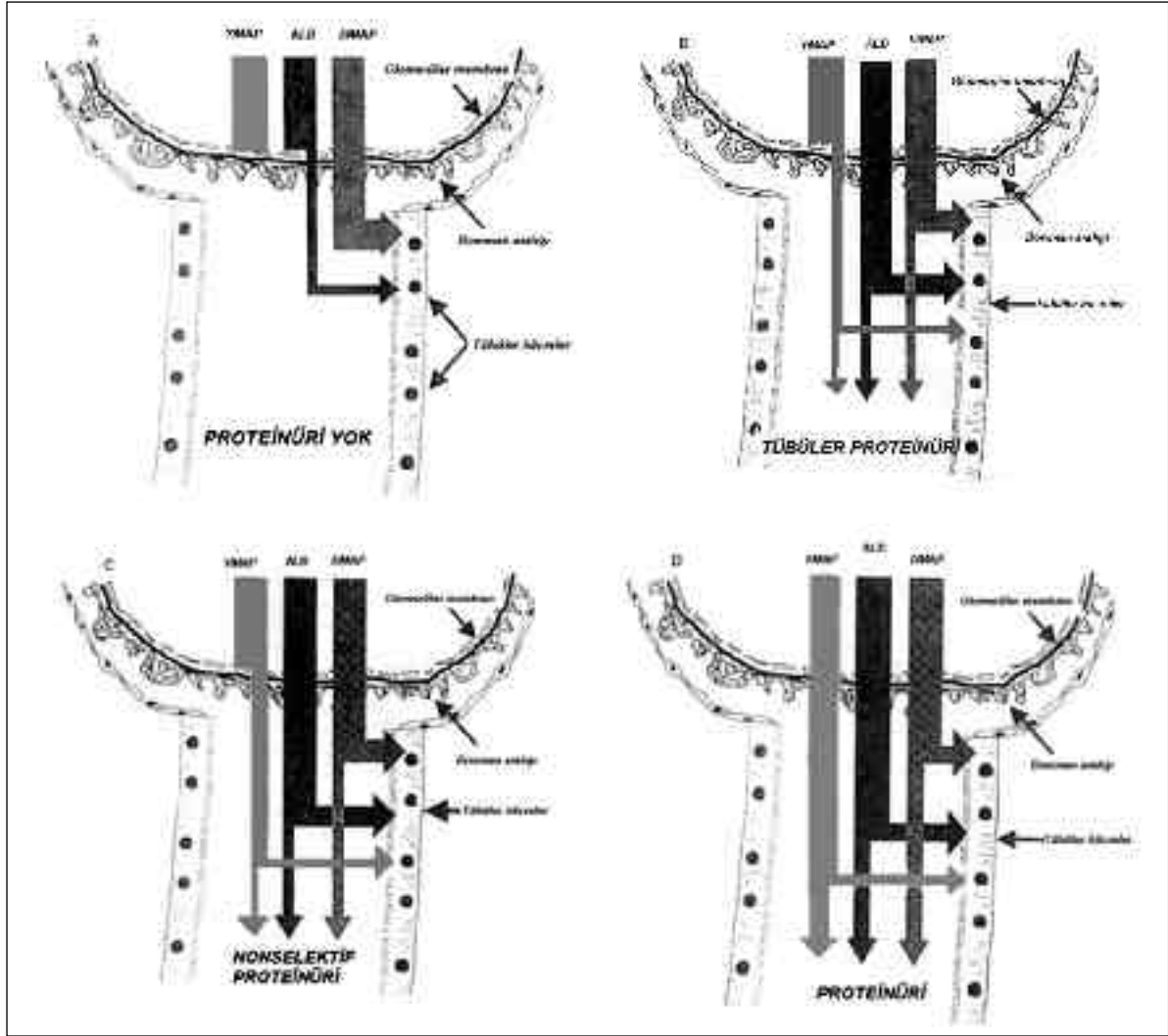
4- Böbrek tübülleri inden geri emilimin bir fonksiyonudur (8).

Genelde, protein moleküllerinin GBM'dan geçişleri boyutları ve net negatif yükleri ile ters orantılıdır (8). Normal fizyolojik koşullarda tüm düşük molekül ağırlıklı proteinler (DMAP) ve albumin (ALB) glomerüler bariyeri geçer ve tübüler hücreler tarafından tamamen emilirler bu nedenle de idrarda protein gözlenmez (Şekil 2A). Glomerüler membran geçirgenliğindeki değişiklikler ve proksimal renal tübüllerin geri emilim mekanizmasında bozukluklar sonucunda düşük molekül ağırlıklı proteinler ve albumin idrarda görülmeye başlar. Ancak bu durum idrar stripe-rinde pozitif reaksiyon vermeye yetmez. İdrarda düşük molekül ağırlıklı protein konsantrasyonunun artması bozulmuş ve bozulmakta olan tübüler geri emilimin göstergesidir. Bu durum "Selektif proteinüri" veya "tübüler proteinüri" olarak isimlendirilen mikroproteinüri durumudur (Şekil 2B). Daha ciddi bir hasar da glomerüler membranın geçirgenliği ilerleyici olarak artar ve tübüler hücrelerin geri emme mekanizmalarının doygunluğundan dolayı büyük miktarda yüksek molekül ağırlıklı proteinler de idrara salınır (Nonselektif proteinüri) (Şekil 2C). Ciddi glomerüler ve tübüler hasarın birlikte olması halinde yüksek ve düşük moleküler ağırlıklı proteinler ve albuminin büyük miktarları idrara salınır (Proteinüri) (Şekil 2D) (9).

Molekül ağırlıkları 30 kDa'dan daha az olan düşük molekül ağırlıklı proteinlerden, sistatin C, α_1 -mikroglobulin, retinol bağlayıcı protein ve α_2 -mikroglobulin glomerüler filtrasyon hızının (GFR) belirlenmesi için gerekli kriterleri taşırlar ve kreatininle beraber GFR'nin endojen belirteçleridir. Son bilgiler GFR için kreatinin ve sistatin C'yi "bronz standart" olarak tanımlarken diğerlerini kesin olmayanlar sınıfında nitelendirmiştir (10).

Enzimüri ve proteinürinin ölçümünde dikkat edilmesi gereken faktörler

İdrar, enzimler için uygun olmayan bir ortamdır. Söz konusu uygunsuzluk, idrarın son derece değişken hacmi, bileşimi, pH'sı iyonik



Şekil 2. Plazma proteinlerinin normal ve farklı patolojik durumlardaki farklı ekskresyonu.
YMAP: Yüksek molekül ağırlıklı protein, DMAP: Düşük molekül ağırlıklı protein, ALB: Albumin

gücü, interferans veren maddelerin varlığı, kan, epitel hücreleri ve mikroorganizmaların bulunabilmesinden kaynaklanır (2). Bu nedenle sonuçların elde edilmesine kadar ki preanalitik ve analitik aşamalarda dikkat edilmesi gereken noktalara titizlikle uyulmalıdır.

A- PREANALİTİK FAKTÖRLER

A-1. Örnek toplama ve saklama. Enzim tayini için idrarın 24 saat gibi uzun bir periyot boyunca toplanması geleneksel bir uygulamadır, özellikle enzimlerin diürenal ritimlerinden kaynaklanan değişiklikleri azaltmak için tercih edilmiştir ancak *in vivo* ve *in vitro* enzim inaktivasyonu daha geniş toplama periyot-

larına eşlik edebileceği için özellikle tarama amaçlı olarak pratik ve güvenilir olmadığı gözlenmiştir (1). Sekiz saatlik idrar toplanması (gece idrarı) nispeten tercih edilen yollardan birisidir ancak idrar haciminin değişkenliği ve üriner ekskresyonun sirkadien siklus gösterdiğini düşünen araştırmacılar 24 saatlik idrarı tercih etmektedirler (2). Son zamanlarda rastgele idrar örneği olarak, gece idrarının boşaltılmasından sonraki 2. sabah idrarının kullanımı en kabul gören uygulama olmuştur. Bu aynı zamanda ayaktan tedavi edilen hastalar için uygun bir yaklaşımdır. İkinci idrar örneği, enzim aktiviteleri dışında protein gibi diğer parametrelerin analizi için

de önerilmiştir (11). İdrar enzim aktivitesi, toplanan numunenin bekletilmesi durumunda kısa sürede bozulmaya çok yatkındır. Çünkü bakteriyel kontaminasyon, kompozisyonu değiştirir. Bu durum numunenin toplanmasında gerekli özenin gösterilmesi ile çözülebilir. Titiz bir şekilde toplanan numune, 24 saat gibi kısa bir süre oda ısısında veya 4°C'de saklanmaktan etkilenmez.

