

SPSS

Dokuz Eylül Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD
İZMİR

HİPERKALSIÜRİ ile İDRAR N-ASETİL β -D GLUKOZAMİNİDAZ
AKTİVİTESİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Uzm. Dr. Salih Kavukçu
Pediatrik Nefroloji

(Yan Dal İhtisas Tezi)

Tezimin hazırlanmasındaki yardım ve katkılarından dolayı Sayın Hocam Prof. Dr. Ümit SAATÇI'ya minnet ve şükranlarımı arz ederim.

Dr. Salih KAVUKÇU

İÇİNDEKİLER

GENEL BİLGİLER.....	1
GİRİŞ.....	7
GEREÇ VE YÖNTEM.....	8
BULGULAR.....	11
TARTIŞMA.....	22
SONUÇLAR.....	26
ÖZET	27
KAYNAKLAR	29

GENEL BİLGİLER

HİPERKÜLSİÜRİ PATOGENEZİ

Kalsiyum taşları ile hiperkalsiüri arasındaki ilişki ilk kez 1939'da Flocks tarafından tanımlanmıştır (1). Yaklaşık 14 yıl sonra Albright ve arkadaşları tarafından hiperkalsiürik olup, serum kalsiyum düzeyleri normal olan ve öykülerinde sık taş düşürme belirtilen hastalar tanımlanmıştır. Bu hastalardaki hiperkalsiürinin nedeni anlaşılamamış ve "idiopatik hiperkalsiüri" olarak yorumlanmıştır (2). Idiopatik hiperkalsiüri Pak ve arkadaşları tarafından 1974'de absorptif ve renal hiperkalsiüri olarak tanımlanmıştır (3).

Renal hiperkalsiüride, böbrekten kalsiyum kaçağı olduğu, buna bağlı olarak paratiroid hormonu (PTH)'nin kompensatuar artış gösterdiği, calcitriol yapımının ve intestinal kalsiyum absorpsiyonunun arttığı öne sürülmüştür. Absorptif hiperkalsiüride ise primer intestinal hiperabsorpsiyonun söz konusu olduğu bildirilmiştir. Bu grupta tanı, açlıkta hiperkalsiüri olmaması, bir hafta kalsiyumdan kısıtlı diyet uygulandıktan sonra kalsiyum absorpsiyon testi ve/veya PTH düzeyinin düşüklüğünün gösterilmesi ile konulur.

Sözü edilen fizyopatolojik sınıflandırma tedavi seçiminde de pratik bir yaklaşım sağlamaktadır. Absorptif hiperkalsiüride düşük kalsiyum içerikli diyet ya da sodyum sellülöz fosfat önerilirken, renal (açlıkta da ortaya çıkan) hiperkalsiüride tiazid grubu diüretiklerden yararlanılmaktadır.

Coe ve arkadaşları 2 mg/kg/gün kalsiyum içeren diyet verdikleri familial hiperkalsiürik olgularda $1.25 (OH)_2D_3$ regülasyonunda bozukluk olduğu öne sürmüşlerdir. Renal proksimal tübül epitelinde kalıtsal bir anomali nedeni ile aşırı calcitriol sentezi yapıldığı, buna bağlı inestinal kalsiyum absorpsiyonunun arttığı ve kalsiyum tübüler reabsorpsiyonunun azaldığı sonuçta normo hiperkalsiürinin ortaya çıktığı bildirilmiştir (4). Lie ve arkadaşları hiperkalsiürik sıçanlarda intestinal vitamin D reseptörlerinin arttığını, dolaşımda $1.25 (OH)_2 D_3$ 'ün normal düzeylerde olduğunu göstermişlerdir (5).

Normal olguların ve kalsiüri düzeyi normal olan böbrek taş hastalarının diyetlerinde kalsiyum kısıtlaması yapıldığında kalsiüri düzeylerinde azalma olmaktadır; eğer bu kısıtlamaya calcitriol eklenecek olursa kalsiüri anlamlı derecede artmaktadır. Benzer uygulama hiperkalsiürili böbrek taş hastalarına uygulandığında, kalsiüri düzeylerinde farklılık ayırt edilmemiştir. Bu bulgular, hiperkalsiürili olguların calcitriole duyarlı olmadığını, hiperkalsiüri patogenezinde başka faktörlerin rol alabileceğini göstermektedir (6).

Idiopatik hiperkalsiüri patogenezinde PTH'nun rolü açık olarak anlaşılamamıştır. Primer hiperparatiroidi kalsiyum içeren nefrolithiazis olgularında önemli bir neden olarak düşünülebilir. Ancak, nefrolithiazisli olguların %4.3 gibi oldukça küçük bir grubunda hiperparatiroidi karşımıza çıkmaktadır (6). Söz konusu hastalarda hiperkalsemi,

hiperparatiroidi, açlıkta da süren hiperkalsiüri göze çarpar; bunlarda, kemik rezorbsiyonunun artışı ile filtre olan kalsiyum yükü artmaktadır.

İdiopatik hiperkalsiürinin renal formunda, idrarla kalsiyum kaybı sonucu negatif bir balans ortaya çıktığından, bunu kompanse etmek amacıyla PTH sekresyonunun arttığı bildirilmektedir. Absorbtif formda ise intestinal kalsiyum emiliminin artmış olması nedeni ile PTH sekresyonunun inhibisyonu olasıdır.

Söz konusu tanımlamalara karşın, idiyopatik hiperkalsiüride serum PTH düzeyleri henüz tartışmalıdır. PTH tayininde farklı yöntemler kullanılırken, elde edilen değerler çelişkili sonuçlardan sorumlu tutulmuştur. PTH böbrek dokusu üzerindeki etkisini, kortikal tübüler hücrelerin bazolateral membrandaki adenil siklaz sisteminin aktivasyonu ile gösterir. PTH etkisi ile siklik AMP (cAMP) hücrelerde ve idrarda artar. Nefrojen cAMP, PTH'nın böbrek üzerindeki aktivite indeksi olarak kullanılmaktadır (7). Pak ve arkadaşları, renal hiperkalsiüride cAMP ekskresyonunun, absorptif forma göre çok daha yüksek olduğunu öne sürmüşlerdir (3). Son yıllarda, Hess ve arkadaşları hiperkalsiüri ile ilişkili böbrek taş hastalığı olanlarda, calcitriol aktivitesinin artması ile ilişkili olarak rölatif hipoparatiroidi tarif etmişlerdir (8). İdiopatik hiperkalsiüride, PTH değişikliklerinin bir neden olmaktan çok, sonuç olup, sekonder olarak ortaya çıktığı ileri sürülmektedir (6).

İdiopatik kalsiürinin etiopatogenezinde, intestinal absorpsiyon artışı ve tübüler reabsorbsiyonda azalma teorilerine ek olarak, kemikten kalsiyum mobilizasyonunun artışı da öne sürülmüştür. Liberman ve arkadaşları idiyopatik hiperkalsiüride kalsiyum havuz boyutunda düşüş olduğunu, kalsiyum turnoverinin ve kemik yapım hızının arttığını bildirmişlerdir (9). Araştırmacılara göre yüksek kalsiyum turnoveri, intestinal hiperabsorbsiyon ve sonuç olarak idrarla kalsiyum hiperekskresyonu, henüz ayırt edilemeyen bir ekstraosseoz hormon dengesizliği ile ilişkilidir.

İdiopatik hiperkalsiürinin renal formunda, kalsiüriye sekonder olarak, olguların kemik dansitesinin azaldığı, absorptif formunda ise kemik dansitesinde bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (10). İdiopatik hiperkalsiüri kalıtsal bir geçiş gösterdiğinden (11), hiperkalsiürinin doğumdan itibaren olduğu ve ilerleyen yaşlarda kemik dansitesinin belirgin şekilde azaldığı öne sürülmektedir (6). (Ancak yanıt bekleyen en önemli soru, hiperkalsiürinin mi kemik metabolizmasının bozulmasına sekonder olduğu yoksa kemik mineralizasyonundaki azalmanın mı hiperkalsiürinin bozulmaya sekonder olarak meydana gelebileceği gibi, kemik mineralizasyonundaki azalma hiperkalsiüriye sekonder olarak da ortaya çıkabilir.

Hiperkalsiürili hastalarda kemik rezorbsiyonunun çeşitli sitokinlerde artış yolu ile olduğu öne sürülmüştür. Bu olgularda IL 1 α , IL2, TNF α düzeylerinde IL 1 α mRNA ekspresyonunda artış olduğu bildirilmiştir (6). Sitokinler genellikle solubl moleküller olup,

hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanırlar ve o hücrelerin proliferasyon, diferansiyon, sekresyon ve migrasyon potansiyellerini etkilerler. Bu faktörler kemik rezorpsiyonunda önemli bir role sahip olabilirler.

a) Sitokinler osteoklast kaynaklı kemik rezorpsiyonunu arttırabilirler. Osteoklastlar progenitor hücrelerden derive olurken M-CSF, GM-CSF ve IL-6'ya gereksinim doğar. Aktive olan osteoblastlar bu sitokinleri salgılayabilir ve böylece yeni osteoklastların olaya katılmasını sağlar.

b) Sitokinler eicosanoidlerin ve özellikle prostaglandin E (PGE)'nin sentezini arttırırlar. PGE kemik rezorpsiyonunu arttıran faktörlerdendir. Kas hücrelerinden ve dermal fibroblastlardan PGE salımında IL-1'in rolü vardır. İdiopatik hiperkalsiürde idrar PGE düzeyi yüksektir.

Prostaglandin sentez inhibitörleri hiperkalsiüri tedavisinde de önerilmiştir. Hiperprostaglandin E sendromu olan çocuklarda hiperkalsiüri, nefrokalsinaz ve osteopeni tanımlanmıştır.

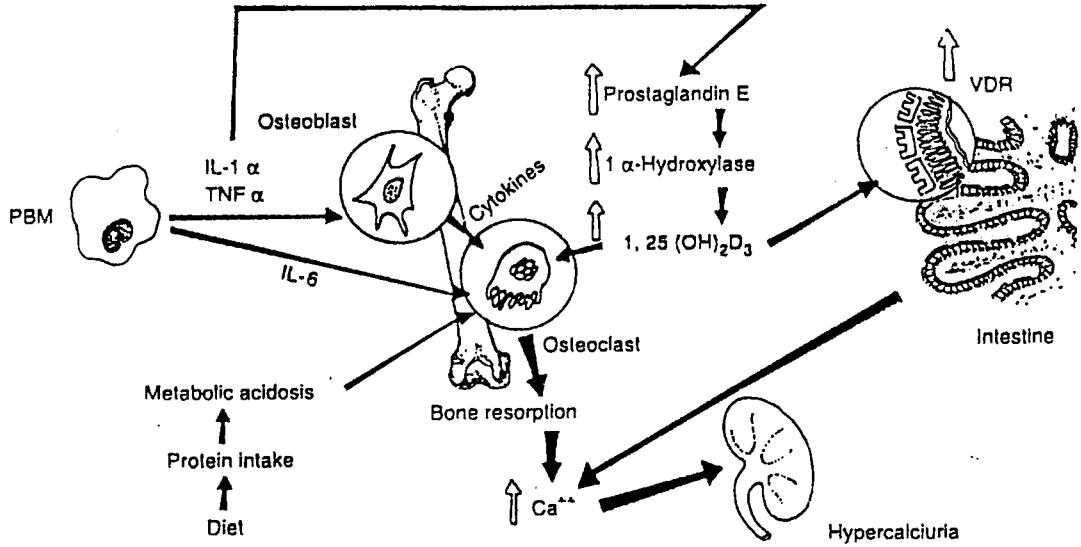
Hiperkalsiüriye yol açan diğer etken, aşırı protein alımına bağlı olarak ortaya çıkan metabolik asidozun kemik rezorpsiyonunu arttırması şeklinde de öne sürülmüştür (12).

