

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
RABDOMİYOLİZE İKİNCİL “AKUT BÖBREK
HASARI”nın ERKEN DÖNEM TANISINDA
“SERUM KREATİNİN” ve SERUM
“NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED
LIPOCALIN” DEĞERLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. HASAN GÜNEŞ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2012

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL RABDOMİYOLİZE
İKİNCİL “AKUT BÖBREK HASARI”nın ERKEN DÖNEM
TANISINDA “SERUM KREATİNİN” ve SERUM
“NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN”
DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. HASAN GÜNEŞ

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Gürkan ERSOY

III. ÖNSÖZ

TEŞEKKÜR

Her zaman bana destek olan, daima yanımda olduklarını ve olacaklarını bildiğim sevgili eşim Emine GÜNEŞ, oğlum, annem, babam ve ablama,

Çalışmamızın Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nce desteklenmesi aşamasında çok emekleri geçen, değerli hocamız ve Rektör Yardımcımız Prof. Dr. Sayın Hakkı BAHAR'a,

Çalışmanın yapılması sırasında her aşamada büyük bir özveriyle ve anlayışla sabahın beşinde bile benden yardımlarını esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Gürkan Ersoy'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca büyük emek vererek birlikte çalıştığımız DEÜTF Acil Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Doç. Dr. Sedat Yanturalı, Yrd. Doç.Dr. Rıdvan Atilla ve Yrd. Doç.Dr. Neşe Çolak Oray'a katkıları nedeniyle,

Kıymetli yardım ve katkıları nedeniyle DEÜTF Sağlık Bilimleri Enstitüsü Laboratuar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Osman Yılmaz'a, DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Necati Gökmen'e, DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Uzm. Dr. Mehtat ÜNLÜ'ye

Deney yapım aşamasında kullandığım %50'lik gliserolü temin ederek çalışmamıza büyük destek veren GATA Eczacılık Bilimleri Merkez Başkanı ve Farmasötik Toksikoloji Anabilim Başkanı Prof. Dr. Ecz. Kd. Alb. Ahmet SAYAL'a

Bugünlere gelmemde büyük katkıları olan kıdemli ağabey ve ablalarım ve tabi ki DEÜTF Acil Tıp Anabilim Dalı'nın tüm asistanları hepimize

Uzmanlık eğitimim boyunca iyi kötü birçok şeyi birlikte yaşadığımız, her şeye rağmen güler yüzlerini hiçbir zaman kaybetmeyen ve benden yardımlarını esirgemeyen DEÜTF Acil servisinin hemşirelerine, paramediklerine, sekreterlerine ve personellerine teşekkür ederim.

Not: Bu deneysel çalışma “**Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi**” tarafından desteklenmiştir (Talep No: 2011167).

Dr. HASAN GÜNEŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

I- Tablo ve şekil listesi	III
II- Kısaltmalar.....	IV
III- Özet	1
IV- Summary	3
V- Giriş ve amaç.....	5
VI- Genel bilgiler.....	7
1. Akut Böbrek Hasarı ve Tanısı	
2. Rabdomiyoliz ve Crush Sendromu	
3. Rabdomiyoliz'e İkincil Akut Böbrek Hasarı Tedavisi	
4. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL)	
VII- Gereç ve yöntem	14
1. Çalışmada Kullanılan Hayvanların Özellikleri	
2. Anestezi	
3. %50'lik Gliserolün Hazırlanışı	
4. Akut Böbrek Hasarı Modeli ve Ölçülen Parametreler	
5. Akut Böbrek Hasarının Patolojisi	
6. Değerlendirme Yöntemleri	
7. İstatistiksel Yöntem	
VIII- Bulgular	20
IX- Tartışma.....	29
X- Sonuç ve Öneriler.....	33
XI- Kaynaklar	34
XII- EK 1	36

I. TABLO, ŞEKİL VE FOTOĞRAF DİZİNİ

I.A Tablo Dizini

- Tablo 1 Acute Dialysis Quality Initiative'e göre RIFLE sınıflaması
- Tablo 2 AKIN kriterlerine göre ABH sınıflaması
- Tablo 3 Çalışma ve kontrol gruplarında bazal ve 24. saat ortalama ağırlık değerleri
- Tablo 4 Çalışma ve kontrol gruplarında "Bazal (0. saat), 2. saat ve 24. saat SKr değerleri
- Tablo 5 Çalışma ve kontrol gruplarında bazal, 2. saat ve 24. saat ortalama Kr değerleri
- Tablo 6 Çalışma ve kontrol gruplarında bazal (0. saat), 2. saat ve 24. saat serum NGAL değerleri
- Tablo 7 Patolojik ABH bulguları

