

Üriner Biyobelirteçler

Urinary Biomarkers: Review

Serkan İrfan KÖSE,^a
 Mehmet MADEN^b

^aKonya Büyükşehir Belediyesi,
 Geçici Hayvan Bakımevi,
^bİç Hastalıkları AD,
 Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
 Konya

Geliş Tarihi/Received: 08.04.2013
 Kabul Tarihi/Accepted: 21.01.2014

Yazışma Adresi/Correspondence:
 Serkan İrfan KÖSE
 Mustafa Kemal Üniversitesi
 Veteriner Fakültesi,
 İç Hastalıkları AD, Hatay,
 TÜRKİYE/TURKEY
 srknirfn@gmail.com

ÖZET Kanda, vücut sıvılarında veya dokularda bulunan, normal/anormal bir durumun veya hastalığın göstergesi ve biyolojik bir molekül olan biyobelirteçlerin; rutin analizleri, belirli dokularda/vücut sıvılarında yapılabilmektedir. İdrar üriner sistem epitelyumu ile temasta olması bakımından böbrek, idrar kesesi, prostat gibi organlara ait patolojik bozuklukların veya fonksiyonlarının biyobelirteçlerini bünyesinde barındırmaktadır. İdrardaki proteinler ve enzimler, en sık kullanılan biyobelirteçleri oluşturmaktadır. İdrardaki proteinleri, idrarda çözünen proteinler ve solid faz bileşiklerin protein elemanları oluşturmaktadır. İdrardaki çözünmüş proteinler, büyük oranda glomerüler filtrasyondan sağlanır. Solid faz bileşikler ise düşük santrifüj hızında elde edilebilen kastlar ve dökülmüş epitelyal hücrelerin oluşturduğu sedimentlerde bulunurlar. Üriner proteinlerin atılım oranındaki değişiklikler, sistemik, glomerüler ve/veya tübüler hasarı gösterebilir. Sistemik ve metabolik hastalıklar, idrarın enzimatik aktivitesini etkileyen belirli organların hastalıkları veya üriner sistem hastalıklarında idrar enzimlerinde, azalma ya da çoğalma veya normalde bulunmayan enzimin görülmesi gibi değişiklikler olabilir. N-Asetil-β-D-glukozaminidaz (NAG), γ-Glutamil transferaz (GGT), β-glukozidaz üriner enzimlere örnek olarak gösterilebilir. Bu derlemede, üriner biyobelirteçlerle ilgili genel bilgi verilmektedir ve böbrek, idrar kesesi ve prostat bez gibi ilgili organlara ait hastalıklarda kullanılan çeşitli biyobelirteçlerden bahsedilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik belirteçler; majör üriner proteinleri; enzim bilimi

ABSTRACT Routine analysis of biomarkers, existing in blood, body fluids and tissue and being a biological molecule and indicator about normal or abnormal circumstances or disease can be performed in specific tissue and body fluid. Due to contact with urinary system epithelium, urine contains biomarkers, related with pathological disorders or functions of organs such as kidney, bladder and prostate. Proteins and enzymes in urine compose of most commonly used biomarkers. Proteins in urine are formed by soluble proteins in urine and protein components of solid phase compounds. Soluble proteins in urine are mostly provided from glomerular filtration. Solid-phase compounds are found in sediments consisting of castes can be obtained at the lowest centrifuge speed and spilled epithelial cells. Changes in the rate of excretion of urinary proteins can demonstrate systemic, glomerular or tubular damage. In systemic and metabolic diseases, disorders of specific organs affecting the enzymatic activity of urine or urinary tract diseases, changes such as growth or reduction also seen in urine normally absent can be in urinary enzyme. N-Acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG), γ-glutamyl transferase (GGT), β-glucosidase can demonstrate be examples for urinary enzymes. In this review, general information is given about urinary biomarkers and it is also mentioned about biomarkers used in specific diseases of related organs such as kidney, urinary bladder and prostate gland.

Key Words: Biological markers; major urinary proteins; enzymology

Türkiye Klinikleri J Vet Sci 2015;6(1):7-18

doi: 10.5336/vetsci.2013-34080

Copyright © 2015 by Türkiye Klinikleri

Kanda, vücut sıvılarında veya dokularda bulunan, normal/anormal bir durumun veya hastalığın göstergesi ve biyolojik bir molekül olan biyobelirteçlerin; rutin analizleri, belirli dokularda/vücut sıvılarında

yapılabilmektedir. Bu nedenle bu dokular/vücut sıvıları, bilinen ya da varsayılan hedef dokuları temsil eden örnekler olarak kabul edilmektedir. İdrar üriner sistem epitelyumu ile temasta olması bakımından böbrek, idrar kesesi, prostat gibi organlara ait patolojik bozuklukların veya bu organların fonksiyonlarının biyobelirteçlerini bünyesinde barındırmaktadır. İdrardaki proteinler ve enzimler, en sık kullanılan biyobelirteçlerdir.

ÜRİNER BİYOBELİRTEÇLER

ÜRİNER PROTEİNLER

İdrar proteinleri, idrarda çözünen proteinleri ve solid faz bileşiklerin protein elemanlarını içermektedir.¹ İdrarda çözünmüş proteinler, büyük oranda glomerüler filtrasyondan sağlanır. Glomerüler filtre etkin bir biçimde büyük moleküler ağırlıklı proteinlerin geçişini engeller. Ancak, kan plazmasında yoğun olarak bulunan düşük moleküler ağırlıklı proteinler (mikroalbuminler ve bazı globulinler) tübüler lümende fazla miktarda bulunduğu (aşırı yüklenmiş proteinuri) az oranda glomerüler filtrelerden geçebilir.^{2,3} Bunun dışında, peptidler ve küçük moleküler ağırlıklı proteinler (<10 kDa) glomeruluslardan kolayca geçebilir.^{2,4} Normal koşullarda, pratik olarak tüm düşük molekül ağırlıklı proteinler tamamen (yaklaşık olarak %99 oranında) geri emilir. Bu proteinler ancak renal tübüller tarafından glomerüler filtrata geri emilim azaldığında idrarda tespit edilebilirler.⁴ Bu nedenle, idrarda bulunan protein, çözünmüş proteinlerin miktarındaki, kan konsantrasyonundaki, glomerüler fonksiyondaki veya proksimal tübüllerdeki geri emilim sistemindeki değişikliklerin sonucu olabilir.^{2,4,5} Bu mekanizmaya dayanarak, spesifik üriner proteinlerin atılım oranındaki değişiklikler, sistemik, glomerüler, proksimal tübüllerini etkileyen hastalıkları ve glomerüler ve/veya tübüler hasarı gösterebilir.^{2,4,6}

İdrarda çözünmüş proteinler, proteolitik etkiyle membrandan ayrılan proteinlerden köken alır. Tamm-Horsfall (üromodulin) proteini, proksimal tübülün alt tarafı ve henle kulpunun yükselen kalın kolu tarafından salgılanan ve idrarda yoğun miktarda çözünmüş olarak bulunan bir proteindir.^{1,2}

Solid faz bileşikler, tipik olarak düşük santrifüj hızında elde edilebilen kastlar ve dökülmüş epitelyal hücrelerin oluşturduğu sedimentlerde bulunur. Bu kast veya hücrelerin sayılarındaki artış, renal hastalığın belirleyicisi olabilir ve hücrelerin ve kastların mikroskopik sınıflandırılması ile problemin lokalizasyonu için önemli bilgiler verebilir. Bunun dışında, hastalık biyobelirteçlerinin havuzunu ve üriner proteinlerin kaynağını oluşturan idrarda, başka solid faz bileşikleri de vardır. Bu bileşiklerin bazıları, apoptozis veya mikrovilluslardan üriner boşluğa salınan küçük membran parçalarıdır. Buna ek olarak idrarda, üriner sistemi kaplayan transisyonel epitel hücrelerinden, distal ve proksimal nefron segmentlerinin renal tübül hücrelerinden ve glomerüler podositleri içeren idrarla temasta olan tüm epitel hücre tiplerinden kaynaklanan çok sayıda eksozom bulunur.²