İdiopatik hiperkalsiüri genetik olarak saptanabilir. Hiperkalsiürik sıçanlarda intestinal vitamin D reseptörlerinin sayısının yüksek olduğu gözlenmiştir. İdiopatik hiperkalsiürinin, vitamin D reseptörü geninin polimorfizmi ile ilişkisi öne sürülmektedir (6).

Şema 1, hiperkalsiüri patogenezinde geliştirilen hipotezi özetlemektedir.

İDRAR ENZİMLERİ

Rosalki ve Wilkinson'un 1959 yılında idrar laktit dehidrogeneazı düzeyinin böbrek hastalıklarında arttığını göstermelerinden sonra, idrar enzimlerinin böbrek ve üriner sistemle ilişkili hastalıkların tanısında kullanılabileceği öne sürülmüştür. Bugüne kadar 40'dan fazla idrar enzimi tanımlanmıştır. Bu enzimler farklı bölgelerden kaynaklanabilir:



Şema I: Hiperkalsiüri Patogenezi

- 1- İdrardaki lökosit, eritrosit ve bakterilerden,
- 2- Renal parankim dokusundan,
- 3- Proksimal tübüllerden reabsorbe olmamış plazma enzimlerinden kaynaklanmış olabilirler.

Molekül ağırlığı 60000 daltondan büyük olan enzimlerin sağlıklı kişilerde glomerüllerden geçişi son derece güç olup, ancak glomerüler proteinüri olduğunda süzülmeleri mümkündür. Bunun aksine lizozim, ribonükleaz ve amilaz izoenzimleri (molekül ağırlıkları yaklaşık 45000 dalton) ise sağlıklı glomerüllerden geçebilirler. Glomerüllerden geçen enzimler proksimal tübül epiteli tarafından disfonksiyonu olmadığı bir dönemde, plazmada enzim miktarı artacak olursa, bu artışa paralel olarak idrar enzim düzeyinde de yükselme beklenebilir. Buna en iyi örnek, idrar ve plazmada amilazın yükseldiği akut pankreatit tablosudur.

Böbrek dokusundan köken alan idrar enzimleri renal parankimal yapıdaki zedelenmenin göstergesi olarak kullanılmıştır. İdrarda belirli enzimler veya izoenzimlerin varlığı, lezyon bölgesini ortaya çıkarmada kullanılabilir. LDH₁ ve LDH₂ izoenzimlerinin idrardaki düzeyleri alt üriner sistemde enfeksiyon varlığında artarken, LDH₄ ve LDH₅ izoenzimleri renal tutulumla işaret etmektedir. Karbonik anhidraz ve aspartat aminotransferaz (AST) primer olarak kortekste lokalizedir; kortikal bölgedeki proksimal ve distal tübüllerin lezyonlarında idrar düzeyleri yükselmektedir. Genel olarak, glukoneogenik enzimler, β-glucosidaz, katalaz, glutation-S- transferaz ve brush border enzimleri (alkalen fosfataz, alanin aminopeptidaz gibi) proksimal tübüllerde bulunurken, glikolitik enzimler ise distal nefronda lokalize olmaktadır. İdrarda söz konusu enzimlerin yükselmesi, kesin olarak hücre zedelenmesi veya hücre ölümünü ima etmeyebilir. Örneğin lizozomal enzimler hücre zedelenmesi olmaksızın idrarda artabilir. "Brush border" ın bazı bölümleri

ve enzimleri de hücre zedelenmesi olmaksızın idrarla atılabilirler. Bu olaylar genellikle reversibldir. Ancak mitokondrial ve sitozolik enzimler sıklıkla hücre ölümünün göstergesidir.

İdrar enzim aktiviteleri akut tübüler nekroz, renal transplant rejeksiyonu, ilaç nefrotoksisitesi ile renal ve üriner sistem neoplazmlarının tanısında kullanılmaktadır. Pyelonefritin sistitten ayırıcı tanısını yapmak amacı ile de idrar enzimlerinin kullanıldığı bildirilmiştir. Ancak, güncel olarak ilaç uygulamaları sırasında nefrotoksisitenin izlemi için kullanılmaktadır (13-16).

İdrar enzim aktivitelerinin çocukluk yaş grubunda kullanımı sırasında, gelişimsel prolifinden söz edilmiş olup, prematür ve matür yenidoğanlardaki değerlendirmelerde bu yönün de dikkate alınması istenmiştir (17). Ancak, matür yenidoğan dönemi boyunca N-asetil- β -D-glukozaminidaz (NAG) aktivitesinin yaşla değişim göstermediği öne sürülmüştür (18).

N-asetil- β -D-glukoaminidaz (NAG)

NAG hidrolitik bir enzim olup, molekül ağırlığı 130000-140000 dalton arasındadır. Glikozil bileşiklerine etkindir ve farklı dokularda bulunur. Primer olarak, tübüler epitel hücrelerin lizozomal fraksiyonunda ve daha az oranda da mikrozomal fraksiyonda lokalizedir. İdrar dondurulduğunda, enzim aktivitesi günlerce stabil kalır. Böbrek dokusundaki konsantrasyonu, üriner sistemin diğer bölümlerinden çok daha fazladır. Büyük molekülü olduğundan, glomerüllerden filtre olamaz. Bu nedenle, primer olarak tübüler orijinlidir. İlaça sekonder nefrotoksisite ve transplant rejeksiyonunda tanı ve izlem açısından kullanılmaktadır. Siklosporin A (CyA) toksisitesini rejeksiyondan ayırt etmek amacı ile kullanılmaya çalışılmış, ancak her ikisinde de NAG ekskresyonu arttığından, söz konusu antitelerin ayırıcı tanısında kullanılması önerilmemiştir. Akut tübüler nekroz, pyelonefrit, glomerülonefrit, obstrüktif üropati, mesane kanseri, nefrotik sendrom ve nefrotoksik olaylarda NAG ekskresyonu artmaktadır (15, 16, 19, 20). İzole büyüme hormonu yetersizliği olup böbrek hastalığı bulunmayan çocuklarda, rekombinan insan büyüme hormonu (rhGH) uygulaması sırasında NAG ekskresyonunun arttığı gözlenmiştir (21). Ekstrakorporeal şok dalga litotripsinin üriner enzimler üzerindeki etkisi araştırıldığında, NAG düzeyinin ve gama glutamil transpeptidaz (GGT)'in arttığı gözlenmiştir (22, 23).

Tübüler disfonksiyonun izleminde idrar enzimleri ve düşük moleküler ağırlıklı proteinler:

İdrar enzimleri ve düşük moleküler ağırlığı olan proteinler, proksimal tübüldeki küçük değişiklikleri ortaya çıkarmak için sensitif yöntemler olarak önerilmektedir (24). Diğer laboratuvar teknikleri ile patolojik bulgular elde edilmeden önce, idrar enzimleri ve düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin artışının gösterilmesi ile tübüler disfonksiyon erkenden tanınabilmektedir. Söz konusu parametreler, tübüler disfonksiyonu düşündüren glukozüri, fosfatüri, aminoasidüri, proteinüri veya serum kreatinin düzeyindeki yükselmeden çok daha önce idrarda artarak patolojinin öncül bulguları olabilmektedirler.

İdrar enzimleri ve düşük moleküler ağırlıklı proteinleri için "normal değer aralığı" nı tanımlamak güç olduğundan, yöntem rutinde yaygın olarak kullanılmamaktadır. Enzimlerin referans aralığı değerlendirme yöntemlerine göre farklılık göstermektedir (25). Katalitik enzim aktivitelerinin, substrat tipine, substrat konsantrasyonuna, ölçümlerin yapıldığı ortamın sıcaklığına bağlı olarak reaksiyon koşullarından etkilendiği bilinmektedir. Örnek olarak, N-asetil- β -D-glukozaminidaz'ın ölçüm aktivitesi için sekiz ayrı yöntem tanımlanmıştır. Her bir yöntem için normal değerlerin aralığı değişmektedir (26).

Farklı hızlardaki idrar akımı, fiziksel parametrelerdir (27). Diürece bağlı olarak, brush borden enzimleri (alanin aminopeptidaz, alkalin fosfataz, γ -glutamiltransferaz) lizozomal enzimlerden (NGA) daha fazla etkilenirler. Brush border enzimleri, proksimal tübül epitelinde hücre membranının yüzeyinden kaynaklandıklarından, diürezden etkilenmeleri daha kolay olmaktadır. Enzimünün biyoritmden kaynaklanacak farklılıklarını gidermek amacı ile 24 saatlik idrar volümlerinde enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi önerilmektedir. Ancak, 24 saatlik dönemde elde edilen idrardaki enzim aktivitesinin stabilitesini korumak oldukça güç olduğundan, enzimüri çalışmalarında rutin aktivitelerde faydalanmak pek mümkün olmamaktadır. Diürez nedeni ile ortaya çıkan enzimüri farklılıklarını da gidermek için, değerler kreatinin ekskresyonuna göre ifade edilmektedir. Enzim aktivitesinden söz edilirken, enzimüri/kreatinüri oranları kullanılmaktadır.

Diabetes Mellitus ve Kalsiüri:

Diabetes mellitusta glikozüri ile kalsiüri arasında ilişki olduğu bilinmektedir (28, 29). Diabetes mellitustaki hiperkalsiürinin paratiroid stimülasyonu sonucu osteopeni yapabileceği öne sürülmüştür (29). Diabetes mellituslu çocuklarda büyüme geriliğinde glikozüriye sekonder hiperkalsiüri ve hiperfosfatürinin rolü olabileceği bildirilmiştir(30). Malone ve arkadaşları diabetik çocuklarda nondiabetiklere göre daha sık görülen hiperkalsiürinin renal patolojilerin gelişmesine katkıda bulunduğunu öne sürmüştür (31).

GİRİŞ

N-asetil β -D glukozaminidaz (NAG), büyük moleküler ağırlıklı, proksimal renal tübül hücrelerindeki lizozomal enzimdir. Glomerüllerden filtre olamamakta, ancak filtrat proksimal tubullerden ilerlerken, tübül epitel hücrelerinden filtrata geçebilmektedir. Proksimal tübüllerde herhangi bir hastalık veya nefrotoksik ajanla bir zedelenme ortaya çıkarsa, idrarda NAG aktivitesi yüksek bulunmaktadır (32). Öte yandan diabetik nefropati gelişirken NAG aktivitesinin arttığı gösterilmiştir(39,40).

Sağlıklı çocuklarda glomerüler filtratta bulunan kalsiyumun %40'ı proksimal, %50'si henle kulbu, %9'u da distal tübülllerden reabsorbe olmaktadır (34).

Komplikasyon gelişmemiş "İdiopatik (genetik) hiperkalsiüri" de, konvansiyonel yöntemlerle renal tübüler fonksiyonlar değerlendirildiğinde hiperkalsiüri dışında herhangi bir patoloji ayırt edilmektedir (35. 36, 37).

Böbrek taş hastalığı ve nefrokalsinozis komplikasyon olarak bildirilmiş olmasına karşın, idiyopatik hiperkalsiürinin prognozu hakkındaki bilgiler henüz açıklık kazanmamıştır (1, 3, 20).

İnsüline bağlı diabetes mellitus(IDDM) ile ilişkili nefropatinin değerlendirilmesi amacı ile bugüne dek yapılan çalışmalarda mikroalbuminüri, kalsiüri ve idrar NAG aktiviteleri ayrıntılı olarak araştırılmıştır (30, 38, 39, 40). IDDM'deki kalsiürinin glikozüriye sekonder geliştiği bildirilmiştir(30, 42).