I.B Şekil Listesi

Çalışma İş Akış Şeması

I.B Fotoğraf Listesi

- Fotoğraf 1 Triage® marka NGAL kitleri ve Bedside Triage Meterpro® ölçüm cihazı (Biosite® Inc. ABD)
- Fotoğraf 2 Triage® marka NGAL kiti (Biosite® Inc. ABD)
- Fotoğraf 3 Doğal görünümde korteks kast yapısı ya da tübül epitel hücre hasarı yok
- Fotoğraf 4 Kortikal ve medüller yaygın kast varlığı
- Fotoğraf 5 Proksimal tübüller içersinde hyalen kast ve yaygın tübüler epitel hasarı
- Fotoğraf 6 Proksimal tübüllerde korunmuş fırçamsı kenar
- Fotoğraf 7 Yaygın tübül epitel hücre hasarı, stoplazmik ve nükleer düzensizlik

II. KISALTMALAR

ABH	Akut böbrek hasarı
ABY	Akut böbrek yetersizliği
ATN	Akut tübüler nekroz
Ck	Kreatinin fosfokinaz
CS	Crush Sendromu
G	Gauge
GFH	Glomerüler filtrasyon hızı
IM	İntramüsküler
IV	İntravenöz
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
SKr	Serum Kreatinin
Rb	Rabdomiyoliz

III. ÖZET

RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL RABDOMİYOLİZE İKİNCİL “AKUT BÖBREK HASARI”nın ERKEN DÖNEM TANISINDA “SERUM KREATİNİN” ve SERUM “NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN” DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Hasan GÜNEŞ, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı

GİRİŞ ve AMAÇ

Serum kreatinin değerinin en erken 24 saatte yükselmesi ve böbrek fonksiyonları %50 kaybolmadan artmaması akut böbrek hasarının tanı süresini uzatmaktadır. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, akut böbrek hasarının erken dönem tanısında kullanılmaya başlanan yeni bir biomarkerdir. Çalışmamızda, ratlara intramüsküler gliserol enjekte edip, deneysel rabdomiyoliz'e ikincil gelişecek akut böbrek hasarının erken dönem tanısında, “serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin” ve “serum kreatinin” değerlerinin yerini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Eter anestezisi altındaki ratlarda kuyruk veninden 24 gauge branül ile açılan damar yolundan bazal kan örnekleri alındı. Ratlar çalışma ve kontrol grubu olarak iki gruba ayrıldı. Çalışma grubundaki (n=7) ratların arka bacak kasından 2ml (8ml/kg) %50'lik gliserol intramüsküler enjekte edildi. Kontrol grubuna (n=7) ek işlem yapılmadı. Her iki grup rattan ikinci ve 24. saatte kuyruk veninden “neutrophil gelatinase-associated lipocalin” ve “serum kreatinin” düzeyleri için kan örnekleri alındı. Patolojik değerlendirme için sol unilateral nefrektomi yapıldı. Çalışma sonunda ratlar yüksek doz eter anestezisi altında sakrifiye edildi.

BULGULAR

Kontrol grubunda akut böbrek hasarı gelişmezken, çalışma grubunun hepsinde akut böbrek hasarı geliştiği tespit edildi. Çalışma ve kontrol grubunda ikinci ve 24. saat neutrophil gelatinase-associated lipocalin değerlerinde, bazal neutrophil gelatinase-associated lipocalin değerlerine göre artış tespit edilmedi. Patolojik incelemede çalışma grubu ratlarda akut böbrek hasarı gelişirken kontrol grubunda gelişmediği gözlemlendi.

SONUÇ

Bu çalışma modelinde, ratlarda intramusküler gliserol enjeksiyonuna ikincil gelişen akut böbrek hasarının erken dönem tanısında “serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin” değerinin anlamsız olduğunu tespit ettik.