Eksozomların idrardaki varlığı, ilk olarak 2004 yılında belirlenmiştir.¹ Eksozomlar, multiveziküler yapıların içinde bulunan küçük (<80-nm) veziküler yapılardır. Bir başka ifadeyle, eksozomlar; üriner boşluğun içinde bulunan ve ekstraselüler sıvı içerisine hücreler tarafından sekrete edilen, çok küçük membranöz veziküllerdir ve idrardaki total proteinlerin %3'lük kısmını oluşturur.^{1,7}

ÜRİNER ENZİMLER

Sistemik ve metabolik hastalıklar, idrarın enzimatik aktivitesini etkileyen belirli organların hastalıkları veya üriner sistem 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.^{4,8}

İdrar enzim aktivitelerine çeşitli kaynaklar katkıda bulunur. İdrar enzimlerinin en büyük kısmı böbrek parankiminden kaynaklanır. Normal koşullarda, idrar enzim aktivitesinin çok azı glomerüler filtrasyon ile idrara geçen serum kaynaklı enzimlere aittir. Örneğin; amilaz ve lizozim gibi düşük moleküler ağırlıklı serum enzimlerinin atılımı böbrekler yolu ile olduğu için idrarda bulunabilir.^{4,8-10}

Köpeklerdeki nefrotoksisiteyi değerlendirmek amacıyla farklı idrar enzimlerinin kullanıldığı bildirilmektedir (Tablo 1). Fakat hâlen bu enzimlerden hangisinin kullanımda en iyi olduğu yönünde bir fikir birliği olmadığı, en yaygın olarak kullanılan enzimlerin γ -glutamil transferaz (GGT) ve N-asetil- β -D-glukozaminidaz (NAG) olduğu belirtilmektedir.¹¹ Bu iki enzim diğerlerine nazaran oda ısısı ve 4°C'de stabil olduğundan ölçümleri daha kolay ve güvenlidir.¹¹ Aynı zamanda alkalın fosfataz (ALP), lösin aminopeptidaz (LAP), asit fosfataz (ACP), alanin aminopeptidaz (AAP), laktat dehidrojenaz (LDH), β -glukuronidaz (β -GLU), β -galaktosidaz (β -GAL), lizozim (muramidaz) gibi enzimlerin de köpeklerde değerlendirilebileceği belirtilmektedir.^{5,11,12} Nefrotoksik böbrek hasarının erken belirlenmesinde tek bir enzimden ziyade birçok enzimin birlikte değerlendirilmesinin daha etkili olacağı vurgulanmaktadır.¹¹

NAG; proksimal tübülün epitelyal hücrelerinde birincil olarak bulunan lizozomal glikosidazdır.^{7,8,10,12-18} NAG, bazal membranda glikoprotein ve mukopolisakkarit metabolizmasına katılmaktadır.¹⁹ NAG'ın çoğu türde aktif proksimal tübül hasarının spesifik bir belirteci olduğu, akut ve kronik böbrek hastalıklarının erken tespitinde kullanılabilirliği ifade edilmektedir.^{7,14,17,18} Artan NAG aktivitesi tü-

büler hasarı düşündürse de aynı zamanda hücresel bir bozukluk olmaksızın, lizozomal aktivite artışını da düşündürmelidir.^{12,15} Ancak idrardaki GGT, ALP gibi daha spesifik noktalardan köken alan (fırçamsı kenar) enzimlerin miktarındaki artış, daha spesifik bir noktaya ait (proksimal tübülün fırçamsı kenar hücrelerindeki) hasarı gösterir ki, bu bağlamda bu enzimlerin hasar için daha etkin bir gösterge olduğu ifade edilmektedir.¹⁵

GGT; idrardaki GGT proksimal tübülün fırçamsı kenarından köken alır ve böbrekte glutasyon sentezi GGT tarafından dengelendiği için fırçamsı kenarın kaybı glutasyon sentezinde azalmaya yol açar.^{8,12,19} İdrardaki GGT böbreklerden ve üriner sistemden kaynaklanır. İdrarda artmış olan enzim aktivitesi akut ürorenal enfeksiyonlar ve renal hasara sebebiyet veren hastalıklarda gözlemlenir.^{4,10} Bu enzimin oranının idrardaki artışı proksimal tübül hasarının ve fonksiyon bozukluğunun da bir göstergesidir.^{6,8,12,15}

Sistatin C (Cys-C); düşük moleküler ağırlıklı (13 kDa) sistein proteinaz inhibitörüdür ve bütün çekirdekli hücreler tarafından üretilir.^{7,12,20-24} Pozitif yükü ve düşük moleküler ağırlığından dolayı glomerüler filtrasyondan rahatça geçer, proksimal tübülden geri emilir ve katabolize edilir fakat tübüller tarafından sekrete edilmez.^{7,12,20-25} Bu nedenle glomerüler filtrasyon oranı (GFR)'nin belirlenmesinde kullanılabilirliği belirtilmektedir.^{7,21-23,25-27} Normal olarak Cys-C idrarda çok düşük oranda bulunur ve konsantrasyon düzeyi 100 μ g/L'dir. Ancak böbrek hastalıklarında idrar konsantrasyonunun 200 kat arttığı bildirilmektedir.^{12,21,22}

Matriks metalloproteinaz (MMP); damarlaşma, ekstraselüler matriksin yenilenmesi ve bozulmasıyla ilişkili, kalsiyuma bağlı, çinko içeren proteolitik enzimdir. Normal fizyolojik koşullarda, MMP'nin bir çeşit hücre ve dokular tarafından açığa çıkartıldığı ve trofoblast invazyonu, gelişim, endometrial yenilenme, ovulasyon, anjiyogenezis, yara iyileşmesi ve kemik rezorpsiyonu gibi süreçlere de katıldığı vurgulanmaktadır.²⁸⁻³² Aynı zamanda MMP'lerin (MMP-2, 72 kDa, Jelatinaz A ve MMP-9, 92 kDa, Jelatinaz B) tümör büyümesi, me-

TABLO 1: Köpeklerde ölçülen üriner enzimler.¹¹

Enzim	Nefron Lokalizasyonu	Hücresel Lokalizasyonu
Alanin aminopeptidaz	Proksimal tübül	Sitozol, mikrozomlar
Alkalın fosfataz	Proksimal tübül	Fırçamsı kenar
Asit fosfataz	Proksimal tübül	Fırçamsı kenar
Aspartat aminotransferaz	Tüm nefron	Sitozol, mitokondri
Laktat dehidrojenaz	Tüm nefron	Sitozol
Lizozim (muramidaz)	Serumdan orjin alır ve proksimal tübülden geri emilir.	Sitozol
Lösin aminopeptidaz	Proksimal tübül	Fırçamsı kenar
N-Asetil- β -D-glukozaminidaz	Proksimal tübül, papilla	Lizozomlar
β -galaktosidaz	Proksimal tübül	Lizozomlar
β -glukuronidaz	Proksimal tübül	Lizozomlar
β -glukozidaz	Proksimal tübül	Lizozomlar
γ -glutamil transferaz	Proksimal tübül	Fırçamsı kenar

tastazı ve anjiyogenezisi, normal hücre apoptozisi, yangı, işemi ve nekroz gibi, patolojik süreçlerde de rol aldığı vurgulanmaktadır.^{28-31,33-36} Yapılan bir çalışmanın sonucuna göre, erken tübüler hasarla alakalı olabilecek kolikli atlarda, idrarda MMP-9 komplekslerinde, proMMP-9 ve MMP-9 aktivitesinde artış olduğu vurgulanmaktadır. Bu durumu erken tübüler hasarla ilişkilendirmelerinin sebebini ise, MMP'lerin moleküler ağırlıklarının normalde glomerüler bazal membrandan geçemeyecek kadar büyük olmasına bağlamaktadırlar.³⁶ Akut renal hasarın belirlenmesinde MMP-9'un biyobelirteç olarak kullanılabilmesi ifade edilmektedir.¹⁷ Son yıllarda, beşeri ve veteriner onkoloji alanında, hem prognostik belirteç olarak hem de tedavi yaklaşımları konusunda metalloproteinazlar üzerindeki ilginin arttığı ve bu yönde çalışmaların yapıldığı vurgulanmaktadır.³¹