A-2. pH. İdrar enzimlerinin stabilitesi özellikle pH tarafından etkilenir. Düşük pH değerlerinde (~pH 5,0) alanin aminopeptidaz, gama glutamil transferaz ve laktat dehidrojenaz aktivitelerinin önemli bir kısmını hızla kaybederler buna karşın N-Asetil -D glukozaminidaz, idrarın daha yüksek pH'larında inaktive olur (~pH 8,0). İdrarda enzim aktivitesinin yanlış yorumlanmasından sakınmak için eş zamanlı idrar pH ölçümü yapılmalı düşük ve yüksek pH değerli örnekler ölçümden çıkarılmalı veya büyük dikkatle yorumlanmalıdır (1). pH, beta 2 mikroglobulin için de önemlidir ve bu protein 6,0'in altındaki pH'larda ve oda ısısında stabil değildir. Önlem olarak olası kaybı önlemek için hastaya bir gece önceden 4 g sodyum bikarbonat verilmesi önerilir (5).

A-3. İnterferanslar, İdrar enzim aktivitelerinin tayininde önemli bir diğer factor de idrarda bulunan inhibitörlerin ve aktivatörlerin uzaklaştırılmasıdır. Düşük molekül ağırlıklı peptidler ve inorganik fosfatlar gibi bir çok tanımlanmış inhibitör vardır. İdrar enzim ölçümleri ayrıca penisilin, sülfonamidler ve salisilat gibi ilaçlar veya ilaç metabolitlerinden de etkilenir (1). Enzim aktivitesini bu interferansdan kurumak için çeşitli yöntemler denenmiştir:

a) Dializ, bu işlem idrarın en az 8 saat (bir gece boyunca) distile suya karşı dializ edilmesi ile yapılır, idrardaki interfere maddeler büyük oranda uzaklaştırılmış olursa da zaman açısından dezavantajı vardır (2).

b) Dilüsyon, idrarın bazı tamponlar ile dilüsyonu dialize göre daha pratiktir (6)

c) Santrifüj, örneklerin 70 0-900 g'de 5-10 dakika santrifüj edildikten sonra süperne-

tantta aktivite tayini sıklıkla kullanılmaktadır (1).

(d) Jel filtrasyon, idrarın santrifüj edildikten sonra, sefadeks G-25 veya G-50 fine içeren bir kolondan jel filtrasyonu işlemi ile yukarıda bahsedilen etkileşimleri büyük oranda önlemek mümkündür (11). Enzim aktivitelerinde herhangi bir kayıp olmadan 4°C'de bir haftaya kadar saklanabilir (1). NAG aktivitesi jel filtrasyonu gerektirmediği için diğer idrar enzimlerine göre avantaj sağlar (12).

A-4. İdrar volümü, böbreğin dilüsyon ve konsantrasyon özelliğinden dolayı idrar miktarı enzim aktivitesi üzerinde önemli etkiye sahiptir. İdrar hacmi, ayrıca yiyecekler, alınan sıvı miktarı ve terleme gibi faktörlere bağlı olarak geniş sınırlarda değişebilir. Diürez önemli bir rol oynayabilir, bu durumda idrar hacmi ve enzim aktivitesi arasındaki ilişki değişiklik gösterir. Oligüride birim hacim başına aktivitede artış bulunurken, diürezde ise birim zaman başına total aktivitede artış tesbit edilir (13).

A-5. Referans sınırların belirlenmesi, İdrar akımı, yaş, cinsiyet, biyoriitm, genetik faktörler, hormonal durum (gebelik gibi), beslenme, fiziksel aktivite alışkanlıkları referans noktaların tam tesbitini zorlaştırmaktadır. Yukarıda bahsedilen problemler nedeniyle sonuçların karşılaştırılması ve referans değerler açısından yorumu için kişinin normal bir diyet alması, alkol dahil olmak üzere mümkünse ilaç kullanmaması veya özellikle tayin edilecek parametre yönünden sıkıntı oluşturan ilaçların alınmaması önerilir (2).

B-ANALİTİK FAKTÖRLER

B-1. İdrarda enzim aktivelerinin ve protein düzeylerinin ölçümü

Günümüzde idrar enzim ve mikroproteinlerinin ölçümü için çeşitli, tamamen otomatize metodlar geliştirilmiştir. Proteinlerin ölçümü için immünonefelometrik veya enzim immünosorbent assay (ELISA) yöntemlerinin uygulandığı ticari kitler üretilmiştir. Puglia ve

ark. düşük molekül ağırlıklı proteinlerin (α_1 -MG, α_1 -GP, ve α_2 -MG) idrarda tarama amaçlı tesbiti için güvenilir dipstikler üretmişlerdir (14).

Enzimlerin ölçümü her bir enzim için değişik substratlar kullanılarak enzimatik metodlarla gerçekleştirilir ve hidroliz ürünlerinin absorbanslarındaki değişiklik spektrofotometrik olarak ölçülür (15). Jaskot ve ark. idrarda glutasyon S-transferaz aktivitesinin ölçümü için otoanalizöre uyarlanabilen yöntem geliştirmişlerdir (16). Son yıllarda idrarda glutasyon S-transferaz izoenzimlerinin ölçülebildiği ticari kitler de üretilmiştir. Alkalin fosfatazın ölçümü için mikroflorometrik bir yöntem uygulanmıştır (17). Xu ve ark. idrarda NAG ve beta-galaktozidaz ölçümü için hızlı kolorimetrik bir yöntem geliştirmişler ve bir otoanalizöre uygulamışlardır (18). Son bir yayında da Mandric ve ark. idrarda NAG ve izoenzimlerinin ultrafiltrasyon, dializ ve DEAE selülozdaki kromatografik ayırımdan sonra ölçümünün idrarda geniş PH aralığında güvenilir olduğunu göstermişlerdir (19). İdrar enzimlerinin ölçümünde kullanılan diğer bir yöntem ise yüksek performans sıvı kromatografi (HPLC) yöntemidir (20). Son çalışmamızda diabetik hastaların sabah ikinci ve 24 saatlik idrar örneklerini santrifüj ettikten sonra jel filtrasyonundan filtreye edip otananalizörde çalışarak sonuçları karşılaştırdık ve sabah ikinci idrar örneklerinde test tekrar edilebilirliğinin daha yüksek olduğunu ve sonuçların daha stabil olduğunu gözledik (21). Ancak literatür taramamızda, ikinci idrarda hiç bir işlem yapılmadan (özellikle GGT, AP ve LDH aktiviteleri için) otoanalizörle çalışıldığı araştırmalara da rastlanmıştır (22,23).

B-2. İdrarda enzim aktivitelerinin ve protein düzeylerinin yorumu

Enzim ekskresyonunun teşhise yardımcı olarak kullanılmasında ekskresyonun ifadesi için, zaman, kreatinin, spesifik gravite ve osmolalite ile ilişkilendirilmesini öneren değişik yöntem ve referanslar vardır (24). Numune toplama ile biyolojik varyasyon dan kaynak-

lanabilecek hataları en aza indirmek amacıyla, sonuçların idrar kreatininin gramı veya molü başına verilmesi en uygundur. Üriner birim kreatinin başına enzim aktivitesi ilişkisi (enzim ünitesi/ kreatinin oranı; enzim ünitesi/ kreatinin indeksi, örneğin NAG-indeksi) üriner enzim ekskresyonunun ifade edilmesinde üzerinde uzlaşılan bir yoldur (25). Düşük molekül ağırlıklı proteinlerin klirenslerinin hesaplanması bir başka ifade şekli olarak kullanılmaktadır.

Böbrek hasarını erken belirlemek ve hasarlanmış bölgeyi tesbit edebilmek için sıklıkla kullanılan idrarda Biyokimyasal belirteçleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Bu derlemede özellikle düşük molekül ağırlıklı proteinler, tübuler enzimler ve serum enzimleri gruplarında (Tablo 1) yer alan enzim ve proteinlerin yapısal, tanısal ve klinik özelliklerinin tartışılması amaçlanmıştır.

1- DÜŞÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLIL PROTEİNLER

α_1 -Asit Glikoprotein (OROSOMUKOİD, AAG)

AAG, 181 aminoasitli ve %11-12'si siyalik asit içeren, yaklaşık %45'i karbohidrattan oluşmuş, MA 40kDa olan bir polipeptiddir. Lipofilik maddeleri bağlayan proteinler olan Lipokalinlerin bir üyesidir. Primer olarak hepatik parankimal hücrelerde sentezlenir ve hepatik asiloprotein reseptörleri tarafından desialoproteinin uzaklaştırılmasıyla katabolize olur. Yüksek negatif yüklü ve düşük molekül ağırlıklı olduğundan çeşitli hastalıklarda idrardaki miktarı yüksektir (26). Magid ve ark. akut inflamasyonda idrardaki orosomukoidin albuminden daha fazla bilgi verici olduğunu önerdiler (27).