ANAHTAR KELİMELER

Akut böbrek hasarı, Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin, Acil tıp, Kontrast nefropatisi, rabdomiyoliz, Crush sendromu

IV. SUMMARY

A COMPARISON OF “SERUM CREATININE” and “SERUM NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN” LEVELS FOR THE EARLY DIAGNOSIS of “ACUTE KIDNEY INJURY DUE TO EXPERIMENTAL RHABDOMYOLYSIS CREATED IN RATS

Hasan GUNES, M.D, University of Dokuz Eylul, School of Medicine, Department of Emergency Medicine, Izmir, Turkey

INTRODUCTION and OBJECTIVES

The duration of the diagnosis of acute kidney injury prolongs since the earliest increase in serum creatinine is within 24 hours and acute kidney injury does not exhibit without 50% loss of kidney function. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a new biomarker for the early stage diagnosis of acute kidney injury. In our study, we aimed to investigate the value of "Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin" and "serum creatinine" in the early stage of diagnosis for acute kidney injury due to an experimental rhabdomyolysis induced by intramuscularly injection of glycerol.

MATERIALS AND METHODS

Tail veins of rats under ether anesthesia were cannulated with 24 gauge branule and baseline blood samples were collected. Rats were divided into two groups as study and control groups. 2 ml of 50% glycerol was injected via intramuscularly to rats in study group (n=7). No additional procedure was done for the control group (n=7). For neutrophil gelatinase-associated lipocalin and serum creatinine levels, blood samples were collected in the second and 24th hour from tail vein again from each group. Left unilateral nephrectomy was performed for pathologic evaluation. At the end of the study, rats were sacrificed under high dose ether anesthesia.

RESULTS

Acute kidney injury developed in all of study group while no acute kidney injury developed in the control group. In both of two groups, no increase was determined for the levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the second and 24th hour compared to the baseline levels.

CONCLUSION

In this experimental rat model, serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) levels were found insignificant for the early diagnosis of acute renal injury induced by intramuscular injection of glycerol in rats.

KEY WORDS

Acute Kidney Injury, Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL),
Emergency Medicine, Contrast Nephropathy, Rhabdomyolysis, Crush Syndrome

V. GİRİŞ ve AMAC

Akut böbrek hasarı (ABH) ve akut böbrek yetmezliği (ABY), böbrek fonksiyonlarının ani, hızlı ve dönüşümsüz şekilde bozulmasıdır (1). Rabdomiyoliz (Rb), ise travmatik ya da non travmatik nedenlere bağlı olarak çizgili kas hücrelerinin hasara uğraması, ardından hücre içi elemanların sistemik dolaşıma geçerek klinik ve laboratuvar bulgularına yol açması olarak tanımlanır (2).

ABH acil tıp açısından önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Altta yatan sebepten olursa olsun ABH'nın tanısı önemli oranda acil servis hekimlerince konulmaktadır. ABH'da halen en önemli tanısal test serum kreatinin (SKr) değeridir. Laboratuvar analizinin ucuz olması ve kimyasal kararlılığının olması sık kullanılan yöntem haline getirmiştir (3).

Buna rağmen SKr değeri birçok faktörden etkilenmektedir. Bunların arasında yaş, cinsiyet, kas kitlesi, kas metabolizması, genel vücut ağırlığı, beslenme ve hidrasyon durumu sayılabilir (4). Buna ek olarak SKr değerinin ABH'da en erken 24 saatte yükselmesi, kantitatif değer 48 saat sonra elde edilmesi ve laboratuvar analizinin en erken 60-90 dakikada yapılması ayrı faktördür (5). Ayrıca glomerular filtrasyonun düşük hızlarında kreatinin tübüler sekresyonunun artmış miktarı, renal fonksiyonun yüksek değerlendirilmesi ile sonuçlanabilir (4).

Bunu dışında hastaların başvurusunda genelde asemptomatik olmaları, öykü ve fizik muayenelerinin genelde altta yatan patolojiye yönelik olmaları ya da belirgin şekilde yönlendirici olmamaları nedeni ile ABY ve ABH hastalarında ki tanısal laboratuvar testler diğer hastalıkların tanısında olduğundan daha önemli hal almaktadır.