BÖBREK HASTALIKLARINDA KULLANILAN BİYOBELİRTEÇLER

Böbrek fonksiyonundaki değişikliklerin belirlenmesine dayanan ve böbrek hastalığının erken teşhisi için potansiyel etkin stratejiler, hem idrar hem de kan testlerinin değerlendirilmesini içermektedir. İdrar testlerinin en büyük yararı böbreklerin idrarı konsantre etme yeteneğinin bozulması ve değişen glomerüler seçici geçirgenliğinin bir göstergesi olan proteinürinin belirlenmesidir. Kan testlerinin en büyük yararı ise, GFR'nin indirekt bir göstergesi (örneğin; plazma kreatinin konsantrasyonu) olmasıdır.^{7,37}

Böbreklerinde lezyonu olan köpek ve kedi-lerde, renal yetmezlik belirtileri, ancak böbrekte ciddi bir hasar (%70 renal hasar) geliştikten sonra ortaya çıkmaktadır. Örneğin; görünüşte sağlıklı olan, rastgele seçilmiş yetişkin ve yaşlı köpeklerde mikroskobik renal lezyonların (özellikle glomerüller değişiklikler) yaygınlığının %40-80 arasında olduğunu gösteren çeşitli çalışmaların bulunduğu, sağlıklı görülen köpeklerdeki renal lezyonların sınırlı (fokal), hafif veya odaksal büyüklükte olduğu bildirilmektedir.^{12,17,37,38} Renal hastalığın erken teşhisi, renal yetmezlik gelişmeden önlem alınmasını sağlar ve etkin tedavi uygulamalarının yapılabil-

mesine olanak verir. Bu bağlamda biyobelirteçler, renal hastalığın erken teşhisinde yararlı parametreler olarak değerlendirilir. Böylece ilerleyici nitelikteki renal hastalığı olan hayvanlarda, renal hastalığın erken belirlenmesi potansiyel olarak faydalıdır.^{6,37,39} Kedi ve köpeklerde, albüminüri ve proteinüri kronik böbrek hastalığının faydalı belirteçleridir.^{37,39-41} Ayrıca proteinürideki bir azalma, renoprotektif olarak tedavi verilmiş, proteinürik hayvanlarda tedavi etkinliğinin de bir belirteçidir. Bundan dolayı proteinüri ve/veya albüminürili kedi ve köpeklerin belirlenmesi, değerlendirilmesi ve yönetilmesi özel klinik ilgiyi gerektirir.³⁷

Mikroalbuminüri; 1-30-300 mg/dL arasında düşük miktardaki albuminin idrarla atılımını ifade etmektedir ve hayvanlarda böbrek hastalıklarının erken belirlenmesine yardımcı olan önemli bir klinik bulgudur.⁴⁰⁻⁴⁷ Kalıcı mikroalbuminüri önemli bir klinik bulgudur. Genellikle glomerüler filtrasyonun etkilendiği durumlarda [kronik renal yetmezlik (KRY), endotelial disfonksiyon] kalıcı mikroalbuminüri görüldüğü ifade edilmektedir. Bu nedenle kedi ve köpeklerde kalıcı mikroalbuminürinin KRY ya da endotelial disfonksiyonun belirteci olabileceği bildirilmektedir. Sistemik hipertansiyonlu veya şüpheli hayvanların ve kedi veya köpekte kalıtsal nefropatinin erken zamanda belirlenebilmesinde mikroalbuminürinin biyobelirteç olarak kullanılabilmesi ifade edilmektedir.^{40,44,45} İnsanlarla kıyaslandığında, hayvanlar, özellikle de köpekler için böbrek fonksiyonunun belirlenmesinde idrardaki düşük molekül ağırlıklı proteinlerin kalitatif ve kantitatif önemiyle ilgili çok az bilgi olduğu belirtilmektedir.⁴⁸

Dünya çapında son dönem böbrek hastalıklarının nedenlerinin başını glomerüler hastalıklar çekmektedir.^{49,50} Bunların glomerüler ağ içinde bulunan üç tip hücrenin [mezenşiyal, viseral epitelial (podositler) ve endotelial hücreler] birincil olarak hasarı sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Sadece hasarın formu değil, aynı zamanda hasara bağlı gelişen spesifik hücre cevabı da glomerüler hastalıkların histolojik ve klinik belirtilerinin oluşumuna katkıda bulunur.⁴⁹ Glomerüler hücrelerdeki hasar, idrardaki proteomlarda farklı değişikliklere neden olmaktadır.^{4,51} Glomerüler

hastalıkların teşhisinde kullanılacak idrar belirteçlerini belirlemeye yönelik, insan ve hayvan modellerinde proteomiklerle ilgili çalışmalar bulunmaktadır.⁵⁰⁻⁵³ Proteomik araştırmalar sayesinde “neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)”, interlökin-18, kidney injury molecule-1 (KIM-1), renal papillar antijen-1 (RPN-1) gibi biyobelirteçler bulunmaktadır.^{54,55} 25 kDa ağırlığındaki NGAL, böbrek, akciğer, mide ve kolon gibi çeşitli organ dokularında çok düşük seviyede bulunmaktadır. NGAL ekspresyonu hasarlı dokularda belirgin şekilde artar. Bu nedenle akut böbrek hasarında NGAL’ın biyobelirteç olarak kullanılabilmesi vurgulanmaktadır.⁵⁴ Böbrek hasarının belirlenmesi amacıyla birçok biyobelirteç test edilmiş ve kullanılmıştır. Bunların başlıcaları, fonksiyonel belirteçler (kreatinin ve β 2-globulin), idrardaki düşük ve yüksek molekül ağırlıklı proteinler (albumin, transferrin, retinol bağlayıcı globulin, romatoid faktör, immünglobulin G), sitotoksik belirteçleri (BB50, BBA, HF5 gibi tübüler antijenler), idrarda bulunan enzimler (N-glukozaminidaz, β -galaktozidaz, c-glutamil transferaz) ve biyokimyasal belirteçler (6-keto PGF 2α , PGE 2 ve TXB 2 gibi eikozanoidler, fibronektin, kalikrein, idrardaki sialik asit ve glikozaminoglikanlar) olarak sınıflandırılabilir. Ayrıca β -Liyaz enzimi, P-amino hippurik asit (PAH), tetra etilamonyum (TEA), PAH/TEA oranı, β 2-mikroglobulin ve prostaglandin sentetaz düzeyleri de böbrek biyobelirteçleri olarak kullanılmaktadır.^{4,50,56} Biyobelirteçler konusunda hayvan modelleriyle yapılan çalışmaların azlığına dikkat çekilmekte, fakat glomerüler hücre hasarının nedenlerinin belirlenmesinde ve ayırıcı tanısında kullanılabilen çok sayıda üriner biyobelirteçin bulunduğu ifade edilmektedir.^{50,57}

β 2-mikroglobulin (β 2-M); tüm çekirdekli hücrelerin yüzeyinde bulunan düşük moleküler ağırlıklı (11,8 kDa) polipeptid yapısında, nonspesifik bir tümör belirteçidir.^{4,8,12,24,56} β 2-M glomerülden kolayca filtre edilir ve daha sonra emilerek proksimal tübül hücreleri tarafından katabolize edilir. Bu nedenle normalde idrarda bulunmaz.^{8,24,58,59} İdrarda bulunması önceleri “altın standart” olarak nitelendirilse de pH 6,0’nın altındaki asit idrarda stabil

olmaması, β 2-M için önemli bir dezavantaj olarak değerlendirilmiştir.^{4,12,60} Yapılan bir çalışmada, β 2-M’nin idrardaki düzeyinin, böbrek hasarı, doku nakilleri, bazı toksinlerin (radyokontrast maddeler) verilmesi, kardiyak cerrahi sonrası ve glomerüler hastalıklarda artabileceğini bildirilmektedir.¹² Bu nedenle tübüler hasarın spesifik bir göstergesi olmayabileceği ifade edilmektedir.

Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1); doku fibrozisinde rol oynayan yaygın birçok yanğısal sitokin türünden biridir.^{38,61} TGF- β 1, ekstraselüler matriks (ECM) proteinlerinin üretimini stimüle eden/yıkımını önleyen paransimal ve infiltratif hücreler tarafından salınır. Alfa-düz kas aktininin [α -smooth muscle actin-(α -SMA)] ekspresyonuyla epitel hücreleri miyofibroblastlara transdiferansiye eder. Deneysel hayvan modellerinde ve böbrek hastalığı olan bireylerde yapılan çalışmalarda, glomerüler ve tubulointerstitiyel fibrozis ile TGF- β 1 ekspresyonu arasında nedensel bir ilişkinin olduğunu göstermiştir. Yüksek renal TGF- β 1 konsantrasyonu, glomerüler sklerozis veya interstitiyel fibrozisin derecesiyle ilişkilidir. Ayrıca üriner TGF- β 1 düzeyi, böbreklerdeki histolojik değişiklikler ve renal TGF- β 1 varlığıyla da ilişkilidir ve özellikle membranöz glomerulonefritis ve diyabetik nefropatili hastalarda yüksektir. Diğer taraftan, TGF- β 1’in biyolojik nötralizasyonu glomerüllerdeki ekstraselüler matriksin (ECM) artan üretimini engeller.³⁸ Bu sonuçlar, üriner TGF- β 1 düzeyinin, klinik açıdan renal fibrozisin duyarlı bir belirteci olduğu, ayrıca renal biyopsi ile kıyaslandığında daha az invaziv ve düşük riskli yeni bir parametre olduğuna işaret etmektedir.^{7,38}

Retinol bağlayıcı protein (RBP, α 2-mikroglobulin); RBP, A vitamininin aktif şekli olan tümtrans retinolün 21 kDa molekül ağırlığındaki küçük, monomerik taşıyıcı proteinidir ve karaciğerden sentezlenir.^{4,12,39,58,62-64} Normal olarak, glomerüler filtreleri kolaylıkla geçer ve proksimal tübül hücreleri tarafından tamamen geri emilir. İdrarda görülmesi tübüler hasarın bir göstergesidir.^{12,39,48,58,62-64} Kronik böbrek hastalığı, diyabetik nefropati veya ağır metal zehirlenmeleri gibi, tübüler renal hasar olgularında idrardaki konsantrasyonu artar.^{4,48}

Yapılan bir çalışmada, kedilerdeki RBP'nin renal hasar ile ilişkili olduğunu ve idrar RBP düzeyinin proksimal renal hasarın belirlenmesinde faydalı bir renal belirteç olabileceği bildirilmektedir.⁶³

α 1-Mikroglobulin (HC protein, A1M, α 1-MG); 27 kDa ağırlığında, karaciğerde sentezlenen ve 183 amino asitten oluşan, glikoprotein yapısında "A1M, HC protein" olarak da adlandırılan bir proteindir.^{4,12,58} Çok fonksiyonlu immünomodülatör bir proteindir ve klinik açıdan yaygın olarak kullanıldığı ifade edilmektedir. Serbest monomerik A1M normal idrarda çok küçük miktarlarda bulunur ve idrar konsantrasyonunun artışı, tübüler fonksiyon bozukluğunun duyarlı bir göstergesidir.^{12,58,59,65} Aynı zamanda idrar A1M ağır metal toksisitesi, diyabetik nefropati, piyelonefrit, tübüler bozuklukların erken tanısı ve izlenmesinde kullanılabilen non-invaziv bir testtir.⁴

Tamm-Horsfall proteini (THP); THP, sadece nefronun distal kısmındaki tübüler hücreler tarafından sentezlenen bir üriner glikoproteindir.^{48,62} THP normal durumda hem insan hem de karnivor idrarında bulunur. İnsanlarda kronik renal yetmezlik varlığında, THP atılımının azaldığı gözlemlenir. Aynı durum köpeklerde yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir.⁶² Yapılan bir çalışmada, beşeri hekimlikte kronik renal yetmezlik olgularında kullanılan THP'nin köpeklerde distal tübül hasarının belirteci olarak kullanılabilmesini ifade edilmektedir.⁴⁸

Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1); normal böbrek dokusunda ya da idrarda belirlenemeyen, fakat hasar sırasında proksimal tübüllerin luminal yüzeyinin üzerinde ekspre olan tip 1 transmembran proteindir.^{7,17,58,59,66} Tubulointersitisyel hasarlı bireylerde idrar KIM-1 konsantrasyonundaki artışın, "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)" ile belirlenebileceği vurgulanmaktadır.⁷ Akut tübüler nekrozun (ATN) belirlenmesi için KIM-1'in idrardaki konsantrasyon artışının ALP ve GGT'ye göre daha etkili bulunduğu ifade edilmektedir.^{58,59} Başka organlarda ekspresyonu görülmediğinden, KIM-1'in böbreklerden atılım oranının etkilenmeyeceği ve böbrek hasarı için kan üre nitrojeni (BUN) ve kreatininden daha hassas bir belirteç olabileceği vurgulanmaktadır.⁶⁶

Üriner 8-hidroksideoksiguanosin (8-OHdG); bir DNA belirteçtir ve oksidatif stresin indikatörüdür. Kanserlerde biyobelirteç olarak kullanıldığı bildirilmektedir.⁶⁷ KRY olgularında, 8-OHdG'in idrar konsantrasyonundaki artışının ELISA ile belirlenebileceğini vurgulanmaktadır.⁷

Böbrek hasarının erken tanısı ve hasarın lokalizasyonunun belirlenmesi için sıklıkla kullanılan idrar biyobelirteçleri Tablo 2'de özetlenmiştir.⁴

İDRAR KESESİ HASTALIKLARINDA KULLANILAN BİYOBELİRTEÇLER

Memeli idrar kesesi, idrar hacmine göre genişleyebilen özellikte bir epitel yapısına sahiptir. İdrar kesesinin duvarı tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika seroza ana katlarını içerir.^{68,69} Bu yapıların arasında dolaşım sistemi, duyu-motor nöronlar ve immün sistem bulunmaktadır. Lamina propria'nın üzerindeki epitel hücre tabakası (üroteliyum) ve glikozaminoglikan (GAG) tabakası idrar kesesinin lümenine bakan yüzeyini kaplar.⁶⁹ GAG tabakası bakteriler, mikrokristaller, proteinler, iyonlar, karsinojenler ve diğer toksik metabolik ürünleri geçirmeyen koruyucu bir bariyer özelliğindedir.^{69,70}

İnterstisyel sistit (IC) olgularında idrar antiproliferatif faktör düzeylerinin yüksek olduğu ve bunun belirteç olarak kullanılabilmesi bildirilmektedir. Ayrıca üriner glikoprotein 51 (GP-51)'in de IC'de belirteç olabileceği, ancak bu belirteçler üzerinde çalışmaların yapılması gerektiği de vurgulanmaktadır.^{71,72}

İdrar kesesi tümörleri, organizmanın en sık görülen tümörlerindedir.^{73,74} İdrar kesesi kanserinin oranı, üriner sistemin kanserleri içinde prostat kanserinden sonra ikinci sırada olması bakımından çok yaygındır ve erkeklerde kadınlara göre daha sık görülür.^{73,75} Tanı ve izlemedeki zorluklardan dolayı, idrar kesesi kanserinin tarama ve tanısını kolaylaştıran, prognozu belirlemede yardımcı olabilen biyolojik göstergelerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuş ve geliştirilmiştir.^{76,77}

Uroplakin; üroteliyum endodermal orijinli, üç tabakalı tranzisyonel epitelden oluşur ve yapısını oluşturan şemsiye hücrelerinin asimetrik birim membranında plaklar bulunmaktadır.^{69,70} Her bir