AMAÇ

İatrojenik, diabetik ve idiyopatik hiperkalsiüride idrardaki NAG aktiviteleri değerlendirildiğinde hiperkalsiüri ile idrar NAG aktiviteleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

BÖLÜM I

Bu bölümde çalışma grubuna yedi tane erkek beyaz Yeni Zelanda tavşanı (*Orytolagus Cuniculus*) oluşturdu. Çalışmaya alınan tavşanlar daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış ve sağlıklı olup, araştırmanın başlangıcında ve sonunda ağırlıkları tartıldı. Yedi tavşana hiperkalsiüri oluşturulmak üzere 14 gün boyunca 20000U/kg/gün D3 vitamini ve 75 mg/kg/gün elementer kalsiyum içerecek şekilde kalsiyum glukolaktobionat oral olarak verilirken, yedi tavşan kontrol olarak ele alındı ve plasebo verildi. Tavşanların beslenmeleri günlük ihtiyaçlarına göre düzenlendi. Tedavinin başlangıcında ve sonunda alınan venöz kan örneklerinde kan üre nitrojeni BUN, kreatinin, kalsiyum, fosfor ve alkalen fosfataz (ALP) düzeyleri DACOS XL otoanalizöründe spektrofotometrik yöntemle kalibratör kullanarak ve her çalışmada kontrol serumları (Coulter, Level 1, Level 2) denenerk gerçekleştirildi. Buna göre serumda; üre nitrojeninin saptanması, modifiye Talke ve Schubert'in üreaz yöntemi ile, absorbansının 340 nm'de (43), inorganik fosfor saptanması fosfat iyonlarının, amonyum molibdat ile oluşturulduğu fosfomolibdat kompleksinin absorbansının 340 nm'de (44), kreatinin saptanması, kreatinin ve pikrik asidin alkalen ortamda oluşturduğu kompleksinin absorbansının 492 nm'de (45), alkalen fosfataz saptanması, Modifiye Bowers ve Mc Comb'un p-nitrofenil fosfat yöntemi ile 420 nm'de (46), kalsiyum saptanması, metil timolün indikatör olarak kullanıldığı yöntem ile, absorbansın 612 nm'de (47) spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi ile gerçekleştirildi. Aynı dönemlerde 24 saatlik idrarlar toplanarak kreatinin, kalsiyum, inorganik fosfor, N-asetil β -D glukozaminidaz (NAG) aktivite düzeyleri ölçüldü. 24 saatlik idrar örneklerinden 10 cc ayrılarak, 500 devir/dakika'da beş dakika santrifüj edilip, hiperkalsiürinin oluşturduğu bulanıklık uzaklaştırıldıktan sonra, kreatinin ve inorganik fosfor saptanması serum için kullanılan yöntem ile, protein saptanması biüre yöntemi ile DACOS XL otoanalizöründe gerçekleştirildi. Santrifüjlenmemiş idrar örneklerindeki bulanıklık kaynağı olan inorganik elementler 0.1 N HCl ile çözündürülüp, idrar pH'sı 3-4 arasına düşürüldükten sonra, kalsiyum saptanması serum için kullanılan yöntem ile gerçekleştirildi. İdrar NAG aktivite düzeyleri, 3-cresolsulfonphthaleinyl N-acetyl- β -D-glucosaminide sodyum tuzu, NAG ile hidrolize edildikten sonra açığa çıkan 3- cresolsulfonphthalein sodyum tuzunun absorbansı 580 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek saptandı (48).

Tüm tavşanların endojen kreatinin klirensi, tubuler fosfor reabsorpsiyonu hesaplandı. Tavşanların uygulama sonrasında tüm vücut grafileri çekilerek nefrokalsinozis ve metastatik kalsifikasyon yönünden değerlendirildi. Çalışma sonunda tüm tavşanlara servikal dislokasyon uygulanarak her iki böbreğin histopatolojik değerlendirilmesi yapıldı. Histopatolojik inceleme tavşanlara yapılan uygulamaları bilmeyen patologlar tarafından

gerçekleştirildi. Preparatlar hemotoksilen eosin ve kalsiyum depozitlerini göstermek üzere von Kossa boyası ile boyanarak incelendi. Kalsiyum birikimi glomerülde, proksimal, distal tübüllerde ve vasküler yapılarda birikimin miktarına göre değerlendirildi.

Çalışma başlangıcında ve sonunda parametrelerin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi, parametreler arasındaki ilişkinin araştırılmasında korelasyon analizi uygulandı. Parametrelerin ortalamaları, ortalama \pm SE olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirmede Stat View paket programı kullanıldı.

BÖLÜM II

Bu bölümde, absorptif hiperkalsiüri tanısı alan; normokalsemik, böbrek taş hastalığı ve/veya nefrokalsinozisi bulunmayan, böbrek fonksiyon testleri normal 10 çocuk çalışma grubunu, benzer özellikleri taşıyan ancak idrar kalsiyum ekskresyonu normal olan 14 çocuk da kontrol grubunu oluşturmuştur.

Böbrek taşı hastalığı ve nefrokalsinozis batının ultrasonografik olarak incelenmesi sırasında araştırılmıştır. Olgularda araştırma sırasında herhangi bir ilaç alım öyküsü bulunmamıştır. Tümü asemptomatik olup, tarama sırasında ortaya çıkartılmıştır. Günlük idrar kalsiyum ekskresyonu 4 mg/kg/gün'ün üzerinde olduğunda hiperkalsiüri kabul edilmiştir. Absorptif hiperkalsiüri tanısının konulması için hiperkalsiüri hastalara yedi gün süre ile kalsiyum ve sodyumdan kısıtlı diyet (2000 mg/gün sodyum, 300 mg/gün kalsiyum) uygulanmış ve idrar kalsiyum ekskresyonları bu uygulama sonrasında tekrar değerlendirilerek hiperkalsiürinin kaybolması halinde hastalar "absorptif form idiyomatik hiperkalsiüri" grubuna alınmıştır (33).

Çalışmanın bu bölümünde de NAG aktiviteleri için bölüm I'de belirtilen yöntem kullanılmıştır. İdrar kalsiyumu O-cresol fitalein yöntemi ile RA-1000 otoanalizöründe kolorimetrik olarak belirlendi. Çalışmaya alınan tüm olgularda böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için kan üre nitrojeni (BUN), serum elektrolitleri (sodyum, potasyum, klor, kalsiyum, fosfor), serum alkalin fosfataz, endojen kreatinin klirensi, rutin idrar analizi, idrar osmolaritesi, kan ve idrar pH, arteriyel kan gazları, idrar aminoasit kromatografisi, fraksiyonel sodyum ekskresyonu ve tübüler fosfor reabsorpsiyonu ölçülmüştür. Hiperkalsiüri olgularda ayrıca kan (intakt paratroid hormon) iPTH ve kemik mineral dansitometrisi değerlendirilmiştir. İntakt paratiroid hormon N-terminal elde edilen kan örneklerinde radyoimmün assay ile değerlendirilmiştir. Kemik mineral dansitometrisi L2-L4 vertebradan alınan ölçümlerle tayin edilmiştir. Böbrek fonksiyon testlerinin tayininde olguların aç olduğu dönemde elde edilen kan örnekleri ve 24 saatlik idrar volümleri kullanılırken, idrar pH ve osmolaritesi için sabah elde edilen ilk idrar örneklerinden

yararlanılmıştır. Söz konusu parametrelerin ölçümü standart laboratuvar yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir.

$$\text{Endojen kreatinin klirensi (ml/dk/1.73m2)} = \frac{\text{idrar kreatinin (mg/dl) konsantrasyonu}}{\text{plazma kreatinin (mg/dl) konsantrasyonu}} \times \frac{24 \text{ saatlik idrar volümü (ml)}}{1440} \times \frac{1.73 \text{ m2}}{\text{vücut yüzeyi (m2)}}$$

$$\text{Fraksiyonel sodyum ekskresyonu (\%)} = \frac{\frac{\text{idrar sodyum konsantrasyonu}}{\text{idrar kreatinin konsantrasyonu}}}{\frac{\text{plazma sodyum konsantrasyonu}}{\text{plazma kreatinin konsantrasyonu}}} \times 100$$

$$\text{Tübüler fosfor reabsorpsiyonu (\%)} = 1 - \frac{\frac{\text{idrar fosfor konsantrasyonu}}{\text{idrar kreatinin konsantrasyonu}}}{\frac{\text{plazma fosfor konsantrasyonu}}{\text{plazma kreatinin konsantrasyonu}}} \times 100$$

formülleri ile hesaplanmıştır.

Bölüm II'deki istatistiksel değerlendirmeler için Mann-Whitney U testi ve korelasyon analizinden yararlanılmış, parametrelerin ortalamaları, ortalama değer \pm SE şeklinde verilmiştir. Değerlendirmede Stat View paket programı kullanılmıştır.

BÖLÜM III

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında IDDM tanısı ile izlenen böbrek fonksiyon testleri normal olan hastalar çalışma grubunu oluşturdu. Hastaların tümü komplikasyonsuz IDDM tanısı ile izlenmekte idi. Çalışma grubunu BUN, serum elektrolitleri, alkalin fosfataz, rutin idrar analizi, idrar ve kan osmolalitesi, idrar pH'sı, arteriyel kan gazı, endojen kreatinin klirensi, C peptid ve HbA1c düzeyleri ölçüldü. İdrar NAG aktivitesi ve kalsiyum düzeyi için bölüm I'de bildirilen yöntem kullanıldı. Mikroalbumin, immunonefelometrik Beckman Array Protein sistemi kullanılarak belirlendi. Kontrol grubunu herhangi bir endokrin ve nefrolojik sorunu bulunmayan hastalar oluşturdu.

Bölüm III'de istatistiksel yöntem olarak grupların ortalamalarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, ortalamalar arası ilişkinin araştırılması için lineer korelasyon analizi kullanıldı. Değerler ortalama \pm SD olarak alınıp $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

BÖLÜM I

Çalışma başlangıcında ağırlıkları 1750 ± 175 g olan tavşanların çalışma sonunda ağırlıkları 1680 ± 140 g olup, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$). Kontrol grubundaki olguların plasebo öncesi ağırlıkları 1800 ± 183 g iken sonrası ağırlık 1765 ± 178 g idi, aralarında anlamlı fark yoktur ($p > 0.05$). Çalışma ve kontrol grubunda benzer aşamalardaki ağırlıklar da istatistiksel olarak farklı bulunmadı ($p > 0.05$). Tavşanların çalışma başlangıcında ve sonundaki serum ile 24 saatlik idrar biyokimyasal parametreleri ve endojen kreatinin klirensi ile tübüler fosfor reabsorpsiyonu düzeyleri ve uygulama sonrası böbrek histopatolojik bulguları Tablo 1'de görülmektedir. Kontrol grubunun sonuçları Tablo II'de özetlendi.

Çalışma başlangıcı ve sonunda BUN, serum kreatinin, kalsiyum, inorganik fosfor, ALP düzeyleri endojen kreatinin klirensi karşılaştırıldığında (Tablo III) kreatinin ($p = 0.05$), endojen kreatinin klirensi ($p = 0.05$), BUN ($p > 0.01$) ve protein ($p > 0.1$) düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Serum kalsiyumu ($p \leq 0.025$), inorganik fosfor ($p < 0.05$) önemli ölçüde yükselirken, ALP ($p < 0.05$) düzeylerindeki düşüş istatistiksel olarak anlamlı idi.

Yirmidört saatlik idrarda biyokimyasal parametreler karşılaştırıldığında (Tablo III) kreatinin ($p > 0.01$) ve protein ($p > 0.4$) düzeylerindeki fark önemli değil iken, kalsiüri ($p < 0.05$) ve NAG ($p < 0.01$) düzeyleri ilaç uygulamasından sonra önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. NAG/kreatinin oranı çalışma sonunda önemli artış gösterirken ($p < 0.01$) tübüler fosfor reabsorpsiyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Biyokimyasal parametreler arasındaki ilişkiler incelendiğinde idrar NAG/kreatinin oranı ile kalsiüri arasında önemli ilişki saptandı ($r = 0.67$, $p < 0.05$) (Şekil 1).