ABH tanısının SKr değerine bağlı olarak en erken 24 saatte konması, SKr 'nin yatak başı çalışılabilen bir test olmaması nedeni ile biyokimya laboratuvarında çalışılması buna bağlı olarak sonuçların ortalama 60 ila 90 dakikada çıkması, SKr değerinin etkilendiği faktörlere bağlı olarak yanlış yönlendirici olması ve bunun gibi birçok sebep sonucunda acil serviste ABH tanısı, dolayısıyla tedavisi gecikmektedir.

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1), interleukin (IL)-18, N-acetyl-β-d-glucosaminidase, Netrin-1 ve monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) ABH'nın tanısında kullanılan yeni tanı yöntemleridir (4). NGAL'ın böbrek fonksiyonları %50 veya daha fazla azalmadan Kr değerine göre 48 saat önce artmış olması ve Kr seviyesindeki artıştan 24-48 saat önce ortaya çıktığının gösterilmesi NGAL'ın bu proteinler arasında daha öne çıkmasını sağlamıştır (18-6,19-7).

Sıçanlara hipertonic %50'lik gliserolün intramüsküler (IM) enjeksiyonu sonrası oluşturulan Rb'ye ikincil ABH gelişimi yaygın olarak ve başarıyla kullanılan bir modeldir (8,9). Bu model 1960'lı yıllardan beri kullanılmaktadır (10).

ABH'nın erken tanısının önemi ve SKr değerinin bu aşamadaki eksikliği nedeni ile ortaya koyduğumuz hipoteze göre, NGAL değerinin Rb'e ikincil gelişecek ABH'nın erken dönem tanısında, SKr değerinden önce artarak ABH'nın erken dönem tanısını koymayı sağlayacağını öngördük.

Bu sebeple yaptığımız çalışmamızda ratlara IM gliserol enjekte edip, Rb'e ikincil gelişecek ABH'nın erken dönem tanısında NGAL ve SKr değerlerinin karşılaştırarak ABH'nın erken dönem tanısındaki yerini araştırmayı amaçladık.

VI. GENEL BİLGİLER

1-Akut Böbrek Hasarı ve Tanısı

ABH ve ABY, böbrek fonksiyonlarının ani, hızlı ve dönüşümsüz şekilde bozulmasıdır. Acil servisten yatış yapılan hastaların önemli bir kısmında, hastaneye yatış sırasında veya yatış sonrasında ABH görülebilmektedir. Bu ise ABH'nı acil servis açısından önemli hale getirmektedir (1).

Yapılan çalışmalara göre hastalara tanı konulduktan sonra, hayatta kalanların 10 yıl içinde yaklaşık %12.5'i diyaliz bağımlı hale gelmiş, %19-31'inde ise kronik böbrek yetmezliği ortaya çıkmıştır. Hastalarda gelişen böbrek yetmezliği ılımlı olsa bile mortalite %30-60 iken, eğer bu hastalarda diyaliz ihtiyacı gelişmişse oran %50-90 gibi yüksek değerlere ulaşır (3). Yıllardır ABH'nın tedavi seçeneklerindeki gelişmeye rağmen mortalite ve morbiditenin halen yüksek olması, halen SKr'nin tek tanı yöntemi olması akıllarda soru işareti oluşturmaktadır.

ABH hastanenin tüm servislerinde önemli bir sorun teşkil etmektedir. Yoğun bakım hastalarında bile ABH görülme oranı %25'leri bulabilmektedir. Bunun sebebi ise altta yatan sepsis, akut akciğer hasarı gibi birçok hastalığın ABH yapabileceğidir (11).

ABY ve ABH'nın patofizyolojisinde prerenal, renal ve postrenal sebepler yatar. Prerenal ABY'de patoloji renal hipoperfüzyon sonucu oluşur. Böbrek parankim bütünlüğü korunmuştur ve perfüzyon normale döndüğünde renal fonksiyonlar tamamen düzelir. Ancak hipoperfüzyon ağır ve uzun süreli olursa akut tübüler nekroza (ATN) dönüşebilir (postiskemik ATN). Renal perfüzyon bozukluğuna yol açan sebepler ise başlıca hipovolemi, düşük kalp debisi, sistemik vazodilatasyon, intrarenal vazokonstriksiyon ve otheregülasyon ve glomerüler filtrasyon hızını (GFH) akut bozabilen ilaçlar olarak sıralanabilir. Renal ABY'lerin %90'dan fazlasını, iskemik ya da nefrotoksik ATN oluşturur. Bunun dışında büyük damarlar, glomerüller-mikrodamarlar ve tübülointersitisyumun hastalıkları da intrinsik renal ABY'ye yol açabilir. Postrenal ABY bilateral üreteral obstrüksiyon, mesane boynundan eksternal üretral meatusa kadar olan obstrüksiyon; ya da soliter böbrek veya kronik böbrek yetmezlikli hastalarda tek taraflı üreteral obstrüksiyon durumlarında gelişebilir.