TABLO 2: İdrar biyobelirteçleri.⁴

Sınıflandırma	Adı	Kısaltılması
1- Distal Tübül Protein	Tamm-Horsfall protein	THP
2- Düşük Moleküler Ağırlıklı Proteinler	α 1-asit glukoprotein	AAG
	α 1-antitripsin	AAT
	α 1- Mikroglobulin	A1M
	β 2-Mikroglobulin	β 2-M
	β 2-Glikoprotein-1	β 2-GLU
	Retinol bağlayıcı protein	RBP
	İdrar proteini 1	UP
	Sistatin C	Cys C
	Vasküler Endotelial Growth Faktör	VEGF
3- Glomerüler Yapısal Proteinler	Glikozaminoglikanlar	GAG
	Fibronektin	FN
	Sialik Asit	
4- Orta Moleküler Ağırlıklı Proteinler	Albumin	ALB
	Transtiretin	TTR
5- Prostanoidler	Tromboksan β 2	TX β 2
	Prostaglandin F2 α	PGF2 α
	6-Ketoproglandin F1 α	6-ketoPGF1 α
	Prostaglandin E2	PGE2
6- Serum Enzimleri	Pankreatik Amilaz	P
	Tükürük Amilazı	S
7- Tübüler Enzimler	Lizozomal Enzimler	
	N-Asetil β -D glokozaminidaz	NAG
	β - Galaktozidaz	GAL
	β - Glukuronidaz	GRS
	α - Glukozidaz	GLU
	Arilsülfataz	ASA
	Lizozim	LYS
	Fırçamsı Kenar Enzimleri	
	Alanin Aminopeptidaz	AAP
	Gama glutamil transferaz	GGT
	Lösin aminopeptidaz	LAP
	Alkalen fosfataz	AP
	Sitozolik Enzimler	
	Glutasyon S-Transferaz	GST
	Laktat Dehidrogenaz	LDH
	Treahalaz	
	Diğer Enzimler	
	Matriks metalloproteinazlar	MMP-2,9
8-Yüksek Moleküler Ağırlıklı Proteinler	Transferrin	TF
	Adenozin-deaminaz bağlayıcı protein	ADBP
	Seruloplazmin	CER
	İmmünglobilin G	IgG
	İmmünglobilin M	IgM
	α 2- Makroglobulin	AMG
	Fibronektin	
	Kollajen IV	
	Neopiterin	

plakta yaklaşık 1000 alt ünite vardır. Alt üniteler, farklılaşmasını tamamlamış yüzey üroteliyumu belirleyicileri olan, üroplakinler [Uroplakin (UP)] olarak adlandırılan, dört tip membran içinde yerleşmiş proteinden oluşmaktadır.⁶⁹ Neoplazi olgularında UP, idrar kesesi karsinogenezisindeki farklılaşmanın derecesini belirlemek için yararlı biyobelirteçler olarak görülmektedir.⁷⁸ Yapılan bir çalışmada, sığırların ürotelyal karsinomalarının teşhisinde, UP IIIB'nin yüksek duyarlılığa sahip immüno-kimyasal bir belirteç olduğu gösterilmiştir.⁷⁸

İdrar kesesi tümörü fibronektini [Bladder Tumor Fibronectine (BTF)]; yeni belirlenmiş üriner biyobelirteçlerden biridir. Fibronektin, antijenik özellik gösteren, proteolize dirençli, birçok fonksiyonel bölgeden oluşan, 440 kDa ağırlığında, büyük dimerik bir glikoproteindir.^{77,79,80} Fibronektinin, plazma, idrar ve idrar yolları dokularında bulunduğu vurgulanmaktadır.^{77,79} Fibronektinin en önemli fonksiyonu, ekstraselüler matriks ve hücreler arasındaki ilişkiyi sağlamasıdır. Bu ilişkinin sonucunda hücre-substrat adezyonu, hücre migrasyonu ve hücre morfolojisinin düzenlenmesi gibi etkiler ortaya çıkmaktadır.^{77,79-82} İdrarda fibronektin, genellikle hücre bağlayan bölgelerden oluşan fragmanlar şeklinde bulunmaktadır. Bu fragmanların ürogenital sistemin, özellikle de idrar kesesi ve prostat dokusunda bulunan ekstraselüler matriksin proteolitik yıkımı sonucunda ortaya çıktıkları düşünülmektedir.^{77,79,80}

İdrar kesesi yüzeyinin bütünlüğünü bozan her durumda ve özellikle idrar kesesi kanserinde idrarda fibronektin fragmanlarının artışı görülebilir.^{77,80} Yapılan bir çalışmada, önemli bir farklılık olmamasına rağmen, yeni tümörlerde nüks olgularına oranla BTF seviyelerinin daha yüksek olduğu bildirilmektedirler.⁸² Büyük boyutta ve ileri seviyedeki tümörlerde BTF'nin hassaslığının daha fazla olduğu vurgulanmaktadır.⁸² İdrarda fibronektin fragmanları spesifik antikolar sayesinde tespit edilebilir ve bu yüzden fibronektin tümör varlığını saptayabilen indikatör olarak kullanılabilir. Fibronektinin idrar kesesi duvarında bulunması ve idrarda ölçülebilmesi, idrar kesesi kanserlerinin teşhisinde uygun bir alternatif olabileceğini göstermektedir.^{77,80}

Telomeraz enzim aktivitesi; Telomerler, ökar-yot kromozomların her iki ucunda yer alan heterokromatin yapıda tekrarlayan DNA dizileri ve telomer bağlı proteinlerden oluşur.^{73,76,83-90} Genç ve bölünmekte olan soma hücrelerinde belli bir uzunluğu olan telomer boyu her hücre bölünmesinde giderek kısalır, hücre bölünmesi sona erer ve hücreler yaşlılık dönemine girerler.^{73,83,85-87} Telomeraz enzim kompleksi ise bir ribonükleoprotein olup, kendisine ait RNA ve proteinlerden oluşur. Telomeraz enzimi sayesinde, her hücre bölünmesinde meydana gelen telomer kaybı telafi edilerek, hücrenin yaşam süresinin uzatıldığı ifade edilmektedir.^{73,83,86,89-92} Normal epitelyal dokuda inaktif olan telomeraz, kanserli dokuda tekrar aktive edilmiş durumdadır. Bu nedenle, telomeraz aktivitesi, kanserlerin tanımlanmasında kullanılan genel bir moleküler belirleyicidir ve bütün tümörlerin %85'inde saptanabildiği belirtilmektedir.^{83,84,86,89,90,92} Telomeraz aktivitesinin insanlardaki çeşitli dokularda bulunan tümörlerde ve köpeklerdeki tümörlerden alınan örneklerde de saptandığı bildirilmektedir.^{88,90,93,94} İdrar kesesi kanserinin erken evrelerinde, telomeraz aktivite tayininin teşhis için kullanışlı bir belirteç olabileceği ileri sürülmektedir.^{73,90,93}

Nükleer matriks proteini (NMP); NMP, tüm hücrelerin nükleer matriksinde bulunan ve kromatinin yeni oluşan hücrelere dağıtımında görevli olan nükleer mitotik bir proteindir.^{56,92,95} NMP nükleusun iç yapısal iskeletini oluşturur ve DNA'nın üç boyutlu organizasyonunu kontrol eder. Böylece DNA replikasyonu, gen organizasyonu ve ekspresyonunda önemli role sahiptir. NMP apoptozis sırasında tümör hücresinin nükleusundan salınır ve idrar kesesi tümörü bulunan hastaların idrarlarında düzeyi normalden 25 kat daha fazladır.^{76,92,95} Bu bağlamda idrar kesesi kanseri için önemli bir üriner belirteç olarak gösterilmektedir.⁵⁶

PROSTAT BEZİ HASTALIKLARINDA KULLANILAN BİYOBELİRTEÇLER

Beşeri hekimlikte prostat kanserinin, Avrupa ve Amerika'da yaygın olarak teşhis edilen kötü huylu solid organ tümörü olguları arasında yer aldığı ve

erkeklerde kanser kökenli ölüm nedenleri arasında da ikinci sırada bulunduğu bildirilmektedir.^{67,96-98} İdrar, tümör hücreleri ve/veya prostatik ürünlerin belirlenmesi ile prostat kanserlerinin teşhisinde yararlanılabilecek, alınması ve analizleri kolay olan bir sıvıdır. Ayrıca idrar biyobelirteçler için uygun bir ortamdır. Zira üriner sistem ile bağlantılı hastalıklarda DNA, RNA ve protein belirteçler gibi birçok diyagnostik ajan idrara geçer.⁶⁷