α_1 -Antitripsin (α_1 -proteinaz inhibitörü; AAT)

AAT, 51 kDa molekül ağırlığında, 3 karbonhidrat yan zinciri içeren 394 amino asitten oluşan bir polipeptid zinciridir. AAT'e özellikle tripsinle ilişkili, serin proteazları inaktive eden serpinler de denir (serin proteinaz inhibitörleri). Primer olarak hepatik parankimal hücrelerde sentezlenir. Katabolizması 2 yolla olur; ya AAT-proteaz komplekslerinin

Tablo 1 . İdrarın Biyokimyasal Belirteçleri.

Sınıflandırma	Adı ve kısaltılmış gösterilişi		
1- Düşük Molekül Ağırlıklı Proteinler	₁ -asit glukoprotein	AAG	
	₁ -antitripsin	AAT	
	₁ - Mikroglobulin	AIM	
	₂ -Mikroglobulin	₂ ^M	
	₂ -Glikoprotein-1	₂ -GLU	
	Retinol bağlayıcı protein	RBP	
	İdrar proteini 1	UPI	
	Sistatin C	Cys C	
	Vasküler Endotelial Growth Faktör	VEGF	
2- Tübüler Enzimler	Lizozomal Enzimler	N-Asetil -D glokozaminidaz	NAG
		-Galaktozidaz	GAL
		-Glukuronidaz	GRS
		-Glukozidaz	GLU
		Arilsülfataz	ASA
		Lizozim	LYS
		Brush-Border Enzimleri	Alanin Aminopeptidaz
	Gama glutamil transferaz		GGT
	Lösin aminopeptidaz		LAP
	Alkalin fosfataz		AP
	Sitozolik Enzimler	Glutasyon S-Transferaz	GST
		Laktat Dehidrogenaz	LDH
		Treahalaz	
	Diğer Enzimler	Matriks metalloproteinazlar Ürokinaz	MMP-2,9
		Kallikrein	
3- Serum Enzimleri	Pankreatik Amilaz	P	
	Tükrük Amilazı	S	
4- Distal Tübül Protein	Tamm-Horsfall protein	THP	
5- Glomerüler Yapısal Proteinler	Glikoaminoglikanlar	GAG	
	Fibronektin	FN	
	Sialik Asit		
6- Prostanoidler	Tromboksan ₂	TX ₂	
	Prostaglandin F ₂	PGF ₂	
	6-Ketoproglandin F ₁	6-keto PGF ₁	
	Prostaglandin E ₂	PGE ₂	
7- Orta Moleküler Ağırlıklı Protein	Albumin	ALB	
	Transtiretin	TTR	
8- Yüksek Moleküler Ağırlıklı Proteinler	Transferrin	TF	
	Adenozin-deaminaz bağlayıcı protein	ADBP	
	Seruloplazmin	CER	
	Immunglobilin G	IgG	
	Immunglobilin M	IgM	
	₂ -Makroglobulin	AMG	
	Fibronektin		
	Kollajen IV		
Neopiterin			

serpin-enzim kompleks reseptörlerince yakalanması (SEC-R) ya da desialize AAT'in asialoglikoprotein reseptörleri tutması ile dolaşımdan uzaklaştırılır. Proksimal tübüler hücre hasarı olmadıkça idrara salgılanmaz (26). Lisowska-Myjak ve ark. esansiyel hipertansiyonlu ve sekonder hipertansiyonlu hastaların idrarında artmış AAT ekskresyonunu gösterdiler (28).

α_1 -Mikroglobulin (HC protein, AIM, α_1 -MG)

27kDa ağırlığında, karaciğerde üretilen 183 amino asitten oluşan bir glikoprotein olan AIM, HC protein olarak da adlandırılmıştır (29). Otuz dördüncü sistein (Cys³⁴) pozisyonunda serbest sistin yan zincirine sahiptir böylece plazma proteinleri (yaklaşık olarak %50'si immunglobulin A, %7'si albumin ve %1'i protrombin) ile kompleksler oluşturur. Cys C ve α_2 -Mikroglobulin gibi serbest AIM'nin plazma konsantrasyonu (AIM-IgA değil) GFR'deki azalmanın erken belirlenmesinde kullanılabilir (30). Çok fonksiyonlu immunomodülatör bir proteindir. Çok sayıda çalışma klinik uygulamaların geniş bir spektrumuyla ilişkisini göstermiştir. Serbest monomerik AIM normal idrarda çok küçük miktarlarda bulunur ve artmış konsantrasyonu bozulmuş tübüler fonksiyonun duyarlı bir belirteçidir. İdrar AIM ölçümü ağır metal toksisitesi, diabetik nefropati, piyelonefrit, tübüler bozuklukların erken tanısı ve izlenmesinde non-invaziv bir testdir (29-31).

β_2 -Mikroglobulin (BMG, β_2 -MG)

BMG, tüm çekirdekli hücrelerin yüzeyinde bulunan düşük moleküler ağırlıklı (11.8 kDa) bir polipeptittir. Normalde insanların serum, serebrospinal sıvı, tükürük ve idrarlarında düşük konsantrasyonlarda bulunur. İdrara salınımı sıklıkla çalışılmış ve önceleri "altın standart" olarak nitelendirilmiştir ancak pH 6.0'nın altındaki asit idrarda stabil olmaması önemli dezavantajını oluşturur (32).

β_2 -Glikoprotein-1 (Apolipoprotein H, β_2 -G1)

β_2 -G1, molekül ağırlığı yaklaşık 50 kDa olan düşük molekül ağırlıklı bir plazma proteindir.

İzoelektrik noktası yüksek olduğu için glomerüllerden kolaylıkla filtre edilir. Bu proteinin artmış idrar atılımı plazma kreatinin normal sınırlarda iken ve glomerüler harabiyet yokken görülür. Son yıllarda tübüler harabiyetin güvenilir bir belirteci olarak tanımlanmıştır (33). β_2 -G1'nin en önemli avantajı, pH 4.5'in altındaki asit idrarda stabil olmasıdır (34).

Retinol bağlayıcı protein (RBP, α_2 -Mikroglobulin)

RBP, isminden anlaşıldığı gibi, A vitamininin aktif şekli olan tüm-trans retinol için 21 kDa molekül ağırlığında küçük, monomerik taşıyıcı bir proteindir. Karaciğerde sentezlenir, sentezi için çinko ve golgi cisimciğinden taşınımı için retinol gereklidir. Plazmada transtiretin (TTR) ile 1:1 kompleks halinde dolaşır. Bu kompleks, RBP'ı renal glomerüllerden filtre edilmekten korur ve hedef olmayan hücrelere salınımını azaltmak için retinol ile RBP arasındaki etkileşimi stabilize eder. Hedef hücrede retinolün alınımını TTR-RBP kompleksinin ayrışması izler, apo-RBP (retinolsüz RBP) daha sonra böbrekler yolu ile dolaşımdan temizlenir. Kronik böbrek hastalığı, diyabetik nefropati veya ağır metal zehirlenmeleri gibi tübüler renal hasarlı bireylerde idrardaki miktarı artar (26).

İdrar proteini 1 (Clara Cell Protein, UP1)

Clara cell protein (CC₁₆) isimlendirilen, son zamanlarda tanımlanan, 16 kDa molekül ağırlıklı asit idrarda çok stabil düşük molekül ağırlıklı bir β_2 glikomikroglobulindir. Baskın olarak terminal bronşiollerdeki Clara hücrelerinden ve puberteden sonra erkek ürogenital sistemden salgılanır. Tip 1 diyabetik hastalarda renal tübüler fonksiyonun indikatörü olarak β_1 -mikroglobulinden daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Ekskresyonu, β_1 mikroglobulin, β_2 mikroglobulin ve RBP ile kıyaslandığında diyabetik hastalar, gebeler ve kadmiyuma maruz kalan kadın işçilerde tübüler disfonksiyonun daha duyarlı indeksidir. Buna rağmen erkeklerde böbrek dışı boşaltım

sistemi organlarından salgılanması duyarlılığını sınırlar (35-36).