ABH'nın ağır üremi gelişmeden çok az belirtisi olması tanısını zorlaştırmaktadır. Hastalarda üremiye ikincil bulantı, kusma, uyku hali, yorgunluk, konfüzyon ve koma görülebilir. Hastalarda bunun dışında etyolojiye yönelik şikâyetler olabilir. Örnek olarak prerenal ABY'de sıvı kaybı ile beraber dehidratasyona ve hipotansiyona ait semptomlar

görülebilmektedir. Postrenal ABY’de ise genelde idrar çıkışı ile ilgili bir sorun ön planda olmaktadır (1).

Hastaların başvurusunda genelde asemptomatik olmaları, öykü ve fizik muayenelerinin genelde altta yatan patolojiye yönelik olmaları ya da belirgin şekilde yönlendirici olmamaları nedeni ile ABY ve ABH hastalarında tanısal laboratuvar testler diğer hastalıkların tanısından daha önemli hal almıştır.

ABH’da en önemli tanısal test, SKr değeridir. Laboratuvar analizinin ucuz olması ve kimyasal kararlılığının olması sık kullanılan yöntem haline getirmiştir. Buna rağmen SKr değeri birçok faktörden etkilenmektedir. Bunların arasında yaş, cinsiyet, kas kitlesi, kas metabolizması, genel vücut ağırlığı, beslenme ve hidrasyon durumu sayılabilir (4). Buna ek olarak SKr değerinin en erken 24 saatte yükselmesi ve kantitatif değer 48 saat sonra elde edilmesi ayrı faktördür (5). Ayrıca glomerular filtrasyonun düşük hızlarında kreatinin tübüler sekresyonun artmış miktarı renal fonksiyonun yüksek değerlendirilmesi ile sonuçlanabilir (4). Bir başka sorun ise SKr değerinin böbrek fonksiyonları %50 kaybolmadan azalmaması olarak gösterilebilir (12).

“Acute Dialysis Quality Initiative” tarafından 2002’de kabul edilen RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss, and End-Stage Renal Disease) sınıflaması şu an dünyada en kabul gören ABH ve ABY sınıflama yöntemlerinden biridir (11). Bu sınıflamaya göre SKr değeri iki kat artarsa veya GFH’de %50 azalma gerçekleşirse akut böbrek hasarı, SKr değerindeki üç kat veya ani olarak 0.5 mg/dL artış, GFH’deki %75 azalma veya K_{cr} in değerinin 4 mg/dL’nin üzerinde olması, akut böbrek yetmezliği tanısı koydurmaktadır (Tablo 1). 2007’de Acute Kidney Injury Network (AKIN) tarafından önerilen sınıflamada ABH 3 evreye ayrılmış ve RIFLE sınıflamasından farklı olarak L ve E harfleriyle tanımlanan kayıp ve son dönem böbrek hastalığını bu sınıflamaya alınmamıştır (13). Bu sınıflama SKr değerleri artışına göre ve idrar miktarında azalmaya bağlı olsa da RIFLE sınıflamasında olduğu gibi GFH ölçümünü kullanmamıştır. AKIN kriterlerinin daha kısa süre sınırlaması koyması, son dönem böbrek hastalıklarını sınıflamadan çıkartması ve K_{cr} değerindeki 0.3 mg/dl artışı evre I ABH olarak kabul etmesi sınıflamayı ABH açısından daha anlamlı hale getirmiştir (Tablo 2).