Çalışma sonunda elde edilen tüm vücut grafilerinde nefrokalsinozis ve metastatik kalsifikasyon izlenmemiştir (Şekil 2).

Tavşanlardan elde edilen böbreklerin von Kossa boyası ile yapılan histopatolojik incelemesinde (Tablo 1) tavşanların altısında glomerülde (Şekil 3), Bowman kapsülü, proksimal, distal tüplerde ve vasküler yapılarda (Şekil 4) kalsiyum birikimi saptanırken bu kalsifikasyonların daha çok kortikal bölgede yerleştiği, meduller yerleşimin az olduğu (Şekil 5) dikkati çekmiştir. D3 vitamini ve kalsiyum uygulanan bir tavşan ile kontrol olarak plasebo verilen tavşanda doku düzeyinde kalsiyum birikimi gözlenmemiştir. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde hiç bir tavşanda kalsiyum birikimi saptanmamıştır.

Kontrol grubunun plasebo öncesi ve sonrası parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Kontrol grubunda plasebo öncesinde ortalama serum kalsiyum, fosfor, alkalin fosfat ve günlük kalsiyum ekskresyon düzeyleri sırası ile

10.6± 1.2 mg/dl, 4.9±0.8 mg/dl, 140.7±49.3 IU/L, ve 18.4±9.6 mg/kg/gün olup; plasebo sonrasında ise sırası ile 10.4±1.1 mg/dl, 4.3±0.7 mg/dl, 146.6±50.3 IU/L ve 21.4±7.6 mg/kg/gün olarak elde edildi(Tablo III,IV).

Çalışma grubunda tedavi sonucunda elde edilen serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz ve idrar NAG/kreatinin ve kalsiüri düzeyleri kontrol grubundaki plasebo sonrasındaki değerlerden anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$)(Tablo III, IV).



Tablo I: Tavşanların uygulama öncesi ve sonrası serum ve 24 saatlik idrar biyokimyasal değerleri ile uygulama sonrası böbrek histopatolojik bulguları

Olgular	1		2		3		4		5		6		7	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra
BUN(mg/dl)	14	18	16	18	19	21	22	16	22	16	23	14	18	15
Serum kreatinin (mg/dl)	1.3	1.6	1.2	1.2	1.0	1.1	1.6	1.9	1.3	1.5	1.4	1.3	1.0	1.1
Serum protein (g/dl)	7.0	5.7	6.7	6.8	5.6	6.2	5.9	6.4	7.5	7.0	7.2	6.4	6.3	6.1
Serum kalsiyum (mg/dl)	13.0	12.3	11.1	11.0	8.1	10.0	10.0	12.7	11.5	14.0	11.5	13.0	10.1	12.1
Serum inorganik fosfor (mg/dl)	5.8	5.7	4.8	6.5	5.0	6.3	3.9	6.8	4.2	6.4	4.5	8.0	4.5	7.5
Alkalen fosfataz (IU/L)	144	48	151	82	167	107	132	56	83	43	60	35	235	120
İdrar protein (mg/dl)	1.4	1.8	0.5	1.1	1.1	0.7	0.8	0.4	0.7	1.1	0.6	0.6	1.2	0.2
Kalsiüri (mg/kg/gün)	7.0	46.6	28.7	36.4	25.4	61.4	28.2	41.8	27.4	35.5	25.4	17.9	14.2	88.6
İdrar NAG (U/L)	0.2	21.5	0.7	12.5	0.1	2.8	0.7	4.0	3.4	5.8	1.3	14.5	1.3	12.9
İdrar NAG/kreatinin (mu/mg)	0.07	7.7	0.68	6.7	0.12	1.2	0.37	1.7	1.19	2.1	0.61	6.2	0.6	12.0
Tubuler fosfor reabsorbsiyon (%)	91.4	60.0	93.2	61.5	93.4	83.0	85.2	74.5	85.0	88.0	78.5	86.0	76.0	84.0
Endojen kreatinin klirensi (ml/dl)	1.6	2.0	2.0	2.9	2.7	4.6	2.4	3.0	4.6	4.1	2.9	3.9	4.7	4.5

Böbrek histopatolojisi	Glomerül, Bowman kapsülü, proksimal tubul ve vasküler yapılarda yoğun kalsiyum birikimi	Glomerül, Bowman kapsülü proksimal tubul ve vasküler yapılarda hafif derecede kalsiyum birikimi	Glomerül ve Bowman kapsülünde orta derecede, proksimal tubul ve vasküler yapılarda hafif derecede kalsiyum birikimi	Glomerül ve Bowman kapsülünde orta derecede, proksimal tubüllerde hafif, distal tubüllerde ve vasküler yapılarda orta derecede kalsiyum birikimi	Kalsiyum birikimi saptanmadı	Glomerülde yoğun, proksimal tubüllerde ve vasküler yapılarda orta derecede kalsiyum birikimi	Glomerülde orta derecede Bowman kapsülünde yoğun, proksimal tubul ve vasküler yapılarda yoğun kalsiyum birikimi
------------------------	---	---	---	--	------------------------------	--	---

Tablo II: Kontrol grubundaki tavşanların plasebo öncesi ve sonrası serum ve 24 saatlik idrar biyokimyasal değerleri ile uygulama sonrası böbrek histopatolojik bulguları

Olgular	Kontrol 1		Kontrol 2		Kontrol 3		Kontrol 4		Kontrol 5		Kontrol 6		Kontrol 7	
	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra
BUN(mg/dl)	13.0	14.0	17.0	15.0	19.0	17.0	21.0	14.0	20.0	19.0	20.0	22.0	14.0	19.0
Serum kreatinin (mg/dl)	1.1	1.1	1.0	1.1	1.1	1.6	1.0	1.4	1.1	1.1	1.8	1.5	1.5	1.3
Serum protein (g/dl)	5.5	5.6	7.2	6.3	6.6	5.6	6.7	6.8	6.3	6.7	6.3	6.5	6.4	6.8
Serum kalsiyum (mg/dl)	12.7	11.9	10.7	8.3	10.6	10.4	8.0	10.2	11.0	10.4	10.8	11.3	10.4	10.6
Serum inorganik fosfor (mg/dl)	5.4	5.9	5.4	3.9	5.4	4.0	3.8	3.9	3.8	4.2	5.3	4.2	5.4	4.0
Alkalin fosfataz (IU/L)	68	74	147	181	112	107	123	147	227	231	167	145	141	141
İdrar protein (mg/dl)	0.40	0.40	0.65	1.12	0.72	0.78	0.72	0.72	1.20	1.60	0.70	0.58	0.68	1.10
Kalsiüri (mg/kg/gün)	36.5	27.6	5.4	20.2	12.2	8.3	18.6	25.2	22.5	14.0	16.6	27.2	17.2	27.4
İdrar NAG (U/L)	1.70	3.20	3.60	1.50	1.80	0.20	0.80	1.50	1.70	1.40	1.65	1.20	1.80	1.50
İdrar NAG/kreatinin (mu/mg)	0.10	0.10	0.40	0.40	0.20	0.90	0.30	0.55	0.40	0.50	1.10	0.80	0.30	0.40
Tubuler fosfor reabsorbsiyon (%)	92.0	83.5	89.0	70.4	72.0	97.6	86.4	88.0	88.6	96.1	95.6	83.2	87.0	79.1
Endojen kreatinin klirensi (ml/dl)	3.7	4.1	1.7	2.4	4.5	2.6	3.9	4.6	3.6	4.2	2.1	3.7	2.9	3.6
Böbrek histopatolojisi	Kalsiyum birikimi saptanmadı		Kalsiyum birikimi saptanmadı		Kalsiyum birikimi saptanmadı		Kalsiyum birikimi saptanmadı		Kalsiyum birikimi saptanmadı		Kalsiyum birikimi saptanmadı		Kalsiyum birikimi saptanmadı	

Tablo III: Çalışma başlangıcı ve sonunda verilerin karşılaştırılması

	Grup A Çalışma başlangıcında	Grup A Çalışma sonunda	Grup B Çalışma başlangıcında	Grup B Çalışma sonunda
	Ortalama \pm SD	Ortalama \pm SD	Ortalama \pm SD	Ortalama \pm SD
Ağırlık (g)	1750 \pm 175 (1550-1970)	1680 \pm 140 (1580-1840)	1690 \pm 150 (1530-1900)	1730 \pm 190 (1590-1930)
BUN (mg/dl)	19.1 \pm 3.4 (14.0-23.0)	16.9 \pm 2.3 (14.0-21.0)	17.7 \pm 3.1 (13.0-21.0)	17.1 \pm 3.0 (14.0-22.0)
Kreatinin (mg/dl)	1.3 \pm 0.2 (1.0-0.2)	1.4 \pm 0.3 (1.1-1.9)	1.2 \pm 0.3 (1.0-1.8)	1.3 \pm 0.2 (1.1-1.6)
Protein (g/dl)	6.6 \pm 0.7 (7.5-5.6)	6.3 \pm 0.4 (5.7-7.0)	6.4 \pm 0.5 (5.5-7.2)	6.3 \pm 0.5 (5.6-6.8)
Kalsiyum (mg/dl)	10.8 \pm 1.5 ^a (8.1-13.0)	12.2 \pm 1.3 ^c (10.0-14.0)	10.6 \pm 1.2 (8.0-12.7)	10.4 \pm 1.1 (8.3-11.9)
Fosfor (mg/dl)	4.6 \pm 0.6 ^b (3.9-5.8)	6.7 \pm 0.7 ^c (5.7-8.0)	4.9 \pm 0.8 (3.8-5.4)	4.3 \pm 0.7 (3.9-5.9)
Alkalen fosfataz (U/L)	138.8 \pm 57.1 ^b (60.0-235.0)	70.1 \pm 33.2 ^c (48.0-120.0)	140.7 \pm 49.3 (68.0-227.0)	146.0 \pm 50.3 (74.0-231.0)
Endojen kreatinin kirensi (m/dakika)	2.9 \pm 0.2 (1.6-4.7)	3.7 \pm 0.7 (3.0-4.6)	3.2 \pm 1.0 (1.7-4.5)	3.6 \pm 0.8 (2.4-4.6)