Sistatin C (Cys C)

120 amino asit içeren 13 359 kDa ağırlığında izoelektrik noktası 9.3 olan bazik bir serin proteaz inhibitörüdür. Renal işlev ile ilgili en önemli özellikleri küçük boyutlu ve yüksek izoelektrik nokta (pI) değerine sahip olmasıdır ve bu özellik glomerüllerden serbestçe süzülmesine izin verir ayrıca yaş, kas kütlesi, inflammasyon gibi durumlardan etkilenmez. Normal idrardaki konsantrasyonu düşüktür (37). Tian ve ark. serum ve idrarda sistatin C ölçümünün glomerüler filtrasyon hızının (GFR) erken dönemde belirlenmesinde faydalı olduğunu aynı zamanda 2-MG gibi düşük molekül ağırlıklı proteinlerin idrara salgılanma oranlarının bir belirteci olarak da kullanılabileceğini bildirdiler (38). Bir diğer çalışmada tip 2 DM'lu hastalarda serum sistatin C ve 2-MG düzeyleri karşılaştırılmış ve klinik olarak GFR'deki değişikliklerin belirlenmesinde CysC'nin daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (39). Uchida ve ark. İdrar sistatin C/kreatinin oranının çok erken safhalarda tübüler hasarın bir belirteci olarak hizmet edebileceğini ve idrar Cys C düzeylerinin kreatinin klirensi normal düzeylerde iken GFR'yi yansıtacağını bildirdiler (40). Sistatin C immünolojik yöntemlerle ölçülür, en kullanışlı yaklaşım lateks-partikül ile güçlendirilmiş türbidimetrik veya nefelometrik ölçümleri kullanmaktır (10).

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)

VEGF, bir disülfid bağı ile bağlı 35-45 kDa ağırlığında homodimerik bir glikoproteindir. Amino asit sayıları ile (VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆) veya harflerle gösterilen (sırasıyla, B, A, C, D) 4 alt gruba ayrılmıştır. Diabetik mikrovasküler komplikasyonların patogeneğinde rol oynadığı düşünülen bir sitokindir (41). VEGF podositlerde üretilir ve fonksiyonel reseptörleri endotelial glomerüler hücrelerde lokalize olmuştur. Lenz ve ark. VEGF₁₆₅'i serum ve idrarda ELİSA yöntemi ile ölçmüşler ve diabetik nefropatideki

albuminürinin gelişmesine benzer rol oynadığını bildirmişlerdir (42). Kim ve ark. da diyabetik nefropatinin erken aşamalarında VEGF'in idrara salınımının arttığını ve idrar albumin atılımı ile korele olduğunu bu nedenle diabetik nefropatinin izlenmesinde duyarlı bir belirteç olarak kullanılabileceğini önerdiler (43). Cha ve ark. da diyabetik ratlarda diabetik nefropatinin erken dönem belirteci olarak artmış idrar VEGF düzeylerini gösterdiler (44).

2- TÜBÜLER ENZİMLER

N-asetil β-D glukozaminidaz (E.C 3.2.1.30, NAG)

Proksimal tübüllerde en yüksek aktivitede olmak üzere tüm nefron boyunca yayılmış ve tübüler hücrelerin lizozomları içinde lokalize olmuş, idrardaki aktivitesi stabil glikolitik bir enzimdir. Yüksek molekül ağırlığı (130 kDa) nedeniyle glomerüllerden filtre edilemez ve bu nedenle idrar konsantrasyonunun artması proksimal tübüler hasarı veya lizozomların bütünlüğünün kaybolduğunu gösterir (45). Proksimal tübüllerde bulunan eksozitoz/endositoz transport sistemi, normal bireylerde lizozomal enzimlerin en düşük miktarlarının atılımına neden olur. Çeşitli nedenlerle bu sistemin tahrip olması sonucu idrara atılımı artar (46). İzoelektrik noktası 5.4 olan NAG-A ve 7.9 olan NAG-B olmak üzere iki izoenzimi vardır. Normal bireylerde NAG salınımı yaş ile değişir ve az bir diürenal ritm gösterir ve çocuklarda erişkinlere göre daha yüksek düzeylerde salgılanmaktadır (47). İdrarda NAG ölçümü için fotometrik ve florometrik yöntemler kullanılır (10). İdrar NAG ölçümü, diabetes mellitus, nefrotik sendrom, inflammasyon, idrar yolu enfeksiyonu, hiperkalsüri, nefrokalsinoz, hipoksi, hipertansiyon, ağır metal zehirlenmesi, aminoglikozid veya diğer nefrotoksik ilaçların tedavisi gibi bir çok durumun neden olduğu renal hasarın çok duyarlı ve güvenilir bir belirteçidir (48). Derlemenin son kısmında incelenen hastalıklar dışında, Romatoid artrit ve lupus nefritli hastalarda da artmış idrar NAG aktivitesi bildirilmiştir

(49). Önceki çalışmamızdan birisinde, tek böbrekli çocuklarda drar NAG aktivitesinin artmış olduğunu bulduk (50), Bir diğer çalışmamızda ise, ciddi kanamaya maruz bırakılan ratlarda iskemik doku hasarının idrar NAG aktivitesinde artışa yol açtığını ve naloksan ile vazointestinal peptid (VIP) kombinasyonunun tedavi edici etkisinin idrar NAG aktivitesinde önemli azalmalar sağladığını gözledik (51). Bir başka çalışmamızda da akut piyelonefritli çocuklarda idrar NAG, Endotelin 1,2 ve β -MG düzeylerini SPECT-DMSA sintigrafi bulguları ile karşılaştırdık (52).

β -glukuronidaz (E.C 3.2.1.30, β -GLU)

NAG ile beraber glukozaminoglikan (GAG) moleküllerinin yıkımında rol alan bir enzimdir. β -glukuronidaz ve GAG ekskresyonunun idrarda ölçülmesi diabetik hastaların böbreklerinde oluşan metabolik ve yapısal değişikliklerin erken tanısında faydalı parametrelerdir (53).

Asit α -glukozydaz (E.C 3.2.1.3)

Özellikle böbrek ve barsaklarda bulunan lizozomal bir enzimdir. Bu enzim normal olarak plazmada bulunmadığından idrarda artışının tübüler hasar için spesifik bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir (54).

Lizozim (E.C 3.2.1.19, LYS)

Murominidaz olarak bilinen, böbrekte yüksek konsantrasyonda bulunan 14.8 kDa ağırlığında bazik bir proteindir. Lizozomlarda ve birçok ekstrasellüler sıvıda özellikle ekzokrin sekresyonda intrasellüler olarak bulunur. Bakterisidaldir ve granülositler ve monositler tarafından üretilir fakat lökositler tarafından üretilmez. Enzim düşük molekül ağırlıklı proteinler gibi glomerüllerden filtre edilir ama hemen tümü tübüller tarafından reabsorbe ve katabolize edilir. Bu nedenle idrar içersindeki Lys düzeylerindeki artışlar, tübüler hasarın olduğu ve özellikle endojen sentezin arttığı (özellikle, monositik lösemi ve inflamatuvar barsak hastalığı) durumlar ile ilişkilidir. İdrar Lys düzeyleri, enzim aktiviteleri ve immünolojik yöntemlerle ölçülür (54).

Arilsülfataz A (E. C 3.1.6.1, ASA)

Çeşitli aromatik sülfatlardaki ester bağının hidrolizini katalize eder. Üç tip ASA tanımlanmıştır ASA A ve B kolaylıkla C'ye çevrilebilen lizozomal enzimlerdir, C çözünmez ve mikrozomlarda yerleşmiştir. Normal insan idrarında ASA aktivitesi düzenli olarak mevcuttur. Renal hastalıklarda, örn. renal tüberküloz, renal tümörler, üriner sistem enfeksiyonu ve mesane karsinomunda idrar ASA aktivitesi artar. Buna rağmen aktivitesi meta-kromatik lökodistrofli hastaların idrarında belirgin olarak azalmıştır (2).

Alanin aminopeptidaz (E.C 3.4.11.2, AAP)

İnsanlarda en çok böbrekte olmak üzere tüm dokularda bulunur. AAP proksimal tübülün temel enzimidir ve brush-border membran enzimlerindenidir. Sekresyonu diürenal ritim gösterir sabah 8 ve 12 arasında en yüksek düzeyde salgılanır. Artan yaşla birlikte enzim/kreatinin oranı önemli oranda düşmektedir. AAP nin idrar aktivitesi tübüler fonksiyonun spesifik bir belirteci olarak bir çok patolojik durumda incelenmiştir (2).

Alkalen fosfataz (E.C 3.1.3.1 AP)

Normalde idrarda düzenli bir AP aktivitesi mevcuttur. AP,brush-border membranın iç kısmında yerleşmiş proksimal tübülüs enzimidir. İdrar AP kaynakları böbrekler ve ince barsaklar olabilir ve pH 10 civarında optimum aktivite gösterir. İdrar AP aktivitesi sabahları en düşük akşamları en yüksektir. Aktivitesi ölçülmeden önce dilüe edilmesi ve dializ ile inhibitörlerinin uzaklaştırılması önerilir (1,54).