Tablo.1 Acute Dialysis Quality Initiative'e göre RIFLE sınıflaması

Evreleme	Glomerüler Filtrasyon Hızı	Serum kreatinin	İdrar miktarı
Risk(Risk)	% 25'den fazla azalma	1.5-2 kat artış	altı saat içinde 0.5 ml/kg/saat altında
Injury(Hasar)	% 50'den fazla azalma	2-3 kat artış olması	12 saat içinde 0.5 ml/kg/saat altında
Failure (Yetmezlik)	% 75'den fazla azalma	üç kat artış veya Kr değeri 4.0 mg/dl üzerinde iken akut 0.5 mg/dl artış	24 saat içinde 0.3 ml/kg/saat altında veya 12 saat anuri
Loss (Kayıp)		Böbrek fonksiyonlarının dört hafta üzerinde kalıcı kaybı	
End Stage Kidney Disease (Son Dönem Böbrek Hastalığı)		üç ay üzerinde diyaliz bağımlılığı	

Tablo 2. AKIN kriterlerine göre ABH sınıflaması

AKI Evresi	Serum kreatinin değeri	İdrar Miktarı
Evre I	Kr değerinde mutlak ≥ 0.3 mg/dl artış veya Kr değerinin bazalin 1.5-2.0 katı artması	altı saat içinde < 0.5 ml/kg/saat
Evre II	Kr değerinin bazalin 2.0-3.0 katı artması	12 saat içinde < 0.5 ml/kg/saat
Evre III	Kr değerinin bazalin 3.0 katı üzerinde veya Kr 4.0 mg/dl üzerinde iken akut 0.5 mg/dl artış olması	24 saat içinde < 0.3 ml/kg/saat veya 12 saat süre ile anuri

2-Rabdomiyoliz ve Crush Sendromu

Crush, kelime anlamı olarak ezilme, sıkışma veya travmaya uğrama demektir. Crush hasarı sadece travmayı anlattığı halde, Crush Sendromu (CS) travmanın yol açtığı Rb'ye ikincil gelişen pek çok belirti ve bulguyu (örneğin; hipovolemik şok, akut böbrek yetersizliği, hiperpotasemi, kalp yetersizliği, solunum yetersizliği, enfeksiyonlar vb.) içeren bir tablodur (2). CS yaklaşık 70 yıldır tıp dünyasında göz önünde bulunmaktadır (14). Yaralanmaların % 2-5'inde CS görülür (15).

Rb, iskelet kas liflerinin akut nekrozu ve hücresel içeriğinin dolaşıma kaçacağından kaynaklanan klinik ve biyokimyasal bir sendromdur. Genel olarak Rb'nin en sık nedenleri arasında alkol ve madde kullanımı, ilaçlar, kas hastalıkları, travma, afetlerde enkaz altında kalma, nöroleptik malign sendrom, nöbetler, immobilitate, enfeksiyon, ağır fiziksel aktivite ve ısı ile ilgili hastalıklar sayılabilir (1).

Türkiye deprem açısından riskli bir ülkedir. Türkiye'de, 17 Ağustos 1999 Marmara Depremi'nde resmi raporlara göre 17.480 ölüm ve 43.953 yaralanma bildirilmiştir. Bu depremin ardından 639 hastada CS'na bağlı akut renal problemler gelişmiş ve bunların 437'sinde hemodiyaliz tedavisi gerekmiştir (16). Bu sebeple CS ve sonrası oluşan Rb Türkiye'nin her an karşılaşılabileceği önemli sağlık sorunlarından birisidir. Bu hastaların ilk başvurularının acil servise olması, bu hastaları ve hastalıkları acil servis açısından önemli hale getirmektedir. Başka bir faktör olarak Rb'e ikincil ABH'nın tedavisinde erken tanı önemli rol oynamaktadır.

Rabdomiyoliz'de temel patoloji, kas hücresinin hasarı ve açığa çıkan hücre içeriğinin (myoglobin, kreatin kinaz, aldolaz, laktat dehidrogenaz, aspartat aminotransferaz ve potasyum vs.) yoğun şekilde kan dolaşımına geçmesi, klinik semptomların ortaya çıkmasıdır. Olayın fizyopatolojisi adına birçok mekanizma tanımlansa da altta yatan asıl sebep $Na^+ K^+$ ATPaz pompası ve kalsiyum transportunun bozulması sonucu artan hücre içi kalsiyum sonucu gelişen kas hücresi nekrozudur. Ek olarak kalsiyum fosfolipaz A_2 'yi, çeşitli vasoaktif molekülleri ve fosfatazları aktive eder, serbest oksijen radikallerinin salınımına sebep olur (1). Bunun dışında Rb'e ikincil ABY'de asıl sebebin hipovolemi ve myoglobinüriye bağlı olduğu düşünülmektedir. Myoglobin glomerüller tarafından direkt olarak filtre edilir. Volüm kaybı, yaralanmış kaslardan asit içeriklerinin serbestleşmesi idrar pH'sını düşürür. Düşük idrar pH'sı nedeni ile myoglobin jel formuna dönüşür, distal nefronlar tıkanır ve oligüri oluşur (16). Ayrıca myoglobinin direkt toksik etkisinden, musküler vazokonstrüktörlere ikincil böbrek iskemisi ve serbest oksijen radikallerinin salınımı sonucunda oluştuğu düşünülmektedir (17).