Glutathyon-S-transferaz P1(GSTP-1) geni; DNA belirteç olan, serbest radikallerden DNA'yı korumaya ilişkili enzimlerin ailesinin bir üyesidir.^{4,67} Prostat kanseri, destekleyici hipermetilasyondan dolayı gün yüzüne çıkan GSTP-1 geni kaybı ile ilgilidir. Bu olay, üst dereceli intraepitelial prostat neoplazisi (HGPN, %70) ve prostat kanserinde (>%90 kanserlerin) oldukça sık rapor edilen genom değişimidir.⁶⁷

Üriner 8-hidroksideoksiguanosin (8-OHdG); bir DNA belirteçtir ve oksidatif stresin indikatörüdür. Kanserlerde biyobelirteç olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Prostat ve idrar kesesi kanserlerinde, idrar 8-OHdG'nin konsantrasyonunda artışının belirlenmiştir.⁶⁷ KRY olgularında da 8-OHdG'in idrar konsantrasyonundaki artışının ELISA ile belirlenebileceği vurgulanmaktadır.⁷

Prostat kanseri antijen geni 3 (DD3; PCA3); bir RNA belirteçtir. Prostat kanserine spesifik kabul edilen ve metastaz olgularının %95'inde önemli artış belirlenen bir genidir. DD3, dokuzuncu kromozom üzerinde lokalizedir ve yalnızca prostat epitelyum hücrelerinde bulunur. Bu yönüyle DD3, prostat kanseri için gelecek vadeden potansiyel bir üriner biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir.^{67,99,100}

Timozin β15 (TB-15); son zamanlarda tanımlanan, protein yapısında bir üriner biyobelirteçtir. TB-15 5 kDa ağırlığında peptidlerden meydana gelen çoklu β timosin ailesinin bir üyesidir. Sınırlı

bir üretim profiline sahip olan ve sağlıklı dokularda bulunmayan TB-15'in, malign meme ve prostat kanserlerinde önemli artış gösterdiği kaydedilmektedir. TB-15'in üretimi ile prostat kanseri olguları arasında, metastaz ve motilite artışı bakımından pozitif ilişki bulunduğu bildirilmektedir.⁶⁷

Prostat spesfik antijen (PSA); prostat kanserinin tarama ve izlenmesinde kullanılan enzim tabiatında önemli bir belirteçtir.^{56,96,100} PSA prostata özgü bir belirteçtir, ancak prostat kanserinin teşhisi noktasında yetersiz kaldığı veya yanlış pozitif/negatif sonuçlar verebildiği için PSA taraması sonrasında biyopsi uygulaması da yapılmaktadır.⁹⁸⁻¹⁰⁰ Bu sebepten dolayı prostat kanserinin teşhisi ve izlenmesinde yararlanılabilecek üriner biyobelirteçler konusunda araştırmalar devam etmektedir.^{67,99-101}

Matriks metalloproteinaz (MMP); MMP'lerin (MMP-2, 72 kDa, Jelatinaz A ve MMP-9, 92 kDa, Jalatinaz B) tümör büyümesi, metastazı ve anjiyogenezisi gibi patolojik süreçlerde de rol aldığı bildirilmektedir.^{28-31,33-35} MMP'nin konsantrasyonundaki artışın, akciğer, göğüs, mide, kolon, ağız ve özefagus yassı hücre karsinomu, ovaryum neoplazisi, melanom, kondrosarkom, prostatik karsinom ve nöroblastom gibi zayıf prognozlu insan maligniteleri, metastazları ve büyümeleriyle alakalı olduğu vurgulanmaktadır.^{28,30,34} Yapılan bir çalışmada, benign ve malign prostat dokusunda MMP-2 ve MMP-9 varlığının belgelendirildiği belirtilmektedir.²⁹ Yapılan bir çalışmanın sonucunda, nonpalpabl prostat tümörüyle kıyaslandığında, palpe edilebilir tümörlerde belirgin şekilde MMP-2'nin arttığı, nonpalpabl tümörlerde ise MMP-9'un daha fazla olduğu vurgulanmaktadır.²⁹ Son yıllarda prognostik belirteç ve tedavi izlemeye yönelik, beşeri ve veteriner onkoloji alanında metalloproteinazlar üzerindeki ilginin arttığı ve bu yönde çalışmaların yapıldığı belirtilmektedir.³¹