a:Grup A'da çalışma başlangıcı ve sonu karşılaştırıldığında, p<0.025

b:Grup A'da çalışma başlangıcı ve sonu karşılaştırıldığında, p<0.05

c:Çalışma sonunda Grup A ve Grup B karşılaştırıldığında, p< 0.05

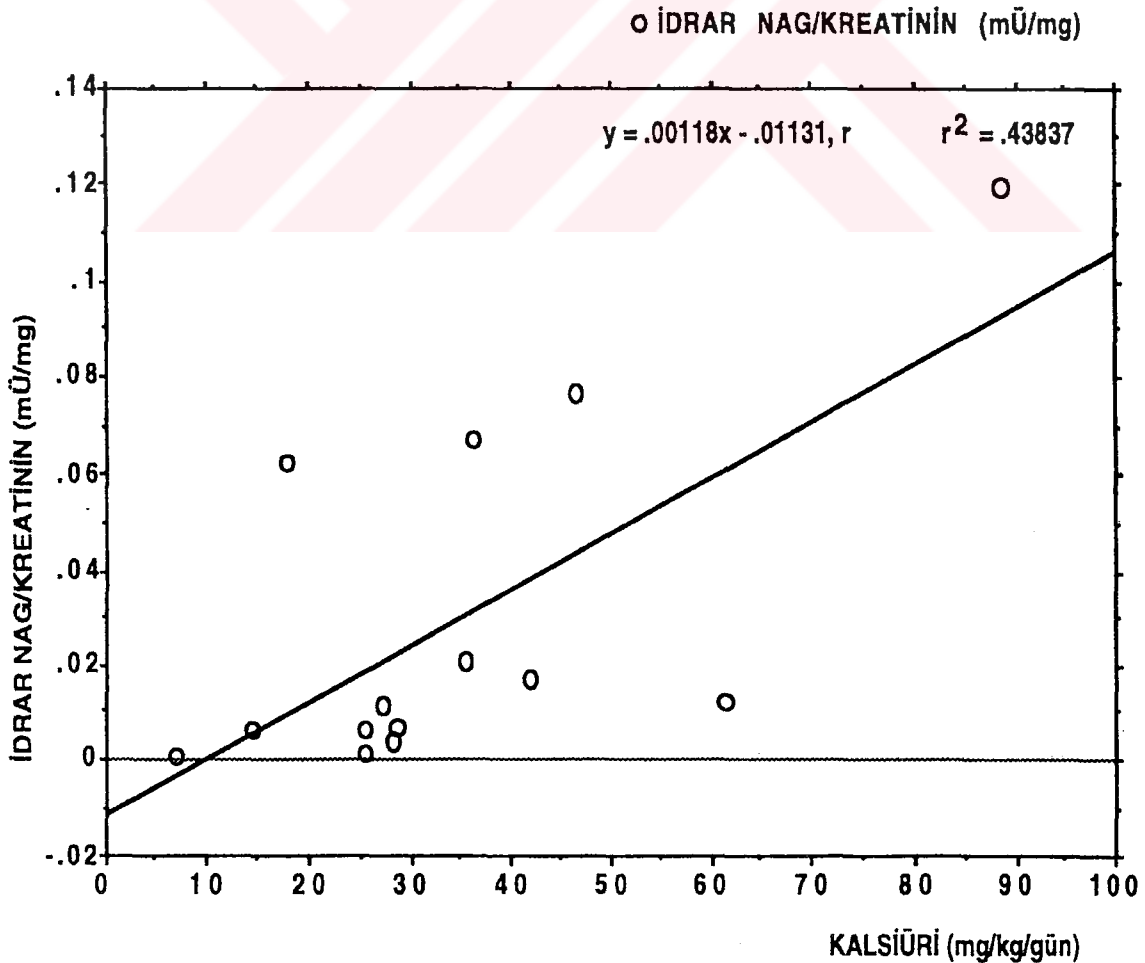
Tablo IV: Çalışma başlangıcı ve sonunda verilerin karşılaştırılması

	Grup A	Grup A	Grup B	Grup B
	Çalışma başlangıcında	Çalışma sonunda	Çalışma başlangıcında	Çalışma sonunda
	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD
İdrar proteini (mg/dl)	0.9±0.3 (0.5-1.4)	0.8±0.5 (0.2-1.8)	0.7±0.2 (0.4-1.2)	0.9±0.4 (0.4-1.6)
NAG (U/L)	1.1±0.4 ^a (0.1-3.4)	10.5±2.5 ^c (2.8-21.5)	1.7±0.6 (0.8-3.6)	1.5±0.8 (0.2-3.2)
NAG/ kreatinin (mU/mg)	0.5±0.1 ^a (0.07-1.19)	5.4±1.5 ^c (1.2-12.0)	0.4±0.1 (0.1-1.1)	0.5±0.1 (0.1-0.9)
TPR (%)	86.9±6.9 (76.0-93.4)	76.7±11.7 (60.0-88.0)	87.2±7.4 (72.0-95.6)	85.4±9.5 (70.4-97.6)
Kalsiüri (mg/kg/day)	22.3±8.3 ^b (7.0-28.7)	46±22.5 ^c (17.9-88.6)	18.4±9.6 (5.4-36.5)	21.4±7.6 (8.3-27.6)

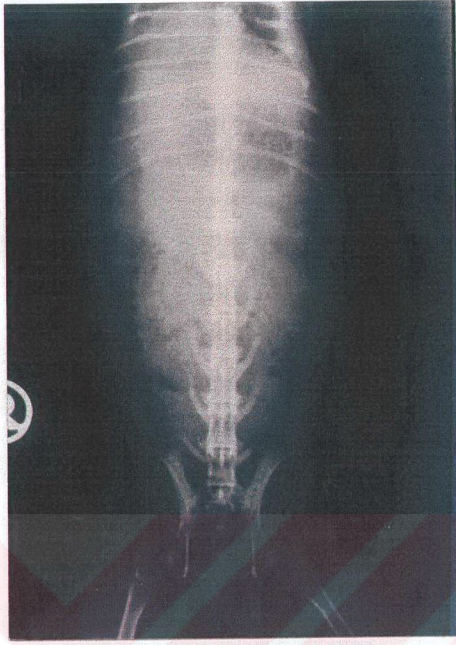
a: Grup A'da çalışma başlangıcı ve sonu karşılaştırıldığında, p<0.01

b: Grup A'da çalışma başlangıcı ve sonu karşılaştırıldığında, p<0.05

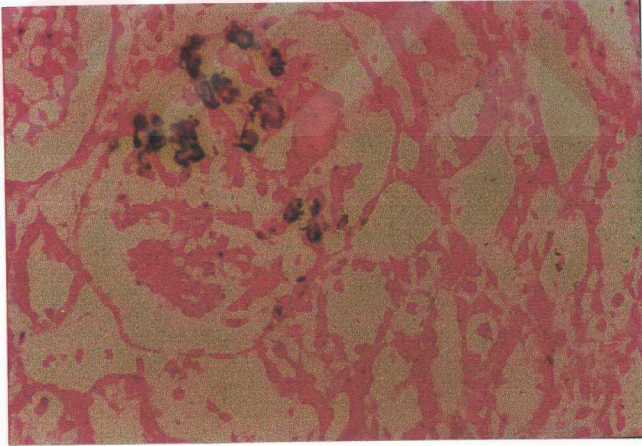
c: Çalışma sonunda Grup A ve Grup B karşılaştırıldığında, p< 0.05



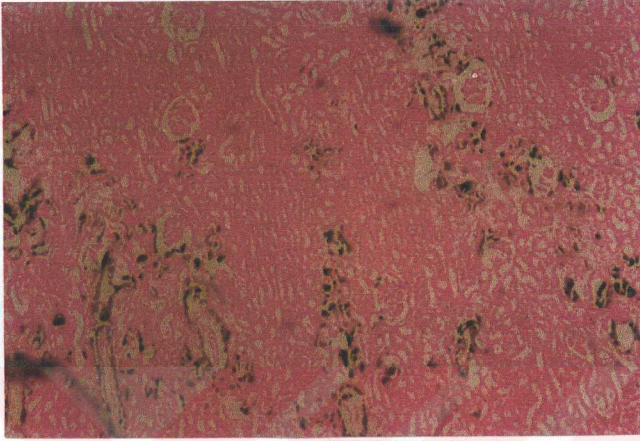
Şekil 1: İdrar NAG/kreatinin oranı ile kalsiüri arasındaki ilişki (r:0.7, p<0.05)



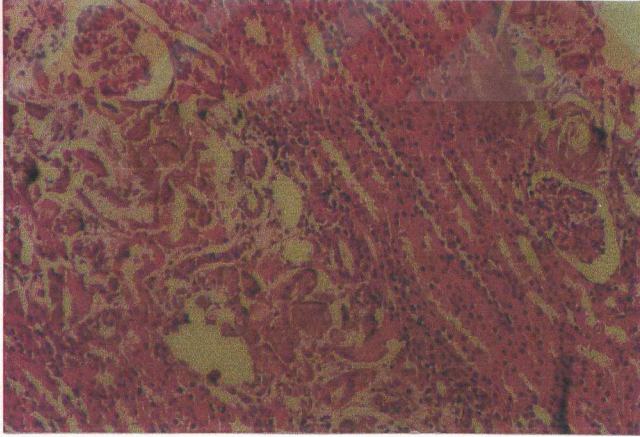
Şekil 2: Altı numaralı tavşanın uygulamadan sonraki tüm vücut grafisi



Şekil 3: Glomerülde kalsiyum birikimi (von Kossa X400)



Şekil 4: Glomerül, Bowman kapsülü, tübul ve vasküler yapılar da kalsiyum birikimi (von Kossa X100)



Şekil 5: Kortekste proksimal ve distal tübüllerde, Bowman kapsülünde yoğun kalsiyum birikimi ile birlikte medulla tutulumun daha az olduğu izlenmektedir(HEX200)

BÖLÜM II

Çalışma ve kontrol gruplarını oluşturan olguların endojen kreatinin klirensi, fraksiyonel sodyum ekskresyonu, tübüler fosfor reabsorbsiyonu ve böbrek fonksiyonlarının diğer test sonuçları tablo V'de özetlenmiş olup tümü doğal sınırlar içinde bulundu.

Absorptif hiperkalsiüri grubundaki olguların İPTH düzeyleri ortalama $1,8 \pm 0,2$ pmol/L olup kemik mineral değerleri ile birlikte normal sınırlarda saptandı.

Absorptif hiperkalsiüri grubunu oluşturan olguların yaş ortalaması $5,9 \pm 1,1$ yıl, kontrol grubunun $5,4 \pm 1,2$ yıl olup, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p < 0,37$).

Çalışma grubunda kalsiüri düzeyi ortalaması $5,88 \pm 1,67$ mg/kg/gün iken, kontrol grubunda $1,54 \pm 0,74$ mg/kg/gün olarak bulunmuştur. Aynı zamanda iki değer absorptif hiperkalsiüri grubunda $2,5 \pm 0,9$ mU/mg, kontrol grubunda ise $11,6 \pm 5,3$ mU/mg olarak elde edilmiş, iki değer arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0,05$) (Tablo VI)

Kalsiüri düzeyleri ile NAG/Kreatinin arasındaki ilişki araştırıldığında, iki parametre arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($r:0,12$, $p > 0,05$).

Tablo V: Absorptif formdaki idiopatik hiperkalsiüri ve kontrol grubu olgularının böbrek fonksiyonel testlerinin sonuçları

	Absorptif form* İdiopatik hiperkalsiüri grubu	Kontrol*
BUN (mg/dl)	18.0±2.1	15.0±3.2
Sodyum (mmol /L)	138.0±7.2	141.0±3.1
Potasyum (mmol /L)	4.1±1.1	3.9±2.1
Klorür (mmol /L)	101.0±3.1	109±3.8
Kalsiyum (mmol /L)	2.2±0.2	2.3±0.1
Fosfor (mg /dl)	4.5±0.5	5.1±0.6
Alkale fosfat (U /L)	125±11	141±15
Endojen Kreatinin Klirensi (ml/dk/1.73 m ²)	98±12	102±14
İdrar Osmalitesi mOsm/kg H ₂ O	405±27	450±35
Kan pH	7.38±0.02	7.40±0.03
İdrar pH	4.5±0.5	4.0±0.8
CO ₂	21.4±1.4	19.8±1.9
Fraksiyonel sodyum ekskresyonu (5)	1.20±0.05	1.10±0.04
Tübüler fosfor reabsorbsiyonu (%)	94.0±5.1	90.0±7.5

Değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamamıştır.

Tablo VI: Absorptif form idiopatik hiperkalsiüri ve kontrol grubu idrar NAG / kreatinin sonuçlarının karşılaştırılması.