γ -Glutamil Transferaz (E.C 2.3.2.2, GGT)

GGT, γ -glutamil grubunu bir peptid veya bu grubu taşıyan bir bileşikten bazı alıcılara aktarılmasını katalize eder. Böbrekte glutatyon sentezi GGT tarafından dengelendiği için brush-border'ın kaybı glutatyon sentezinde azalmaya yol açar. İdrarda GGT, olasılıkla böbreklerden ve genitoüriner sistemden kaynaklanır. İdrarda artmış enzim aktivitesi, akut ürorenal infeksiyonlarda ve renal doku hasarına yol açan hastalıklarda görülür. An-

cak, kronik renal hastalığı bulunan olgularda ve yaşlılarda idrar enzim düzeyi azalır (54).

Lösin Amino Peptidaz (E.C 3.4.11.2, LAP)

Özellikle lösin amino asitine spesifik proteolitik bir enzimdir. LAP, sodyum tetrasyonat, civa klorür, yılan zehiri gibi toksik maddelerin erken tanısında, sülfonamidler, streptomisin gibi ilaçların oluşturduğu renal irritasyonda, akut glomerulonefrit, piyelonefrit olgularında, anafilaktik şoktan sonra, kalp ameliyatlarından sonra anoksinin değerlendirilmesinde bir indeks olarak, ürogenital tümörlerde malin tümörlerin radyasyon tedavileri esnasında ve rekürrensünün izlenmesinde sıklıkla çalışılmıştır ve fibrinolitik aktivitenin bir belirteci olarak kullanılmıştır (2).

Trehalaz (E.C 3.2.1.28)

Trehalaz, trehaloz (-D glukopiranozil- -D-glukopiranozid)'ü iki glukoza hidroliz eden sadece ince barsak ve renal proksimal tübülüslerin brush-borderlerinde lokalize olmuş bir enzimdir. Glukoz taşınımında önemli bir rol oynadığına inanılmasına rağmen enzimin böbrekteki fizyolojik rolü hala bilinmemektedir (55). Civa klorür toksisitesinde ve kadmiyumla kirlenmiş bir bölgenin halkında artmış idrar trehalaz aktivitesi rapor edilmiştir (56). Sasai-Tekedatsu ve ark. yeni doğanlarda renal proksimal tubuler hasarın faydalı bir belirteci olarak idrar trehalaz aktivitesini önermişlerdir (57). Bir başka çalışmada nefrotik sendrom, kronik glomerulonefrit ve akut renal yetmezlikli hastalarda artmış idrar trehalaz aktivitesi gösterilmiştir (58). Chavan ve arkadaşları da nefrotik sendromlu hastalarda tübüler harabiyetin belirteçleri olarak idrar lizozim ve trehalaz aktivitelerinin kullanılabileceğini önermişlerdir (59).

Laktat Dehidrogenaz (E.C 1.1.1.27, LDH)

L-laktatın pirüvata oksidasyonunu reversibl bir reaksiyonla katalize eden sitozolik bir enzimdir. Nefronun tüm bölümlerine yayılmış olarak bulunan bu enzim deneysel nefropatiler için de en hassas enzim olarak kabul

edilir ve diğer enzimlerin yanında karşılaştırılmak amacı ile en çok çalışılmış enzimdir (60). Tübüler nekroz, idrar yolu enfeksiyonları, renal infarkt, hipertonic renal hasar, akut piyelonefrit, kistik böbrek, akut glomerulonefrit, renal lupus eirtematoz gibi bir çok renal ve ürogenital hastalıkta, salisilat zehirlenmesinde, miyokard infarktüsünde, mesane, ürogenital sistem kanserlerinde, diabetik nefropatide artmış aktiviteleri uzun yıllar incelenmiştir (2).

Glutasyon S-transferazlar (E.C 2.5. 1. 18, GST's)

GST'ler elektrofilik bileşiklerin glutasyon ile konjugasyonunu katalize eden detoksifiye edici izoenzimlerdir (61). GST'ler adrenal bez, karaciğer, böbrek, ince barsaklar, testis ve overler dahil tüm organlarda bulunurlar. İnsan GST izoenzimleri α ve μ şeklinde 3 temel sınıfa ayrılır. İnsan böbreği yüksek oranda α ve μ formlarını içerir. GST- α yalnızca proksimal tübüler hücrelerde (62), GST- μ ise distal tübüller ve toplayıcı kanallarda (63) bulunur. Normal idrarda klasik yöntemlerle GST'ler tesbit edilemediğinden, bu hücrelerin harabiyetine bağlı aktivite tesbiti önemli bir bulgudur (63,64). GST- α ve GST- μ ilaçlar, kimyasallar ve bazı anestezi ajanları tarafından oluşturulan nefrotoksitenin, akut transplant reddinin erken belirteçleri olarak önerilmişlerdir (65). Ayrıca infrarenal aortik anevrizmanın tedavisinden sonra idrar GST/ kreatinin oranının duyarlı erken biyomarker olduğu bildirilmiştir (66). Bir başka çalışmada da preterm yeni doğanlarda idrarda artmış GST- α aktiviteleri gösterilmiştir (67).

GST- α ve GST- μ idrarda yüksek oranda stabildir ve antijenik özellikleri vardır bu yüzden idrarda kolaylıkla ve güvenli olarak tesbit edilebilir. Son geliştirilen ELISA metodu 0.1 ng/ml sınırını tesbit edebilmektedir ve uzun süre depolanmış örnekler için de güvenilirlerdir.

Matriks Metalloproteinazlar (MMPs, E.C 3. 4. 24. 35, MMP-9)

Ekstrasellüler matriks (ECM) ile bazal membrane komplekslerini parçalama yeteneğine

sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim ailesidir (68). Bu enzimler doku yeniden yapılanması, morfogenez, yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreçleri gibi fizyolojik durumlarda önemli rol oynadıkları gibi tümör hücresi invazyonu, anjiyogenez, metastaz, diabetic komplikasyonlar gibi patolojik süreçlerde de yer alırlar. MMP-9 ailesinin en çok çalışılan üyeleri jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9) dur. Harnemaaijer ve ark. idrar MMP-9 ölçümünün çeşitli kanserler için uygun tanısal bir araç olabileceğini bildirdiler (69). Sier ve ark. da mesane kanserlerinde idrar MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerinin birbirleriyle önemli düzeyde korele olduğunu ve bu hastaların izlenmesinde faydalı erken belirteçler olabileceklerini önerdiler (70). Durkan ve ark. idrar MMP-9 düzeylerinin mesane kanserli hastalarda yükseldiğini ve düşük MMP-9/TIMP-1 oranının tümör rekürrensini belirteceğini gösterdiler (71).

Amilaz (E.C 3.2.1.1)

Amilaz, esas olarak tükrük bezi ve pankreastan üretilir. Her iki izoenziminde molekül ağırlıkları benzerdir fakat plazmadaki net yükleri farklıdır. Tükrük amilazı pankreatik amilazdan (pI 7.0) daha anyoniktir (pI 5.9-6.4). GBM'da normalde bulunan negatif yükün kaybından dolayı çeşitli nefropatilerde ve diyabetiklerde izoenzimlerin idrara ekskresyon oranları değişmektedir (72,73).

ENZİMÜRİ VE MİKROPROTEİNÜRİ'NİN KLİNİK KULLANIMLARI

Akut Tübüler nekroz (ATN)

Klinik ATN'de hasarın lokalizasyonu tam kesin değildir, ama toksik ATN'de proksimal tübüllerin hasarı belirgindir. Proksimal tübülüslerden ekskrete edilen bütün idrar enzimleri hasarın erken belirteçleri olarak ATN'ye bağlı akut böbrek yetmezliğini (ARF) prerenal veya postrenal ARF'den veya glomerüler hastalıklara bağlı ARF'den ayırt etmede kullanılmıştır (74).

ATN, özellikle renal replasman tedavisi (RRT) gerektiren hastalarda yüksek ölüm oranına sahiptir. Harget-Rosenthal ve ark. nonoligürik ATN'li hastalarda α_1 ve α_2 mikroglobulin, Cys C, RBP, GST- γ , GGT, LDH ve NAG'ın idrar ekskresyonunu ölçtüler. Sistatin C ve α_1 mikroglobulinin, idrara ekskresyonlarının ve üretimlerinin nonrenal faktörlerden etkilenmediğini ve idrarda daha yavaş yıkıldıkları için diğerlerine göre ATN'in klinik seyri için erken belirteçleri olabileceklerini ayrıca ATN'de RRT'in gerekliliğini belirlemede tübüler proteinürinin enzimüriden daha üstün olduğunu bildirdiler (75). Bir diğer çalışmada, yoğun bakım ünitesine gelen ARF gelişme riski olan bir grup hastanın idrarlarında GGT, AP, NAG, GST ve enzim aktiviteleri çalışılmış GGT ve AP'nin ölçümleri en basit enzimler olduğu ve NAG ve GST ve kadar güvenilir oldukları bildirilmiştir (23).