KAYNAKLAR

1. Knepper M. Urinary Exosomes and Biomarker Discovery. Proceeding of the ACVP/ASVCP Concurrent Annual Meetings 2008 Nov 15-19; San Antonio, Texas. <http://www.ivis.org/proceedings/acvp/2008/knepper1.pdf?LA=1> Erişim tarihi: 18.03.2015.
2. Pisitkun T, Johnstone R, Knepper MA. Discovery of urinary biomarkers. *Mol Cell Proteomics* 2006;5(10):1760-71.
3. Harley L, Langston C. Proteinuria in dogs and cats. *Can Vet J* 2012;53(6):631-8.
4. Uslu S. [Clinical importance of enzymuria and microproteinuria]. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2005;3(3):125-41.
5. Thongboonkerd V. Biomarker discovery in glomerular diseases using urinary proteomics. *Proteomics Clin Appl* 2008;2(10-11):1413-21.
6. Maden M, Aslan V. [The importance of urinary enzyme activities in dogs with experimentally induced gentamicin nephrotoxicity]. *Turk J Vet Anim Sci* 1999; 23(1):29-42.
7. Tesch GH. Review: Serum and urine biomarkers of kidney disease: A pathophysiological perspective. *Nephrology (Carlton)* 2010; 15(6):609-16.
8. Loeb WF. The measurement of renal injury. *Toxicol Pathol* 1998;26(1):26-8.
9. Boyd JW. The mechanisms relating to increases in plasma enzymes and isoenzymes in diseases of animals. *Vet Clin Pathol* 1983; 12(2):9-24.
10. Turecky L, Uhlíkova E. Diagnostic significance of urinary enzymes in nephrology. *Bratisl Lek Listy* 2003;104(1):27-31.
11. Clemo FA. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in the dog. *Toxicol Pathol* 1998; 26(1):29-32.
12. Trof RJ, Di Maggio F, Leemreis J, Groeneveld AB. Biomarkers of acute renal injury and renal failure. *Shock* 2006;26(3):245-53.
13. Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW Jr. Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity. *Clin Chem* 1981;27(7):1180-5.
14. Sato R, Soeta S, Miyazaki M, Syuto B, Sato J, Miyake Y, et al. Clinical availability of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase index in dogs with urinary diseases. *J Vet Med Sci* 2002;64(4):361-5.
15. Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM, Saltissi D, Morgan TJ. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(3):543-51.
16. Mohammadi-Karakani A, Asgharzadeh-Ghaghghi S, Ghazi-Khansari M, Hosseini R. Determination of urinary enzymes as a marker of early renal damage in diabetic patients. *J Clin Lab Anal* 2007;21(6):413-7.
17. Han WK, Waikar SS, Johnson A, Betensky RA, Dent CL, Devarajan P, et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney Int* 2008;73(7):863-9.
18. Lapointe C, Bélanger MC, Dunn M, Moreau M, Bédard C. N-acetyl-beta-D-glucosaminidase index as an early biomarker for chronic kidney disease in cats with hyperthyroidism. *J Vet Intern Med* 2008;22(5):1103-10.
19. Ambade V, Sing P, Somani BL, Basanna D. Urinary N-acetyl beta glucosaminidase and gamma glutamyl transferase as early markers of diabetic nephropathy. *Indian J Clin Biochem* 2006;21(2):142-8.
20. Nejat M, Pickering JW, Walker RJ, Westhuyzen J, Shaw GM, Frampton CM, et al. Urinary cystatin C is diagnostic of acute kidney injury and sepsis, and predicts mortality in the intensive care unit. *Crit Care* 2010;14(3):R85.
21. Uchida K, Gotoh A. Measurement of cystatin-C and creatinine in urine. *Clin Chim Acta* 2002;323(1-2):121-8.
22. Mijuskovic Z, Maksic D, Hrvacevic R, Vucelic M, Subota V, Stojanovic J, et al. Urinary cystatin C as a marker of tubular dysfunction. *J Med Biochem* 2007;26(2): 98-102.
23. Villa P, Jiménez M, Soriano MC, Manzanares J, Casasnovas P. Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. *Crit Care* 2005;9(2): R139-43.
24. Dieterle F, Perentes E, Cordier A, Roth DR, Verdes P, Grenet O, et al. Urinary clusterin, cystatin C, beta2-microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury. *Nat Biotechnol* 2010;28(5):463-9.
25. Gonul R, Kayar A, Or ME, Kahraman I. Assessment of renal function in dogs with renal disease using serum cystatin C. *Indian Vet J* 2004;81(8):872-4.
26. Gönül R, Bakirel U, Kayar A, Meral Y, Or ME, Şennazlı G, et al. [Hepatorenal syndrome and efficiency of aldosterone receptor blockade on hepatorenal system and systemic hemodynamics in dogs with experimentally induced hepatic cirrhosis]. *Turk J Vet Anim Sci* 2003; 27(6):1423-31.
27. Antognoni MT, Siepi D, Porciello F, Rueca F, Fruganti G. Serum cystatin-C evaluation in dogs affected by different diseases associated or not with renal insufficiency. *Vet Res Commun* 2007;31(Suppl 1):269-71.
28. Davies B, Waxman J, Wasan H, Abel P, Williams G, Krausz T, et al. Levels of matrix metalloproteases in bladder cancer correlate with tumor grade and invasion. *Cancer Res* 1993;53(22):5365-9.
29. Brehmer B, Biesterfeld S, Jakse G. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and -9) and their inhibitors (TIMP-1 and -2) in prostate cancer tissue. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2003;6(3):217-22.
30. Loukopoulos P, Mungall BA, Straw RC, Thornton JR, Robinson WF. Matrix metalloproteinase-2 and -9 involvement in canine tumors. *Vet Pathol* 2003;40(4):382-94.
31. Mandara MT, Pavone S, Mandrioli L, Bettini G, Falzone C, Baroni M. Matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 expression in canine and feline meningioma. *Vet Pathol* 2009;46(5):836-45.
32. Gäddnäs FP, Sutinen MM, Koskela M, Tervahartiala T, Sorsa T, Salo TA, et al. Matrix-metalloproteinase-2, -8 and -9 in serum and skin blister fluid in patients with severe sepsis. *Crit Care* 2010;14(2):R49.
33. Seiki M. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase: a key enzyme for tumor invasion. *Cancer Lett* 2003;194(1):1-11.
34. Takagi S, Kato Y, Asano K, Ohsaki T, Bosnakovski D, Hoshino Y, et al. Matrix metalloproteinase inhibitor RECK expression in canine tumors. *J Vet Med Sci* 2005;67(8):761-7.
35. Kawai K, Uetsuka K, Doi K, Nakayama H. The activity of matrix metalloproteinases (MMPS) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in mammary tumors of dogs and rats. *J Vet Med Sci* 2006;68(2):105-11.
36. Arosalo BM, Raekallio M, Rajamäki M, Holopainen E, Kastevaara T, Salonen H, et al. Detecting early kidney damage in horses with colic by measuring matrix metalloproteinase -9 and -2, other enzymes, urinary glucose and total proteins. *Acta Vet Scand* 2007;49:4. doi: 10.1186/1751-0147-49-4
37. Lees GE, Metzger FL. Kidney disease: Early detection and treatment strategies. *The North American Veterinary Conference. Small Animal and Exotics Book One. Orlando: NAVC; 2005. p.547-9.*
38. Arata S, Ohmi A, Mizukoshi F, Baba K, Ohno K, Setoguchi A, et al. Urinary transforming growth factor-beta1 in feline chronic renal failure. *J Vet Med Sci* 2005;67(12):1253-5.
39. Elliott J. How can we recognise kidney disease at an early stage? *International SCIVAC Congress. Rimini: SCIVAC; 2009. p.159-60.*
40. Brown SA. The use of microalbuminuria as a screening tool in practice. *The North American Veterinary Conference. Orlando: NAVC; 2005. p. 516-7.*
41. Brown SA. Diagnosing renal disease. *The North American Veterinary Conference. Orlando: NAVC; 2007. p.676-7.*