Rb tanısı için kan kreatinin fosfokinaz (CPK) değeri anlamlı bir testtir. Serum CPK düzeyi böbrek hasarı sonrası 2-12. saatlerde artmaya başlar, 1-3 gün içinde tepe noktasına ulaşır ve daha sonra 3-5 gün içinde düşer (18). Serum CPK değerinin beş kat artması Rb tanısı için yeterlidir (1). Fakat serum CPK seviyesi ile Rb'e ikincil gelişen böbrek hasarı şiddeti arasında korelasyon yoktur (18).

3- Rabdomiyoliz'e İkincil Akut Böbrek Hasarı Tedavisi

Rabdomiyoliz, crush sendromunun en önemli komplikasyonu iken ABH Rb'in en önemli komplikasyondur. ABH'nın ana tedavisi muhtemel profilaksiden geçmektedir. ABH'na bağlı en sık ölüm sebebinin enfeksiyonlar olması ise tedaviye farklı bir yön vermektedir(2).

Rb'e bağlı ABH gelişme riski öngörülerek, tedaviye ABH'nın kesin tanısından önce başlanması bu grup hastalarda hayat kurtarıcı olabilmektedir. Bunun en önemli sebebi ise bu grup hastalarda hiperkaleminin, hiperfosfateminin, hipokalseminin, myoglobininin ve metabolik asidozun saatler içinde başlayabilmesidir (19). Rb tedavisinin cerrahi ve medikal olarak iki bacağı bulunmaktadır. Medikal tedavinin en önemli bileşeni yoğun sıvı tedavisini içermektedir. Marmara depremi sonrasında erken dönemde sıvı tedavisi almış olan sekiz çocuk yaralıdan hiçbirisinde ABY saptanmadığı, bunun haricinde çeşitli nedenlerle sıvı tedavisi alamayan 12 çocuğun yedisinde (%58) ABY ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte Bingöl depremi sonrası günde 20L kadar sıvı verilen genç hastalarda ABY'nin önlendiğini gösterilmiştir (20).

İdrar çıkışı olduğu takdirde 1000 ml/saat sodyum klorür infüzyonu ile 8 L/gün'e kadar diürez sağlanması önerilmektedir (2). Sıvı tedavisin yanı sıra idrar pH'sı 6,5'un üzerinde tutulmasını sağlamak amacı ile %5 dekstroz içinde hipotonik sodyum klorid ve sodyum bikarbonat (sodyum klorid 110mmol/l, klorid 70mmol/l ve bikarbonat 40mmol/l) solüsyonuna 10gr/l mannitol eklenmesi önerilmektedir (19).

Alkalinizasyon asid hematinin idrarda çözünürlüğünü ve atılımını kolaylaştırır. Bu da renal yetmezliğin önlenmesinde yararlı olabilir. Myogloblobinüri artışı saptanmayana kadar bu tedaviye devam edilmesi önerilmektedir (genellikle 3. güne kadar). Mesane kateterizasyonuna genellikle ihtiyaç vardır. Osmotik diüretik olarak mannitol (koruyucu etkisinin yanı sıra), serbest oksijen radikallerini etkili bir şekilde temizleyebilir. Böylece reperfüzyon komponentinin azalmasına yardım edebilir. Bikarbonat infüzyonu 36 saat sonra tedrici olarak kesilebilir. Loop diüretikleri genellikle kontrendikedir. Ama asetazolamid bikarbonat infüzyonu sonrası arteriyel kan pH'sını alkaloza değiştirdiği için yararlı olabilir.