Han ve ark. ATN'li hastalarda tübüler hasarın yeni bir biyokimyasal belirteci olarak böbrek hasar molekül-1 (kidney injury molecule-1)'i tanımlamışlardır. Böbrek hasar molekül-1, immunoglobulin ve musin içerikli bir tip I transmembran proteindir. Bu protein monoklonal antikor kullanılarak ölçülmüş ve ARF'nin diğer formları veya kronik renal yetmezlikli hastalara göre iskemik ATN'li hastalarda önemli oranda yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada böbrek-hasar molekül-1'in idrar ekskresyonunun GGT ve AP gibi belirteçlerden daha duyarlı ve güvenilir olduğu da belirtilmiştir (76).

Diabetik nefropati (DN)

Renal hasar diabetin ciddi bir komplikasyonudur. Diabetes mellituslu (DM) hastalarda mikroalbuminürinin belirlenmesinin erken evrede glomerüler hasarın varlığını gösterdiği iyi bilinmektedir. Son çalışmalarla, idrarda renal tübüler enzimlerin ve proteinlerin belirlenmesi ile diabetin renal komplikasyonlarına tübüler komponentlerin de eşlik ettiği gösterilmiştir (77)

NAG'ın DN'nin erken tanısında iyi bir belirteç olduğu bir çok araştırmacı tarafından destek

lenmiştir (78). Jung ve ark. tip 1 DM'li hastalarda artmış enzim aktivitelerini, ve bu aktivite artışlarının kötü glisemik kontrol ve hastalığın süresi ile ilişkili olduğunu gözlediler (13). Hong ve ark. bir çalışmada, α_1 -mikroglobulin'in diabetin süresi, ciddiyeti ve kontrolü ile ilişkili olduğunu ve albuminüriye ilaveten ölçülmesinin DN'in erken tanısında yararlı olacağını bildirdiler (79). Aynı yazarlar, diğer çalışmalarında da tip 2 DM'li hastalarda idrar NAG, albumin ve RBP ekskresyonunun hem makro hemde mikrovasküler komplikasyonların bağımsız belirteçleri olduğunu bildirdiler (80). Ishii ve ark. hiperglisemik ratlarda NAG ve GGT aktivitelerinin yüksek olduğunu intrasellüler sorbitol birikiminin proksimal tübüler hücrelerin fonksiyonlarının bozulmasına ve anormal enzimüriye yol açabileceğini bildirdiler (81).

Bedir ve ark. tip 2 diabetik hastalarda tükürük amilazının pankreatik amilaza oranının (S/P) glomerüler tutulumun erken belirteci olduğunu, mikoalbuminüri ile birlikte izlenmesinin nefropatinin daha hassas belirteci olabileceğini bildirdiler (82). Aynı yazarlar bir başka çalışmada LAP/Cr ve S/P oranlarının normoalbuminürik diyabetiklerde birlikte değerlendirilmesinin erken tanıdaki önemini vurguladılar (83). DM'li hastalarda artmış idrar NAG, AP, LDH aktivitelerinin birbirleri ve serum Cys C ile ilişkili olduğunu gösterdiğimiz çalışmamızda bu parametrelerin tarama testleri olarak DN'nin erken döneminde önemli olabileceğini vurguladık (21). Son yıllarda tip 2 DN'li hastalarda idrar MMP-9 ve tip IV kollojen ölçümünün hastalardaki renal hasarın derecesini değerlendirmede faydalı olacağı bildirilmiştir (84).

Çevresel ajanlar ve ağır metallere sekonder nefrotoksisite

Enzimüri ve proteinüri, özellikle mesleki olarak bazı metallere (kurşun, civa, arsenik, krom, uranyum, silisyum, berilyum) ve solventlere (karbontetraklorür, perkloroetilen, trikloroetilen) maruz kalan kişilerdeki çalış-

malar ile toksikologlar için ilgi odağı olmuştur (4). Kadmiyum kurşun gibi bir dizi ağır metalin böbrek hastalığı ile ilişkili olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu toksinlere maruz kalma sonucunda hem glomerulonefrit hemde tübülointerstisyel hasar ortaya çıkar; her ikisinde araştırılması için GFR, tübüler ve glomerüler proteinürinin biyokimyasal olarak izlenmesi gereklidir.

Birkaç tübüler enzim ve proteinin birlikte ölçümü tübüler hasarın farklı bölgelerinin erken belirlenmesine izin verir ve artmış NAG, intestinal AP ve α_1 -MG'in birlikte değerlendirilmesi ile özellikle kurşun, kadmiyum ve civanın oluşturduğu tübüler hasarın erken evrede belirlenmesinde faydalıdır (85). Mesleki olarak kurşuna maruz kalmada NAG (86), civaya maruz kalmada LAP, NAG ve THP (56,88) ve kadmiyum'a maruz kalma durumlarında α_2 -MG, RBP, α_1 -MG ve Clara cell protein (87,88) gibi enzim ve proteinlerin izlenmesi önerilmiştir. Şişman ve ark. kadmiyuma maruz kalan işçilerde GGT, AP, LDH ve NAG aktivitelerinin arttığını gözlemlediler (24). Sivaprasad ve ark. kurşuna maruz bırakılan ratların idrarlarında AP, ACP, GGT ve -GU aktivitelerindeki artışın lipoik asit ve dimerkaptosüksinik asit kombinasyonu ile tedavisi sonucu düştüğünü bildirdiler (89). 50 mg/kg gentamisin ratlarda idrar AP, LDH, NG ve murominidaz aktivitelerinde artışa neden olduğunu bildiren araştırmacılar özellikle NAG ve LDH'ı renal hasarın rutin taramaları için önermişlerdir (90). Önceki çalışmamızda farklı doz gentamisin uygulanarak akut böbrek harabiyeti oluşturulan ratların idrarlarında GGT, AP, LDH ve GST aktivitelerinin arttığını belirledik (91).

Böbrek transplantasyonu

İdrar enzim ve proteinleri, böbrek transplantasyonundan sonra renal fonksiyonu ve immunolojik durumu kontrol etmek içinde sıklıkla çalışılmıştır. AAP, GGT, LAP, ADBP, NAG, GST ve lizozim greft reddinden dolayı tübüler hücre hasarının erken non-invaziv belirteçleri olarak kullanılabilir (1). Enzimüri,

renal allograft hastalarda siklosporin (CsA) nefrotoksitesini akut tübüler nekroz ve akut reddetme (AR) reaksiyonlarından da ayırt etmede basit güvenilir yöntemdir (92). Hem alfa hemde pi GST, AR'yi tanımlamak ve AR'yi infeksiyonlardan ve CsA nefrotoksitesinden ayırmak için geniş olarak kullanılmıştır. GST- , AR'de artarken CsA toksisiteli hastalarda sağlıklı kişilerden farksızdır GST- ise CsA toksitesini için spesifiktir, infeksiyonlarda ise her ikisi de artmaz (93). Transplantasyon sonrası takipte AR reaksiyonlarından bir kaç gün önce bile idrar α -MG'in yüksek konsantrasyonları bulunmuştur, ancak idrar β -MG α -MG'e göre daha avantajlıdır. Artmış β -MG ekskresyonu CsA nefrotoksitesini ile de ilişkilendirilmiştir (93).

Enzimüri ve proteinürinin geleceği

Son yıllarda oksidatif stress belirteçlerinden sitokinlere, ekstrasellüler matriks enzimlerinden büyüme faktörlerine ve immünglobulinlere kadar geniş bir yelpazedeki molekülün idrarda incelenmesi ile elde edilen sonuçlar dikkat çekicidir. Proteom analizleri ise bu konuya geniş bir bakış açısı sunmayı hızlı bir şekilde sürdürmektedir. Bu bilgiler ışığında;

Biyokimyanın çok yakın bir gelecekte, proteom analizlerinin yaygınlaşması ile klinisyeni erken tanıya götürecek çok farklı enzim ve proteinleri sunmaya başlayacağını ümit edebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Turecky L, Uhlikova. Diagnostic significance of urinary enzymes in nephrology. Bratisl Lek Listy 2003; 104 (1): 27-31.
2. Raab WP. Diagnostic value of urinary enzyme determinations. Clin Chem 1972; 18(1): 5-25.
3. D'Amico G, Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. Curr Opin Nephrol Hypertens 2003; 12: 639-643.
4. Weeden RP, Udasin I, Fiedler N, D'Haese P, Debroe ME, Gelpi E, Jones K. Patterns of tubular proteinuria from metals and solvents. Biomarkers: Medical and Workplace Applications. 1998. pp 311-321. Washington, D.C.: Joseph Henry Press.