	Absorptif formda idiopatik hiperkalsiüri (=10)	Kontrol (n=14)	P
Yaş (yıl)	5.9 ± 1.1	5.4 ± 1.2	> 0.375
Kalsiüri (mg/kg/gün)	5.88 ± 1.67	1.54 ± 0.74	≤ 0.0005
NAG / kreatinin (mÜ/mg)	2.5 ± 0.9	11.6 ± 5.3	> 0.05

BÖLÜM III

Çalışmanın bu kısmında yaş ortalamaları 11.8±3.9 olan sekizi erkek onu kız toplam 18 hasta çalışma grubu olarak, yaş ortalamaları 10.4±2.7 olan altısı erkek sekizi kız toplam 14 hasta kontrol grubu olarak kullanıldı. IDDM'li olgularla kontrol grubu yaş ortalamaları karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değil idi ($p>0.05$). Hasta grup ile kontrol grubu glikozüri ve kalsiüri değerleri karşılaştırıldığında aradaki fark anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Tablo VII). IDDM'li hastaların sekizinde kalsiüri değerleri 4.0 mg/kg/gün'ün üzerinde idi. Hastaların hiçbirinde patolojik düzeyde albuminüri saptanmadı. Diabetes mellitusun süresi ortalama 4.6±0.6 yıl idi. Hasta grup ile kontrol grubu mikroalbuminüri ve NAG/kreatinin oranları arasında fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo VII). Çalışma grubunda glikozüri ile kalsiüri ($r:0.4$, $p<0.05$), glikozüri ile mikroalbuminüri ($r:0.4$, $p<0.05$) arasında anlamlı ilişki vardı. HbA1c ile glikozüri, mikroalbuminüri, NAG/kreatinin, kalsiüri arasında ilişki bulunmadı. Kontrol grubunda glikozüri ile kalsiüri ve glikozüri ile mikroalbuminüri arasında anlamlı ilişki elde edilmedi ($p>0.05$). Ayrıca çalışma grubunda NAG/kreatinin ile kalsiüri ve NAG/kreatinin ile mikroalbuminüri arasında anlamlı ilişki yoktu ($p>0.05$). Kontrol grubunda da kalsiüri ile NAG/kreatinin ve kalsiüri ile mikroalbuminüri arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0.05$).

TABLO VII: IDDM'li ve kontrol grubu hastaların glikozüri, NAG/kreatinin, mikroalbuminüri ve kalsiüri değerleri

	Glikozüri (mg/gün)	NAG/kreatinin (U/mg)	M.albuminüri (mg/gün)	Kalsiüri (mg/kg/gün)
IDDM (n:18)	502.16±50.04	0.10±0.04	10.52±4.24	3.36±2.62
Kontrol (n:14)	32.42±22.20	0.04±0.02	6.99±2.12	2.13±0.58
p	0.0003	0.07	0.06	0.02

Patolojik düzeyde mikroalbuminürisi olmayan IDDM'li hastalarda, glikozüriye sekonder kalsiürinin idrarda NAG/kreatinin değerlerinde artışa yol açmadığı izlendi.

TARTIŞMA

Hiperkalsiüri; kalsiyumun barsaktan absorpsiyonunun, kemikten mobilizasyonunun artması sonucunda veya renal tubuler bozukluklarda ortaya çıkan klinik tablodur (28).

Çalışmanın ilk bölümünde hiperkalsiüri elde etmek için D3 vitamini ve kalsiyum uygulanmıştır. Ondört günlük tedavi sonrasında serum ve idrar kalsiyum düzeyinin artması, serum fosforunun yükselmesi, alkalen fosfataz düzeyinin düşmesi uygulamanın yeterli olduğunu düşündürmektedir.

Nefrokalsinozis böbrek dokusu kalsiyum içeriğinin artması ile karakterli olup yapılan konvaksiyonel radyolojik tetkiklerle varlığı gösterilmeyebilir (28).

Çalışmanın sonunda tüm tavşanlarda yapılan total vücut grafisi incelenmesinde nefrokalsinozis ya da metastatik kalsifikasyonu düşündürecek radyoopasite izlenmemiştir.

Olgularda deneysel olarak verilen parathormon veya D vitamininin Henle kulbunun çıkan kolunda, distal kıvrımlı tubullerde ve toplayıcı kanallarda tübüler epitelde kalsiyum birikimi ile dejenerasyon ve nekroz oluştururken proksimal tübüllerin epitelde kalsiyum birikimi ile dejenerasyon ve nekroz oluştururken proksimal tübüllerin korunduğu bildirilmiştir. Oluşan nefrokalsinozis sıklıkla meduller veya kortikomeduller birleşim bölgesinde yerleştiği gözlenirken, yerleşimin nadiren kortekste olduğu rapor edilmiştir (49). Bununla beraber Caulfield ve Sharang'ın iki farklı yöntem ile yaptıkları çalışmada parathormon ve kalsiyum glukonat ayrı ayrı kullanılmış, parathormon proksimal tübülün kıvrımlı parçasında birikmiştir (50). Bu bilgiler ışığında kalsiyumun birikim tipi ve yeri hiperkalseminin nedenine göre değişmektedir (45). Çalışmamızda böbreklerde kalsiyum fosfat birikimini göstermek için kullanılan von Kossa boyası uygulanmasından sonra yapılan incelemede kortikal bölgede, özellikle proksimal tübüllerde, glomerullerde ve vasküler yapılarda birikim gösterilmiştir. kalsifikasyonun kortikal bölgede olması yanısıra özellikle tubulusları tutması, başka bir nefrokalsinozis nedeni olmayan tavşanlarda D3 vitamininin etkisinden çok, uygulanan kalsiyum glukonatin etkili olduğunu düşündürmektedir.

Böbrek hasarının değerlendirilmesinde 50'den fazla enzim tanımlanmış olmasına karşın en yaygın olarak kullanılan NAG ve alain aminopeptidazdır (51). Her ikisi de renal tubuler hasarda duyarlı bir yöntem olup böbrek fonksiyon testlerinde bozulma ortaya çıkmadan aktivite artışı gösterir ve patolojik sürecin aktivitesi ile orantılı olarak değişir (29). İdrar enzim aktivitesi, enzimlerin glomeruler filtrasyonu olmadığı için serum konsantrasyonlarından etkilenmez (20). Çalışmamızda D3 Vitamini uygulanmasından sonra serum kreatinin düzeyinde anlamlı olmayan yükselme ile beraber BUN düzeylerinde düşmenin olması ve aynı zamanda endojen kreatinin klirensinde hafif artış, çalışmanın tavşanlar üzerinde anoreksijenik etkisi ile besin alınıminin azalması ve katabolizmanın

artmasına bağılı olduğunu düşündürmektedir. On beş günlük uygulama sırasında ortaya çıkan ağırlık kaybı bu düşüncemizi destekler niteliktedir. Serum kreatininin artışına karşın endojen kreatinin klirensi artışı hiperkalsemiye sekonder poliüri ile açıklanabilir. Hiperkalsiüri ile ilişkili olarak idrar NAG/kreatinin oranında artış gözlenirken, aynı dönemde tubuler fosfor reabsorbsiyonunda hafif düzeşde azalma olması idrar NAG aktivitesinin oluşan renal tubuler hasarda diğer laboratuvar parametrelerden daha erken dönemde arttığını düşündürmektedir. Tubuler fosfor reabsorbsiyonunda azalma olması ile beraber serum fosfor düzeyindeki artış D3 vitamininin barsaktan fosfor emilimini arttırmış olması ile açıklanabilir.

Çalışmanın birinci bölümünde, sonuç olarak tavşanlarda oluşturulan hiperkalsiüri sırasında radyolojik olarak ayırt edilemeyen nefrokalsinozis geliştiğinde konvansiyonel böbrek fonksiyon testlerinde anlamlı değişiklikler olmaksızın NAG ekskresyonunun önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. Bu bulgu henüz renal hasar düşünölmeyen hiperkalsiüri olgularının izleminde NAG ekskresyonundan faydanılabileceğini düşündürmektedir.

İdiopatik hiperkalsiüri ürolithiasize yol açan en önemli faktörlerden biridir. Stapleton ve ark. urolithiazisli çocuklarda, idiyopatik hiperkalsiürinin % 7-% 53 arasında bulunduğunu bildirmişlerdir (52). Çocuklarda asemptomatik idiyopatik hiperkalsiüri prevalansı % 2.9 - % 6.2 olarak saptanmıştır (53). Okul yaş grubundaki Türk çocuklarında okul yaş grubunda urolithiazis prevalansı ise % 0.8 düzeyinde bildirilmiştir (55). Asemptomatik idiyopatik hiperkalsiürili, hastaların birinci derecedeki akrabalarında da urolithiazise sıklıkla rastlanmaktadır (56). Özellikle ölkemizde prevalans oranları dikkate alındığında idiyopatik hiperkalsiürinin izlenmesinin ne denli önemli olduğu ortaya çıkmaktadır.

İdiopatik hiperkalsiürinin en önemli komplikasyonu böbrek taşı hastalığı olmasına karşın, nadiren nefrokalsinozise yol açacağı da bildirilmiştir (57). Bu hastaların izlemi sırasında idrar kalsiyum ekskresyon oranı dışında herhangi bir biyokimyasal parametre henüz ayırt edilmemiştir. İdiopatik hiperkalsiürinin uzun süreli prognozu da bilinmemektedir (35,36,37). Glomeruler filtrattaki kalsiyumun % 40'ı proksimal tübüllerden absorbe edildiğinden (34) bu tüböl epitelindeki lizozomal aktivitenin hiperkalsiüri ile ilişkili olabileceği düşünölmüştür. Ancak klinik çalışmada ultrasonografik olarak nefrokalsinozis saptanmayan böbrek fonksiyonları konvansiyonel testlerle normal bulunan olgularda idrar NAG aktivitesinde, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Gerek deneysel olarak gerçekleştirilen, gerekse çocuklardaki idiyopatik hiperkalsiüride idrar NAG aktivitesini araştıran herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Çalışmanın klinik uygulamalı bölümünde, absorptif formdaki idiyopatik hiperkalsiürili olgular ele alınmıştır. Böylece idiyopatik hiperkalsiüriye yol açan primer renal patoloji

olmaksızın, hiperkalsiürinin böbrek dokusuna yaptığı sekonder etkinin ortaya çıkması sağlanmış olacaktır. Başka bir deyimle hiperkalsiüri ile böbrek dokusu arasında bir "neden" ilişkisi yerine "sonuç" ilişkisi araştırılmıştır. Hastaların kemik dansitometrileri ve İPTH düzeyleri normal sınırlarda bulunması, uygulanan diyetle yanıt alınması absorptif nitelikte idiopatik hiperkalsiüriyi destekleyen başlıca bulgulardır.

Çocuklarda hiperkalsiüri'ye karşın idrar NAG aktivitelerinde bir artış ayırt edilmezken, deneysel çalışmada idrar kalsiyum ekskresyonunda anlamlı artışla birlikte NAG aktivitesinde de önemli ölçüde bir artış gözlenmiş ve kalsiyum ekskresyonu ile idrar NAG aktivitesi arasında anlamlı pozitif ilişki gösterilmiştir.

Nefrolithiasis, çocuklarda ultrasonografik yöntemli, deney hayvanlarında ise direkt vücut grafileri ile araştırılmış ancak ayırt edilmemiştir. Çocuklarda böbreklerin histopatolojik olarak incelenmesi etik kurallar nedeni ile yapılamamıştır. Ancak tavşanlarda yapılan renal histopatolojik değerlendirmede nefrokalsinosis ayartı edilmiştir. Bunlarda NAG aktivitesindeki artış iatrojenik hiperkalsiüriye sekonder nefrokalsinosisin bir sonucu olarak ortaya çıkmış olabilir. Çalışmanın iatrojenik hiperkalsiüri bölümünde nefrokalsinosis gelişmeden, hiperkalsiürini geliştiği ve bu aşamada idrar NAG aktivitesini belirleyen bir dönemi, istatistik olarak yeterli sayıda deney hayvanında elde etmek mümkün olmamıştır. Bununla beraber nefrokalsinosis gelişmediği bir tavşanda kalsiüri düzeyinde ve NAG enzim aktivitelerinde minimal bir artış saptanırken kontrol olarak alınan tavşanda ise hem kalsiüri hemde idrar NAG aktivitesi düzeyinde artış olmaması dikkat çekicidir. Fakat olgu sayımız kesin yorum yapmak için yeterli değildir. Ancak tavşanların böbrek fonksiyonlarında anlamlı bir değişim olmaksızın, nefrokalsinosis gelişirken idrar NAG aktivitesi artışının tespiti, hiperkalsiüriye sekonder nefrokalsinosis izleminde idrar NAG aktivitesinin tanı değerini göstermektedir. Bununla birlikte, çocuklardaki hiperkalsiüri ultrasonografik olarak ayırt edilmemiş ve idrar NAG aktivitelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır.