42. de Zeeuw D, Parving HH, Henning RH. Microalbuminuria as an early marker for cardiovascular disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(8):2100-5.
43. Koçak İ, Yenisey Ç, Dündar M, Serter M, Kandamar AE. [N-acetyl-β-D-glucosaminidase levels and microalbuminuria in patients with urolithiasis]. *Journal of Adnan Menderes University Medical Faculty* 2008;9 (3):17-9.
44. Brown S, Brown C, Surdyk K. The Importance of Proteinuria and Microalbuminuria. *WSAVA/FECAVA/CSAVA Congress. Prague: WSAVA/FECAVA/CSAVA; 2006. p.9-11.*
45. Sparkes AH, Mardell EF. Proteinuria And Microalbuminuria in Cats. *WSAVA/FECAVA/CSAVA Congress, Prague: WSAVA/FECAVA/CSAVA 2006. p.371-2.*
46. Kural A, Bozdayı AM, Kantaroğlu N. [Microalbuminuria and clinical significance]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 1993;13 (1):13-8.
47. Kalaitzidis RG, Bakris GL. [Should proteinuria reduction be the criterion for antihypertensive drug selection for patients with kidney disease?]. *Türkiye Klinikleri J Nephrol* 2010; 5(1):6-14.
48. Forterre S, Raila J, Schweigert FJ. Protein profiling of urine from dogs with renal disease using ProteinChip analysis. *J Vet Diagn Invest* 2004;16(4):271-7.
49. Marshall CB, Shankland SJ. Cell cycle and glomerular disease: a minireview. *Nephron Exp Nephrol* 2006;102(2):e39-48.
50. Barratt J, Topham P. Urine proteomics: the present and future of measuring urinary protein components in disease. *CMAJ* 2007; 177(4):361-8.
51. Goldstein IJ, Hollerman CE, Smith EE. Protein-carbohydrate interaction. II. inhibition Studies on the interaction of concanavalin a with Polysaccharides. *Biochemistry* 1965;4: 876-83.
52. Schmitt B, Henderson L. Diagnostic tools for animal diseases. *Rev Sci Tech* 2005;24(1): 243-50.
53. Scaros O, Fisler R. Biomarker technology roundup: from discovery to clinical applications, a broad set of tools is required to translate from the lab to the clinic. *Biotechniques* 2005;Suppl:30-2.
54. Nguyen MT, Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol* 2008;23(12):2151-7.
55. Price SA, Davies D, Rowlinson R, Copley CG, Roche A, Falkenberg FW, et al. Characterization of renal papillary antigen 1 (RPA-1), a biomarker of renal papillary necrosis. *Toxicol Pathol* 2010;38(3):346-58.
56. Akay C. [The use of biomarkers in toxicology]. *Gulhane Med J* 2004;46 (1):73-83.
57. Wang Y, Chen Y, Zhang Y, Wu S, Ma S, Hu S, et al. Differential ConA-enriched urinary proteome in rat experimental glomerular diseases. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 371(3):385-90.
58. Bagshaw SM, Langenberg C, Haase M, Wan L, May CN, Bellomo R. Urinary biomarkers in septic acute kidney injury. *Intensive Care Med* 2007;33(7):1285-96.
59. Coca SG, Parikh CR. Urinary biomarkers for acute kidney injury: perspectives on translation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3(2):481-90.
60. Davey PG, Gosling P. beta 2-microglobulin instability in pathological urine. *Clin Chem* 1982; 28(6):1330-3.
61. Çakır M, Keskin G, Düzgün N. [Cytokines and the management of rheumatoid diseases]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 1996;16 (6):405-9.
62. Raila J, Neumann U, Schweigert FJ. Immunohistochemical localization of megalin, retinol-binding protein and Tamm-Horsfall glycoprotein in the kidneys of dogs. *Vet Res Commun* 2003; 27(2):125-35.
63. van Hoek I, Daminet S, Notebaert S, Janssens I, Meyer E. Immunoassay of urinary retinol binding protein as a putative renal marker in cats. *J Immunol Methods* 2008;329(1-2):208-13.
64. Maddens BE, Daminet S, Demeyere K, Demon D, Smets P, Meyer E. Validation of immunoassays for the candidate renal markers C-reactive protein, immunoglobulin G, thromboxane B2 and retinol binding protein in canine urine. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 134(3-4):259-64.
65. Yu H, Yanagisawa Y, Forbes MA, Cooper EH, Crockson RA, MacLennan IC. Alpha-1-microglobulin: an indicator protein for renal tubular function. *J Clin Pathol* 1983;36(3):253-9.
66. Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(11):3265-8.
67. Downes MR, Byrne JC, Pennington SR, Dunn MJ, Fitzpatrick JM, Watson RW. Urinary markers for prostate cancer. *BJU Int* 2007;99(2): 263-8.
68. Tanyolaç A. [Urinary System "Vesica Urinaria"]. *Özel Histoloji. 3. Baskı. Ankara: Yorum Basın Yayın; 1999. p.131.*
69. Güneş D, Kavukçu S. [Is the urinary tract epithelium talented as the renal tubular epithelium]. *Türk Nefrol Diyaliz Transplant Derg* 2002; 11(2):74-9.
70. Chen IH, Tong YC. The urothelium: a new target in urology. *JTUA* 2007;18(1):12-6.
71. Sant GR. Etiology, pathogenesis, and diagnosis of interstitial cystitis. *Rev Urol* 2002; 4(Suppl 1):S9-S15.
72. Evans RJ. Pathophysiology and clinical presentation of interstitial cystitis. *Adv Stud Pharm* 2005;2(1):8-14.
73. Bayramoğlu A. [Telomerase enzyme activity observed in urine samples of bladder cancer patients]. *Firat University Medical Journal of Health Sciences* 2006;20(6):423-6.
74. Ozkul IA, Dincel AS, Keles H, Vural SA. Immunohistochemistry of bovine urinary bladder mucosal hyperplasia and neoplasia. *Bull Vet Inst Pulawy* 2008;52(4): 643-7.
75. Diamandis EP. How are we going to discover new cancer biomarkers? A proteomic approach for bladder cancer. *Clin Chem* 2004; 50(5):793-5.
76. Burchardt M, Burchardt T, Shabsigh A, De La Taille A, Benson MC, Sawczuk I. Current concepts in biomarker technology for bladder cancers. *Clin Chem* 2000;46(5):595-605.
77. Mutlu N, Türkeri L, Emerk K. Analytical and clinical evaluation of a new urinary tumor marker: bladder tumor fibronectin in diagnosis and follow-up of bladder cancer. *Clin Chem Lab Med* 2003;41(8):1069-74.
78. Roperto S, Ambrosio V, Borzacchiello G, Galati P, Paciello O, Russo V, et al. Bovine papillomavirus type-2 (BPV-2) infection and expression of uroplakin IIIb, a novel urothelial cell marker, in urinary bladder tumors of cows. *Vet Pathol* 2005;42(6):812-8.
79. Sánchez-Carbayo M, Urrutia M, González de Buitrago JM, Navajo JA. Evaluation of two new urinary tumor markers: bladder tumor fibronectin and cytokeratin 18 for the diagnosis of bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6(9): 3585-94.
80. Mutlu N, Türkeri L, Emerk K. [Analytical and clinical evaluation of a new urinary tumor marker "bladder tumor fibronectin" (BTF) in diagnosis and follow-up of bladder cancer]. *Türk Ürol Derg* 2002;28(4):390-7.
81. Sottile J, Wiley S. Assembly of amino-terminal fibronectin dimers into the extracellular matrix. *J Biol Chem* 1994;269(25):17192-8.
82. Menéndez V, Fernández-Suárez A, Galán JA, Pérez M, García-López F. Diagnosis of bladder cancer by analysis of urinary fibronectin. *Urology* 2005;65(2):284-9.
83. Yazawa M, Okuda M, Setoguchi A, Nishimura R, Sasaki N, Hasegawa A, et al. Measurement of telomerase activity in dog tumors. *J Vet Med Sci* 1999;61(10):1125-9.
84. Davis AJ, Siu LL. Telomerase: therapeutic potential in cancer. *Cancer Invest* 2000;18(3): 269-77.
85. Funakoshi Y, Nakayama H, Uetsuka K, Nishimura R, Sasaki N, Doi K. Cellular proliferative and telomerase activity in canine mammary gland tumors. *Vet Pathol* 2000;37(2): 177-83.
86. Nasir L, Devlin P, Mckeivitt T, Rutteman G, Argyle DJ. Telomere lengths and telomerase activity in dog tissues: a potential model system to study human telomere and telomerase biology. *Neoplasia* 2001;3(4):351-9.

87. Argyle DJ, Nasir L. Telomerase: a potential diagnostic and therapeutic tool in canine oncology. *Vet Pathol* 2003;40(1):1-7.
88. Nasir L. Telomeres and telomerase: Biological and clinical importance in dogs. *Vet J* 2008;175(2):155-63.
89. Pang LY, Argyle DJ. Using naturally occurring tumours in dogs and cats to study telomerase and cancer stem cell biology. *Biochim Biophys Acta* 2009;1792(4):380-91.
90. Pang LY, Argyle D. Cancer stem cells and telomerase as potential biomarkers in veterinary oncology. *Vet J* 2010;185(1):15-22.
91. Borzacchiello G, Iovane G, Marcante ML, Poggiali F, Roperto F, Roperto S, et al. Presence of bovine papillomavirus type 2 DNA and expression of the viral oncoprotein E5 in naturally occurring urinary bladder tumours in cows. *J Gen Virol* 2003;84(Pt 11):2921-6.
92. Çal Ç, Erdoğan Ö, Kosova B, Ekren F, Veral A, Delibaş M. [The single or combined use of urine cytology, Nmp22 test and telomerase test sufficient to detection of the recurrent superficial bladder tumors]. *Türk Ürol Derg* 2006;32(4):472-7.
93. Nilsson J, Skog J, Nordstrand A, Baranov V, Mincheva-Nilsson L, Breakefield XO, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer. *Br J Cancer* 2009;100(10):1603-7.
94. Wang R, Chinnaiyan AM, Dunn RL, Wojno KJ, Wei JT. Rational approach to implementation of prostate cancer antigen 3 into clinical care. *Cancer* 2009;115(17):3879-86.
95. Amorim RL, Moura VM, Di Santis GW, Bandarra EP, Padovani C. Serum and urinary measurements of prostatic acid phosphatase (PAP) and prostatic specific antigen (PSA) in dogs. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2004;56(3):320-4.
96. Seçkin D, Onur R, İlhan N, Ardıçoğlu A, İlhan N. [The relationship between plasma vascular endothelial growth factor, oxidative stress and nitric oxide in patients with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia]. *Fırat University Medical Journal of Health Sciences* 2005;19(4):277-81.
97. Köseoğlu H, Mungan UM. [Active surveillance and watchful waiting in prostate cancer]. *Türkiye Klinikleri J Urology-Special Topics* 2012;5(1):73-7.
98. Başpınar Ş, Bircan S, Devrim T, Yavuz G, Akdeniz R, Oksay T, et al. [Incidental prostate cancers found in radical cystoprostatectomy specimens]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2013;33(1):33-8.
99. Mobasher A, Cassidy JP. Biomarkers in veterinary medicine: Towards targeted, individualised therapies for companion animals. *Vet J* 2010;185(1):1-3.
100. Spangler EA, Rogers KS, Thomas JS, Pustejovsky D, Boyd SL, Shippen DE. Telomerase enzyme activity as a diagnostic tool to distinguish effusions of malignant and benign origin. *J Vet Intern Med* 2000;14(2):146-50.
101. Özden C, Özen U, Özdal ÖL, Aktaş BK, Yahşi S, Memiş A. [Relation between renal cell cancer and urinary nuclear matrix protein]. *İnönü Üniv Tıp Fak Derg* 2008;15(2):75-8.