5. Flynn FV. Assessment of renal function: Selected developments. Clin Biochem 1990, 23: 49-53.
6. Plummer DT, Noorazar S, Obatomi DK, Haslam JD. Assessment of renal injury by urinary enzymes. Uremia Invest 1986; 9(2):97-102
7. Taşman S, Bilaloğlu E. İdrar enzimlerinin klinik değerlendirilmesi. Doktor 1994; 2/3: 185-192.
8. Newman D, Price C. Renal fonksiyon. Klinik biyokimya temel ilkeler. Ed. Diler Aslan Palme yayıncılık, Ankara, 2005: 698-771.
9. D'Amico G, Bazzi C. Pathophysiology of proteinuria. Kidney Int 2003; 63: 809-925.
10. Lamb E, Newman DJ, Price CP. Kidney function tests. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed Elsevier Inc. USA. 2005. pp 797-835.
11. Werner M, Maruhn D, Atoba M. Use of gel filtration in the assay of urinary enzymes. J Chromatog 1969; 40: 254-263.
12. Jung K, Pergande M, Schimke E, Ratmann KP, Illius A. Urinary enzymes and low-molecular-mass proteins as indicators of diabetic nephropathy. Clin Chem 1988; 34(3): 544-547.
13. Jung K, Schulze G. Diuresis-dependent excretion of multiple forms of renal brush-border enzymes in urine. Clin Chimica Acta 1986; 156: 77-84.
14. Pujia M, Newman D, Lott JA, Mello LD, Clark L, Proffitt JA, Cast T. Detection of low-molecular-weight proteins in urine by dipsticks. Clin Chim Acta 2002; 326: 177-183.
15. Giuseppe D'Amico, Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. Curr Opin Nephrol Hypertens 2003; 12: 639-643.
16. Jaskot RH, Charlet EG, Grose EC. An automated analysis of glutathione peroxidase, S-transferase and reductase activity in animal tissue. J Anal Toxicol 1983; 7: 86-88
17. Brunette MG, Chan M, Lebrun M. A microfluorometric method for alkaline phosphatase: application to the various segments of the nephron. Ana Biochem 1981; 115: 236-242.
18. Xu G, Zhu L, Hong J, Cao Y, Xia T. rapid colorimetric assay of urinary beta-galactosidase and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase with Cobas Mire Auto analyzer. J Clin Lab Anal 1999; 13(3): 95-98.
19. Mandic LM, Acimovic JM, Jovanovic VB. The possibility of determining N-acetyl -D-glucosaminidase isoenzymes under alkaline conditions. Clin Biochem 2005; 38: 384-389.
20. Severini G, Aliberti LM. Diagnostic significance of urinary enzymes: development of a high performance liquid chromatographic method for the measurement of urinary lysozyme. Clin Chimica Acta 1987; 163: 97-103.

21. Uslu S, Efe B, Alataş Ö, Kebapçı N, Çolak Ö, Demirüstü C, Yörük A. Serum cystatin C and urinary enzymes as screening markers of renal dysfunction in diabetic. *J Nephrol* 2005; 18(5): 559-67.
22. Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM, Saltissi D, Morgan TJ. Measurements of tubular enzyuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Neph Dial Transplant* 2003; 18: 543-551.
23. Şişman AR, Bülbül M, Çoker C, Önvural B. Cadmium exposure in tobacco workers possible renal effect. *J Trace Elem Med Biol* 2003; 17(1): 51-55.
24. Jung K. Enzyme activities in urine. How should we express their excretion? A critical literature review. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1991; 29: 725-729.
25. Jung K. Urinary enzymes and low molecular weight proteins as markers of tubular dysfunction. *Kidney Int Suppl* 1994; 47: S29-33.
26. Janson AM. Amino acids, peptide, and proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed. Elsevier Inc. USA 2005. pp 797-835.
27. Magid E, Guldager H, Hesse D, Christian MS. Monitoring urinary orosomucoid in acute inflammation: observations on urinary excretion of orosomucoid, albumin, alpha-1-microglobulin, and IgG. *Clin Chem* 2005; 51(11): 2052-2058.
28. Lisowska-Myjak B, Pachecka J, Witak P, Radowski S. Comparison of urinary excretion of albumin and alpha-1-antitrypsin in patients with arterial hypertension. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 93-97.
29. Penders J, Delanghe JR. Alpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications. *Clin Chimica Acta* 2004; 346: 107-118.
30. Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biologic fluids. *Clin Nephrol* 1992; 38: 20-7.
31. Yu H, Yanagisawa Y, Forbes MA, Cooper EH, Crockson RA. Alpha-1-microglobulin: an indicator protein for renal tubular function. *J Clin Pathol* 1983; 253-259.
32. Davey PG, Gosling P. α_2 -Mikroglobulin in pathological urine. *Clin Chem* 1982; 28: 1330-1333.
33. Lapsley M, Sansom PA, Markow CT, Flynn FV, Norden AGW. α_2 -glycoprotein-1 (apolipoprotein H) excretion in chronic renal tubular disorders: comparison with other protein markers of tubular malfunction. *J Clin Pathol* 1991; 44: 812-816.
34. Norden AGW, Fulcher LM, Lapsley M, Flynn FV. Excretion of α_2 -glycoprotein-1 (apolipoprotein H) in renal tubular disease. *Clin Chem* 1991; 37: 74-77.
35. Bernard AM, Thielemans NO, Lauwerys RR. Urinary protein 1 or Clara cell protein: A new sensitive marker of proximal tubular dysfunction. *Kidney Int* 1994; Suppl 47: 34-37.
36. Ayates JO, Wright JW. The use of urine protein 1 as an indicator of renal tubular function type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Acta Med Hung* 1994; 50: 99-107.
37. Randers E, Erlandsen EJ. Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37(4): 389-395.
38. Tian S, Kusano E, Ohara T, Tabel K, Itoh Y, Kawai T, Asano Y. Cystatin C measurement and its practical use in patients with various renal diseases. *Clin Nephrol* 1997; 48(2): 104-108.
39. Mojiminiyi OA, Abdella N. Evaluation of cystatin C and α_2 -microglobulin as markers of renal function in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diab and Comp* 2003; 17: 160-168.
40. Uchida K, Gotoh A. Measurement of cystatin C and creatinine in urine. *Clinica Chimica Acta* 2002; 323: 121-128.
41. Aileo LP, Wrong JS. Role of Vascular Endothelial Growth Factor in diabetic vascular complications. *Kidney Int* 2000; 58: 113-119.
42. Lenz T, Haak T, Malek J, Groner HJ, Geiper H, Gossmann J. Vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. *Kidney Blood Press Res* 2003; 26(5-6): 338-43.
43. Kim HN, Kim KB, Kim DL, Kim SG, Choi KM, Baik SH, Choi DS, Kang YS, Han SY, Han KH, Ji YH, Cha DR. Plasma and urinary vascular endothelial factor and diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 2004; 21(6): 545-551.
44. Cha DR, Kang YS, Han SY, Jee YH, Han KY, Han JY, Kim YS, Kim NH. Vascular endothelial growth factor is increased during early stage of diabetic nephropathy in type 2 diabetic rats. *J Endocrinology* 2004; 183: 183-194.
45. Furuhashi N, Shiba K, Naro N. N-acetyl-D-glucosaminidase, *Nippon Rinsho* 1995; 53(5): 1267-1276.
46. Noyan T, Şekeroğlu R, Dülger H. N-asetil-D-glukozaminidaz ve böbrek hastalıklarında kullanımı. *Van Tıp Dergisi* 2000; 7(2): 80-82.
47. Price RG. Measurement of N-acetyl-D-glucosaminidase and its isoenzymes in urine: method and clinical applications. *Eur J Clin Biochem* 1992; 30: 693-705.
48. Skalova S. The diagnostic role of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) activity in the detection of renal tubular impairment. *Acta Medica* 2005; 48(2): 75-80.
49. Erdener D, Aksu K, Biçer I, Doğanavsargil E, Kutay FZ. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) in lupus nephritis and rheumatoid arthritis. *J Clin Lab Anal* 2005; 19(4): 172-176.