Çalışmanın klinik aşamasında hiperkalsiüri çocukların longitudinal izlemi ile idrar NAG aktivitelerinin karşılaştırılması da planlanmıştır. Ancak diyet uygulaması ile çocuklarda hiperkalsiüri giderilmiştir. Diğer yandan başlangıçta hiperkalsiüri dönemdeki idrar NAG aktiviteleri ile kontrol grubundaki değerler arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Aynı olgularda kalsiyum ekskresyonu normal iken idrar NAG aktivitelerinin ölçülmesinin, araştırma sonucunu önemli ölçüde etkilemeyeceği düşünülmüştür.

Çocuklardaki absorptif idiopatik hiperkalsiüri'de ileri dönemlerde nefrokalsinosis ile birlikte veya nefrokalsinosis gelişmeden hemen önce idrar NAG aktivitesinde artış olabileceği düşünülebilir. Çalışmanın deneysel ve klinik bölümünden elde edilen veriler bu hipotezi desteklemek için yeterli değildir.

Deneyisel çalışma yöntemleri ile klinik çalışma yöntemleri bazı açılardan farklılık göstermektedir. Tavşanlarda histopatolojik bulgular elde edilirken, nefrokalsinozis direkt vücut grafisi ile araştırılmış, ultrasonografik inceleme hayvanlara yapılmamıştır. Çocuklarda ise direkt konvansiyonel grafi yerine nefrokalsinozisi araştırmak için ultrasonografik tetkik yapılmıştır. Ancak histopatolojik değerlendirme söz konusu değildir. Nefrokalsinozisi ortaya çıkarmada ultrasonografi, direkt üriner sistem grafisinden daha hassas bir yöntemdir (32). Tavşanlarda böbrek fonksiyon testlerinin normal değerleri bilinmediğinden bu parametrelerde çalışma sırasında meydana gelen değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturması ile değerlendirilmiştir.

Klinik ve rutin laboratuvar yöntemleri ile diabetik nefropati tanısı almayan 18 olguda glikozüri ile kalsiürinin pozitif ilişki göstermesi literatür bulguları ile uyumludur (30,42). Hastalarda kalsiüri ile idrar NAG/kreatinin değerleri arasında anlamlı bir ilişki elde edilmedi. NAG aktivitesindeki artış, diabetik nefropatiye sekonder olarak meydana gelmediği evrede diyabetik hiperkalsiüri etkisi ile de ortaya çıkmamaktadır. Literatürde farklı nedenlerle oluşan hiperkalsiüri ile idrar NAG aktivitesi arasındaki ilişkiyi inceleyen verilere rastlanmadı. Patolojik düzeyde mikroalbuminüri olmayan IDDM'li hastalarda glikozüriye sekonder kalsiüri artışının idrarda NAG/kreatinin aktivitesinin artışına yol açmadığı izlendi. IDDM'ye sekonder mikroalbuminüri oluşmadığı dönemde, glikozüri ve kalsiüri de etkilenmediğinden idrar NAG aktivitesi, diabet dışındaki diğer olgularda olduğu gibi tübüler fonksiyonun bir parametresi olarak kullanılabilir.

Araştırma sonucunda, çocuklarda nefrokalsinozise yol açmamış idiopatik ve diabetik hiperkalsiüri ile idrar NAG aktivitesi arasında ilişki bulunmazken tavşanlarda nefrokalsinozis ile seyreden iatrojenik hiperkalsiüri ile NAG aktivitesi arasında pozitif ilişki elde edilmiştir.

SONUÇLAR

1. Tavşanlarda direkt radyografilerle ayırt edilmeyen ancak histopatolojik olarak saptanan, iatrojenik hiperkalsiüriye sekonder nefrokalsinozis meydana geldiğinde, idrar NAG aktivitelerinde anlamlı artış elde edilmekte ve bu değerler, hiperkalsiüri ile pozitif ilişki göstermektedir.
2. "Absorptif formda idiopatik hiperkalsiüri" çocuklarda idrar NAG aktivitelerinde bir artışa yol açmamıştır. Ancak bu olgularda nefrokalsinozis radyolojik olarak ayırt edilmemiştir. "Absorptif form idiopatik hiperkalsiüri"li çocuklarda izlem sırasındaki idrar NAG aktivitelerindeki artış gelişmekte olan bir nefrokalsinozisin öncül bir bulgusu olabilir.
3. Patolojik düzeyde mikroalbuminürisi olmayan IDDM'li hastalarda glikozüriye sekonder kalsiüri artışının idrarda NAG/kreatinin aktivitesinde artışa yol açmadığı saptandı.



ÖZET

Böbrek taş hastalığı ve nefrokalsinozis komplikasyon olarak bildirilmiş olmasına karşın, "idiopatik hiperkalsiüri"li çocuklarda prognoz henüz açıklık kazanmamıştır. Glomerüllerden filtre olan kalsiyumun % 40'ı proksimal tübüllerden geri emilmektedir. N-asetil β -D glukozaminidaz (NAG) proksimal renal tübül epitelinde hasarı gösteren lizozomal bir enzimdir.

Bu çalışmanın amacı, iatrojenik, diabetik ve idiopatik hiperkalsiüri çocuklarda, hiperkalsiüri ile idrar NAG aktiviteleri arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.

Hiperkalsiüri oluşturmak üzere 75 mg/kg/gün kalsiyum, 20.000 Ü/kg/gün D₃ vitamini 15 gün süre ile uygulanan yedi tavşandan (*Orytolagus cuniculus*-NZW-) uygulama öncesinde ve sonrasında serum kalsiyumu, fosfor ve alkalen fosfataz ile 24 saatlik idrarda kalsiyum ekskresyonu ve NAG / kreatinin düzeyleri ölçüldü. Olguların uygulama tamamlandıktan sonra böbrekleri makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirildi. Benzer işlemler, yedi tavşandan oluşturulan ve plasebo verilen kontrol grubuna da uygulandı. İlaç uygulamasına başlanmadan önce olguların ortalama serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz ve günlük kalsiyum ekskresyonu düzeyleri sırası ile 10.8 \pm 1.5 mg/dl, 4.6 \pm 0.6 mg/dl, 138 \pm 57.1 IU/L ve 22.3 \pm 8.3 mg/kg/gün olup, uygulama sonrasında serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz ve günlük kalsiyum ekstresyon düzeyleri sırası ile 12.2 \pm 1.3 mg/dl, 6.7 \pm 0.7 mg/dl, 70.1 \pm 33.2 IU/L ve 46.8 \pm 22.5 mg/kg/gün olarak saptandı. Kontrol grubunda plasebo öncesinde ortalama serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz ve günlük kalsiyum ekskresyon düzeyleri sırası ile 10.6 \pm 1.2 mg/dl, 4.9 \pm 0.8 mg/dl, 140.7 \pm 49.3 IU/L ve 18.4 \pm 9.6 mg/kg/gün olup; plasebo sonrasında ise sırası ile 10.4 \pm 1.1 mg/dl, 4.3 \pm 0.7 mg/dl, 146.6 \pm 50.3 IU/L ve 21.4 \pm 7.6 mg/kg/gün olarak elde edildi. Değerler arasındaki fark araştırıldığında, çalışma grubunda uygulama başlangıcında ve sonunda serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz ve günlük idrar kalsiyum ekskresyon değerleri istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (p<0.05). İdrar NAG/kreatinin değerleri ilaç uygulanmadan önce 0.5 \pm 0.1mÜ/mg iken, uygulamadan sonra 5.4 \pm 1.5 mÜ/mg olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.01). Çalışma grubunda tedavi sonucunda elde edilen, serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz ve idrar NAG /kreatinin ve kalsiüri düzeyleri kontrol grubundaki plasebo sonrasındaki değerlerden anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0.05). Değerler arasındaki ilişkiler incelendiğinde idrar NAG/kreatinin ile günlük kalsiyum ekskresyonu arasında önemli pozitif ilişki saptanmıştır (r:0.9, p<0.05). Çalışma grubundaki olguların biri dışında diğerlerinde (%85.7) nefrokalsinozis tesbit edilmiştir.

Çalışmanın ikinci bölümünde "absorptif formda idiopatik hiperkalsiüri olan 10 çocuk ile kontrol grubunu oluşturan, idrar kalsiyum ekskresyonu 4 mg/kg/gün'ün altında bulunan 14 çocuk ele alınmıştır. Ultrasonografi incelemelerinde nefrokalsinozis ve böbrek taş hastalığı saptanmayan olguların konvansiyonel yöntemlerle yapılan böbrek fonksiyon testleri normal sınırlar içinde bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubundaki olguların yaş ortalamaları sırası ile $5,9 \pm 1,1$ ve $5,4 \pm 1,2$ yıl; kalsiüri düzeyleri $5,88 \pm 1,67$ ve $1,54 \pm 0,74$ mg/kg/gün; idrar NAG/kreatinin aktiviteleri $2,5 \pm 0,9$ ve $11,6 \pm 5,3$ mU/mg olarak saptanmıştır. Her iki grubun kalsiyum ekskresyonları arasındaki fark anlamlı olmasına karşın ($p \leq 0,0005$), yaş ve idrar NAG aktiviteleri ortalamaları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($p > 0,05$) idrar kalsiyum ekskresyonu ile NAG/kreatinin aktivitesi arasındaki ilişkinin anlamlı olmadığı ortaya çıkmıştır. ($r: 0,12$, $p > 0,05$).

Klinik ve rutin laboratuvar yöntemleri ile nefropati düşünülmeyen 18 İnsüline bağımlı diabetes mellitus (IDDM) olgusunda ve 14 sağlıklı kontrol grubunda böbrek fonksiyonları yanında glikozüri, idrar NAG aktiviteleri, mikroalbuminüri ve kalsiüri araştırıldı. Tüm olgularda konvansiyonel böbrek fonksiyon testleri normal sınırlarda olup, çalışma ve kontrol grubunda sırası ile glikozüri $502,16 \pm 50,04$, $324,22 \pm 22,20$ mg/gün, NAG/kreatinin $0,10 \pm 0,04$, $0,04 \pm 0,02$ U/mg, mikroalbuminüri $10,52 \pm 4,24$, $6,99 \pm 2,12$ mg/gün, kalsiüri $3,36 \pm 2,62$, $2,13 \pm 0,58$ mg/kg/gün bulundu. Grupların glikozüri ve kalsiüri düzeyleri arasında anlamlı fark olup (sırası ile $p < 0,001$, $p < 0,05$), çalışma grubunda glikozüri ile kalsiüri ($r: 0,4$, $p < 0,05$), glikozüri ile albuminüri ($r: 0,4$, $p < 0,05$) arasında anlamlı ilişki saptandı. NAG/kreatinin ile kalsiüri ve mikroalbuminüri arasında anlamlı ilişki bulunmadı.

Sonuç olarak; tavşanlarda direkt radyografilerle ayırt edilemeyen ancak histopatolojik olarak saptanan, iatrojenik hiperkalsiüri'ye sekonder nefrokalsinozis meydana geldiğinde, idrar NAG aktivitelerinde anlamlı artış elde edilmekte ve bu değerler hiperkalsiüri ile anlamlı pozitif ilişki göstermektedir. Ultrasonografik yöntemlerle nefrokalsinozis ayırtedilemeyen absorptif formdaki idiopatik hiperkalsiüri çocuklarda idrar NAG aktivitelerinde artış saptanmamıştır. Ancak bu olguların izlem sırasındaki idrar NAG aktivitelerindeki artış, gelişmekte olan bir nefrokalsinozisin öncül bulgusu olabilir.

KAYNAKLAR

1. Flocks RH. Calcium and phosphorus excretion in the urine of patients with renal and ureteral calculi. JAMA 113: 1466-1471, 1939.
2. Albright F., Henneman P., Benedict PH., Forbes AP. Idiopathic hypercalciuria. A preliminary report. Proc. R Soc. Med 46: 1077-1081, 1953.
3. Pak CYC., Ohata M., Lawrence EC., Synder W. The hypercalciurias: causes, parathyroid functions and idiopathic criteria. J Clin Invest 57: 387-400, 1974.
4. Coe FL., Favus MJ., Crockett T., Strauss AL., Parks JH., Porat A., Gannt C., Sherwood LM. Effects of low calcium diet on urine calcium excretion, parathyroid function and serum $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ levels in patients with idiopathic hypercalciuria and in normal subjects. Am J Med 72: 25-31, 1982.
5. Lie XQ., Tembe V., Bushinsky DA., Favus MJ. Increased intestinal vitamin D receptors in genetic hypercalciuric rats. J Clin Invest 91: 661-667, 1988.
6. Weisinger JR. New insights into the pathogenesis of idiopathic hypercalciuria. The rol of bone. Kidney Int. 49; 1507-1518, 1996.
7. Broadus AE., Mahaffey JE., Bartter FC., Neer RM. Nephrogenous cyclic monophosphate as a parathroid function test. J clin Invest 60: 771-783, 1977.
8. Hess B, Cazes JP, Takkinen R, Ackermann D, Jaeger P. Relative hyporathyroidism and calcitriol up-regulation in hypercalciuric calcium renal stone formers: Impact of rutrition. Am J Nephrol 13: 18-26, 1993.
9. Liberman VA, Sperling O, Atsmon A, Frank M, Moaan M, Vevries A. Metabolic and calcium kinetic studies in idiopathic hypercalciuria. J Clin Invest 47: 2580-2590, 1968.
10. Lawoyin S, Sismilich S, Browne B, Pac CYC. Bone mineral content in patients with calcium urolithiasis. Metabolism 28: 1250-1254, 1979.
11. Coe FL., Parks JH., Moore ES. Familial idiopathic hypercalciuria. N Engl J Med. 300: 334-340, 1979.
12. Krieger NS., Sesster NE., Bushinsky DA. Acidosis inhibits osteoblastic and stimulates osteoclastic activity in vitro. Am J Physiol 262: F 442-F 448, 1992.
13. Kavukçu S., Tavlı V., Fadiloğlu M., Akhunlar H., Oran B., Akçoral A. Urinary enzyme changes in children udergojn cineangiographic evaluation using iopromid. Interntional Urology and Nephrology. 27(2): 131-135, 1995.

14. Kavukçu S., Türkmen M., Polat M., Fadiloğlu M., Akhunlar H., Özkan H., Anal A., Urinary enzyme changes in newborns with conjugated hyperbilirubinemia. *Acta Paediatrica Japonica* ; 39 (2): 201-204, 1997.
15. Colding H., Brygge K., Brendstrup L., Bentzon MW, Andersen GE. Enzymuria in neonates receiving continuous intravenous infusion of gentamicin. *APMIS* 100: 199-124, 1992.
16. Vaziri ND, Kaupke CJ. Biochemical investigations of urine. In Massry SG., Glasscock RJ (ed). *Textbook of Nephrology (Volume II) (second edition)*. Baltimore, Williams and Wilkins 1989; 1613-1618.
17. Simeoni V., Schnitzler B., Massfelder T., Hirt C., Koehl C., Hamel G., Helwig JJ., Nesser J. Geisert J., Willard D. Specific developmental profiles of lysosomal and brush border enzymuria in the human. *Biol Neonate* 65: 1-6, 1994.
18. Kavukçu S., Polat M., Fadiloğlu M., Akhunlar H. Urinary N-acetyl-β-D glucosaminidase excretion in newborns. *Biol Neonate (letter)* 66: 376, 1994.
19. Tataranni G., Fannelli R., Zavagli G., Zogalla G., Farinelli A. Tubule recovery after obstructive nephropathy relief: The value of enzymuria and microproteinuria. *J Urol* 138; 24-27, 1987.
20. Ring E., Zaber G., Erwa W., Haim-Kuttizig M. Urinary excretion of N-acetyl-β-D glucosaminidase in proteinuric states. *Child Nephrol Urol* 12: 15-18, 1992.
21. Eroğlu. Y, Kavukçu S, Böber E, Akhunlar H, Fadiloğlu M, Büyükgebiz A. Büyüme hormonu eksikliği olan çocuklarda rhGH'nun lizozomal ve brush border enzimleri üzerine etkisi. XIII. Ulusal Böbrek Hastalıklarına, Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi, 22-26 Ekim 1996, İstanbul.
22. Deshamsı YS., Fadiloğlu M., Ekstrakorporeal şok dalga litotripsisinin üriner enzimler (NAG veGGT) üzerine etkisi. *Ege Tıp Dergisi* 31(3): 419-423, 1992.
23. Wilbert DM., Bicheler KH., Strahmaier WL., Flüchter SH. Glomerular and tubular damage after extracorporeal shock wave lithotripsy assessed by measurement of urinary proteins. *J Urol* 2: 139-326 A abstract 656, 1988.
24. Jung K. Urinary enzymes and low molecular weight proteins as markers of tubular dysfunction. *Kidney Int* 46 Supp 47: S 29-33, 1994.
25. Jung K. Reference intervals in urinary enzymes in clinical and experimental medicine, edited by Jung K., Mattenheimer H., Burchard U., Berlin-Heidelberg, Springer, 1992 p 153.

26. Jung K., Priem F. What are the criteria to introduce new methods for determination of urinary N-acetyl- β -D- glucosaminidase activity? *Ann Clin Biochem* 30: 501-503, 1993.
27. Feldman D., Flandars C., Jardel A., Phan T., Aymard P. Circadian variations and reference intervals for some enzymes in urine of healthy children. *Clin Chem* 35(5): 864-869, 1989.
28. Garg A, Bananame A, Grundy SM, Unger RH, Breslau NA, Pak CY. Effects of dietary carbonhydrats on metabolism of calcium and other minerals in normal subjects and patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metob* 1990, 70:4 1007-1013.
29. Raskin P, Stevenson MR, Barilla DE, Pak CY. The hypercalcyuria of diabetes mellitus; its ameloration with insulin. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1978, 9(4): 329-335.
30. Malone JI, Lowitt S, Duncan JA, Shah SC, Vargan A, Root AW. Hypercalciuria, hyperphosphaturia and growth retardation in children with diabetes mellitus. *Pediatrics* 1986; 78(2): 298-304.
31. Malone JI, Lawitt HS, Duncan JA, Shah SC. Hematuria and hypercalciuria in children with diabetes mellitus. *Pediatrics* 1987; 79(5); 756-759.
32. Barrat MT. Urinary calculi. In: Holliday MA, Barrat MT., Vernier RL (eds) *Pediatric Nephrology* (third edition) Baltimore Williams and Wilkins 1994; 404, 1070-1079.
33. Flynn FV. Assessment of renal function: Selected developments. *Clin Biochem* 1990; 23: 49-54.
34. Talke H., Schubert GE. Enzymatische Harnstoffbestimmung in blut und serum optischen test nach Warburg. *Klin Wochenschr* 1965; 43: 174.
35. Daly JA. Ertingshausen G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the "Centrifichem" *Clin Chem* 1972; (3) 18: 263-265.
36. Hill GS: Calcium and the kidney, nephrolitiasis and hydronephrosis In: Heptinstall RH (ed). *Pathology of kidney* (volume III) (fourth edition) Boston Little, Brown and Company 1992; 1563-1630.
37. Bowers GN., Mc Comb RB. Measurement of total alkaline phosplataase activity in human serum. *Clin Chem* 1988; 21.
38. Viberti GC, Keen H. The patterns of proteinuria in diabetes mellitus. Relevance to pathogenesis and prevention of diabetic nephropathy. *Diabetes* 1984; 33: 686-92.

39. Watanabe Y, Nuno K, Maki Y. Contribution of glycaemic control to the levels of N-acetyl β -D glucosaminidase and serum NAG in Type I insulin dependent diabetes mellitus without proteiuria. *Clin Nephrol* 1987; 28: 227-31.
40. Çalışkan S, Fıçıcıoğlu, Hacıbekiroğlu M, Mikla S, Kasapçopur O, Sever L, Aydın A, Arısoy N. Tubular markers in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Turk J Pediatr*, 1997; 39(2): 213-8.
41. Harangi F, Soltezz G, Mehes K. Hypercalciuria in children with diabetes mellitus. *Helv Pediatr Acta* 1989; 43(4): 267-71.
42. Milliner SG., Pitts TO. Effects of electrolyte disturbances on the kidney. In: Massry SG., Glassock RJ (ed). *Textbook of Nephrology (Volume I) (second edition)* Baltimore Williams and Wilkins 1989; 419-420.
43. Alon U., Warady BA., Hellerstein S. Hypercalciuria in the frequency-dysuria syndrome of childhood. *The J pediatr* 1990; 116(1): 103-5.
44. Bataille A. Diet, vitamin D and vertebral mineral density in hypercalciuric calcium stone formers. *Kidney Int* 1991; 39: 1193-1205.
45. Stapleton FB. Idiopathic hypercalciuria: Association with isolated hematuria and risk for urolithiasis in children. *Kidney Int* 1990; 37: 807-11.
46. Robertson WG., Marshall RW. Calcium measurement in serum and plasma total and ionized *Critical Rev. Clin Lab Sci* 1979; 11: 271-304.
47. Yakata M. Measurement of N acetyl B-D glucosaminidase in urine *J Clin Path Suppl* 1983; 56: 90-3.
48. Massry SG., Pitts TO. Effects of electrolyte disturbances on the kidney. In: Massy SG., Glassock RJ. (eds). *Textbook of Nephrology (Volume I) (second edition)* Baltimore Williams and Wilkins 1989;419-420.
49. Caulfield JB., Shrag PE. Electron microscopic study of renal calcification. *Am J Pathol* 1964; 44: 365.
50. Price RG. Urinary enzymes, nephrotoxicity and renal disease. *Toxicology* 1982; 23: 99-134.
51. Stapleton FB., Noe NH., Roy S., Jerkins G. Hypercalciuria in children with urolithiasis. *Am J Dis Child.* 1992; 36: 675-8.
52. Moore ES., Coe FL., Mc Mann BJ., Favry MJ. Idiopathic hypercalciuria in children: prevalence and metabolic characteristics. *J Pediatr* 1978; 92: 906-910.
53. Buyan N., Saatçi Ü., Bakkaloğlu A., Beşbaş N. Asymptomatic hypercalciuria in school age: Epidemiology and pathogenesis. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Derg.* 1989; 32: 43-50.

54. Remzi D., akmak F., Erkan I. A study on the urolithiasis in Turkish school age children. J urol 1980; 123: 608.
55. Buyan N., Saati ., Bakkaloğlu A., Beşbaş N. In: Bortsocas CS (ed) Genetics of kidney disorders. New York Alan R Ziss 1989; 145-8.
56. Misselwitz J., Hesse V ., Markestad T. Nephrocalcinosis, hypercalciuria and elevated serum levels of 1.25-dihydroxyvitamin D in children. Acta Pediatr Scand 1990; 79: 637-43.