50. Tekin N, Kural N, Uslu S. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase excretion in patients with unilateral renal agenesis or nephrectomy in childhood. *Turk J Pediatr* 1996; 38(4): 485-90.
51. Akin MZ, Tunçer N, Gürer F, Kural N, Uslu S. Effect of vasoactive intestinal peptide and naloxone combination on urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase level and kidney histology of rats exposed to severe hemorrhage. *Pharmacology* 1993; 47(3): 194-9.
52. Kural N, Kusku M, Ak İ, Erol K, Uslu S, Açar N. Comparison of spect-DMSA finding with functional urinary parameters, endothelin-1,2 levels in children with acute pyelonephritis. *Nephrol Dial Transplant Supp.* 2000; 15(9): A96
53. Perez-Blanco FJ, Munoz-Casaubon T, Miras-Parra F, Perez-Chica G, Rodriguez-Cuarte A. Urinary activity of β -glucuronidase and excretion of glycosaminoglycans in diagnosis of diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 2000; 53(2): 156-158.
54. Handerson AR, Moss DW. Enzimler. *Klinik Biyokimya'da Temel İlkeler*. Ed. Diler Aslan. Palme yayıncılık, Ankara, 2005: 352-389.
55. Sactor B. Trehalase and the transport of glucose in the mammalian kidney and intestine. *Proc Natl Acad Sci* 60: 1007-1014.
56. Nakano M, Itoh G. Elevation of urinary trehalase in mercuric chloride-induced nephrotic rabbits: Urinary trehalase as a specific indicator of renal brush border damage. *Chem Biol Intelect* 1983; 45: 179-189.
57. Sasai-Tekedatsu M, Kojima T, Taketani S, Ona A, Kitamura N, Kobayashi Y. Urinary trehalase activity is a useful marker of renal proximal tubular damage in newborn infants. *Nephron* 1996; 70(4): 443-448.
58. Niwa T, Katsuzaki T, Tatemichi N, Emoto Y, Miyazaki T, Meyazaki T, Maeda K. Urinary trehalase activity in chronic glomerulonephritis. *Nephron* 1993; 63 (4): 423-428.
59. Chavan S, hase N, Chavan P. Urinary enzymes in nephrotic syndrome. *Indian J Clin Biochem* 2005; 20(2): 126-130.
60. Bomhard E, Maruhn D, Vogel O, Mager H. Determination of urinary glutathione S-transferase and lactate dehydrogenase for differentiation between proximal and distal nephron damage. *Arch Toxicol* 1990; 64: 269-278
61. Hayes JD, Strange RC. Potential contribution of the glutathione S-transferase supergene family to resistance to oxidative stress. *Free Rad Res Commun* 1995; 22: 193-207.
62. Sundberg AGM, Appelkuist EL, Backman L, Dallner G. Urinary p class glutathione transferase-pi as an indicator of tubular damage in the human kidney. *Nephron* 1994; 67: 308-316.
63. Bruning T, Sundberg AGM, Birner G. Glutathione alpha as a marker of tubular damage after trichloroethylene exposure. *Arch Toxicol* 1999; 73: 246-254.
64. Frifeld DA, fleischner GM, Arias IM. Urinary ligandin and glutathione-S-transferase in gentamicin-induced nephrotoxicity in the rat. *Clin Sci* 1981; 61: 123-125.
65. Sundberg AGM, Appelkuist EL, Backman L, Dallner G. Q uantitation of glutathione transferase pi in the urine by radioimmunoassay. *Nephron* 1999; 66: 162-169.
66. Cressey G, Roberts D, Snowden CP. Renal tubular injury after infrarenal aortic aneurysm repair. *J Car Vas Anesth* 2002; 16(3): 290-293.
67. Tsukahara H, Toyo-Oka M, Kanaya Y, Ogura K, Kawatani M, Hata A, Hiraoka M, Mayumi M. Quantitation of glutathione S transferase- in the urine of preterm neonates. *Ped Int* 2005; 47: 528-531.
68. Stetler WG. Matrix metalloproteinases in angiogenesis; a moving target for therapeutic intervention. *J Clin Invest* 1999; 103: 1237-1241).
69. Harnemaaijer R, Sier CF, Visser H, Scholte L, van Lent N, Toet K, Hoekmann K. MMP-9 activity in urine patients with various tumors, as measured by a novel MMP activity assay using modified urokinase as a substrate. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 30: 141-149.
70. Sier CF, Casetta G, Verheijen JH, Tizzani A, Agape V, Kos J, Blasi F, Hanemaaijer R. Enhanced urinary gelatinase activities (Matrix metalloproteinases 2 and 9) are associated with early-stage bladder carcinoma: a comparison with clinically used tumor markers. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2333-2340.
71. Durkan GC, Nutt JE, Marsh C, Rajjayabun PH, Robinson MC, Neal DE, Junec J, Mellon JK. Alteration in urinary matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio predicts recurrence in nonmuscle-invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2576-2582.
72. Wetzels JFM, Hafkenscheid JCM, Hassels M, Hoitsma AJ, Koene RAP. Renal clearance of pancreatic and salivary amylase relative to creatinine clearance in patients with renal disease and proteinuria. *Clin Chem* 1988; 34:589-579.
73. Piccoli A, Zaninotto M, Mussap M. Pankreatic to salivary amylase clearance in assessing glomerular charge selectivity. *Prog Med Lab* 1990; 4: 452-462.
74. Chew SL, Lins RL, Daelmans R, Nuyts GD, De Broe ME. Urinary enzymes in avute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8: 507-511.
75. Harget-Rosenthal S, Poppen D, Hüsing J, Marggral G, Pietruck F, Jacop H-P, Philipp T, Kribben A. Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. *Clin Chem* 2004; 50(3): 552-558.

76. Han WK, Bailly V, Abichandani R ve ark. kidney injury molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 2002; 62: 237-244.
77. Hong CY, Chia KS. Markers of diabetic nephropathy. *J Diab Comp* 1998; 12: 43-60.
78. Mocan Z, Erem C, Yıldırım M, Telatar M, Değer O. Urinary beta-2-microglobulin levels and urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase enzyme activities in early diagnosis of non-insulin-dependent diabetes mellitus nephropathy. *Diab Res* 1994; 26(3): 101-107.
79. Hong C-Y, Hughes K, Chia K-S. Urinary β_2 -microglobulin as a marker of nephropathy in type 2 diabetic asian subjects in Singapore. *Diabetes Care* 2003; 26: 338-342.
80. Hong CY, Chia KS, ling SL. Urinary protein excretion in type 2 diabetes with complications. *J Diab Comp* 2000; 14: 259-265.
81. Ishii N, Ikenaga H, Ogawa Z, Aoki Y, Satura T, Suga T. Effects of renal sorbitol accumulation on urinary excretion of enzymes in hyperglycaemic rats. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 391-398.
82. Bedir A, Adam B,. Urinary amylase isoenzymes and glycosaminoglycans excretion in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Türkiye Tıp Dergisi* 1996; 1(3): 25-31.
83. Bedir A, Özener İ, Adam B, Emerk K. Utility glomerular and tubular markers in establishing early renal involvement in type II diabetes mellitus. *Clin Chem* 1996; 29(4): 385-388.
84. Tashiro K, Kovanagi I, Ohara I, Ito T, Saitoh A, Horikoshi S, Tomino Y. Levels of urinary matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and renal injuries in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Clin Lab Anal* 2004; 18(3): 206-210.
85. Weeden RP. Nephrotoxicity secondary to environmental agents and heavy metals. In: Achier RW, editor. *Diseases of the kidney and urinary tract*. 2001 pp 1255-1271. Lippincott. Williams an Wilkins, Philadelphia.
86. Chia KSA, Mutti C, Tan H, Ong HY, Lee E. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in workers exposed to inorganic lead. *Occup Environ Med* 1994; 51: 125-129.
87. Bernard A. Renal function induced by cadmium: biomarkers of critical effects. *BioMetals* 2004; 17: 519-523.
88. Ikada M, Ezaki T, tsukahara T. threshold levels of urinary cadmium in relation to increases in urinary β_2 -microglobulin among general Japanese populations. *Toxicol Lett* 2003; 137: 135-141.
89. Sivaprasad TR, Malarkodi SP, Varalakshmi. Therapeutic efficacy of lipoic acid in combination with dimercaptosuccinic acid against lead-induced renal tubular defects and on isolated brush-border enzyme activities. *Chem Biol Interact* 2004; 147: 259-271.
90. Obatami DK, Plummer DT, Haslam JD. Enzymuria as an index of nephrotoxicity over long-term exposure of rats to gentamicin. *Nephrotoxicity* 1991; 86: 555-561.
91. Uslu S. deneysel böbrek yetmezliğinde enzim aktivitesinin önemi. Doktora tezi. Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 1993.
92. Mukhopdhyay B, Chinvhole S, Lobo V, Gang S, Rajapurkar M. Enzymuria pattern in early post renal transplant period: diagnostic usefulness in graft dysfunction. In *J Clin Biochem* 2004; 19(2): 14-19.
93. Teppo A-M. Excretion of urinary proteins as predictors of early posttransplantation complications and late renal allograft failure. 1st ed Helsinki 2005 pp 16-18.

Yazışma adresi:

Dr. Sema Uslu
Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı 26480, Eskişehir
e-mail:suslu@ogu.edu.tr
Tel : 0.222 2392979
Faks: 0.222 229 21 26