Hiperkalemi aritmisi tehlikeli olmadıkça kalsiyum infüzyonu genellikle gerekmez. Ayrıca allopürinol, ksantin oksidaz aktivitesini inhibe ederek reperfüzyon hasarını sınırlandırabilir ve hiperürisemiye azaltabilir (19). Mannitol ve sodyum bikarbonat infüzyonu son zamanlara kadar ABH tedavisinde önemli yer tutarken son çıkan yayınlarda bu yöntemin hastanede kalış, diyalize gitmeyi engelleme ve mortalite üzerine anlamlı etkinliği olmadığını belirten yayında bulunmaktadır (21).

Medikal tedavinin yanı sıra cerrahi tedavide önemli yer tutmakla beraber ABH'nın tedavisindeki yeri tartışmalıdır. Açık yara ve kompartman sendromunun olmadığı durumlarda, distal dokuları yaşatmak yeterlidir. Deri, sıradışı olarak doku ödemeine bağlı kompresyona direnebilme kabiliyetindedir. Hatta kontüzyona uğrasa bile bakteriyel bariyer olarak hala görev yaptığından dolayı eksize edilmemelidir. Zorunlu olmadıkça, travmatik rabdomyolizisli ekstremiteye cerrahi müdahale yapılmamalıdır. Nekrotik kas kısmının fazla olması, yaşamı tehdit eden enfeksiyon riskini artırır (19). Bu ise ABH'nın mortalitesini arttırmaktadır.

4-Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL)

NGAL, KIM-1, interleukin, N-acetyl- β -d-glucosaminidase, Netrin-1, and MCP-1 gibi birçok biomarker SKr in ABH'nın erken tanısındaki eksik yönlerini kapatma ümidi ile kullanılmaya başlanan yeni tetkik yöntemleridir.

Bunların arasında son zamanlarda en çok konuşulan ve kabul gören NGAL erken teşhiste yeni kuşak renal biomarker olarak kabul edilmektedir. NGAL, lipokalin ailesinin üyesi, 25 kDa ağırlığında 178 aa zinciri olan ve hayvanlarda deneysel iskemik akut böbrek hasarı sonrası tespit edilen proteindir (6). Proksimal tübül hücrelerindeki epitel ve nötrofil hücrelerinden salgılanırlar. Görevleri tübül hücrelerinin normal proliferasyonunu artırıp, apoptozu azaltarak hasarlanmayı azaltmaktır. Bunu ise demir dağılımını artırarak heme oksijenaz -1 up reglasyonu ile yaptığı düşünülmektedir (3).

Yapılan bir çalışmada NGAL, SKr %50 veya daha fazla artmadan 48 saat önce artmış, ABH geliştikten 48 saat sonra da altı kat artış göstermiştir (6). Başka bir çalışmada ise kardiopulmoner bypass ameliyatı geçiren ve sonrasında ABH gelişen hastalarda ilk iki saat içinde kan ve idrarda NGAL seviyelerinde artış tespit edilmiş ve bu artışın SKr seviyesindeki artıştan 24-48 saat önce ortaya çıktığını gösterilmiştir (7).

Yapılan başka bir çalışmada, ABH tanısında SKr seviyesinin sensitivitesi %77 spesifisitesi %93, NGAL sensitivitesi %90 spesifisitesi ise %99,5 ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (22). Rat modellerinde gentamisin

nefrotoksisitesine bağlı ABH tanısında cystatin-C ile beraber erken tanıda önemli bir biyomarker olduğu gösterilmiştir (23).

Kardiopulmoner bypass ameliyatı geçiren 71 çocukta yapılan çalışmada 20 ABH gelişen hastanın hepsinde ilk iki saat içinde idrar ve serum NGAL değerlerinin anlamlı oranda yükseldiği buna rağmen SKr değerinin en erken 24. saatte arttığı tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada serum NGAL cut-off değerı 50µg/l olarak ayarlandığında sensitivitesi %100, spesifitesi ise %98 olarak tespit edilmiştir (12).

Toplam 2538 hastayı kapsayan sekiz ülkeden 19 çalışmanın dâhil edildiği metaanalize göre; çocuklarda daha etkin olmak üzere, ABH erken tanısında, renal replasman tedavisinin etkinliğini göstermede, ABH'na bağlı hastane içi mortalite riski belirlemede ve kontrast nefropatisi erken dönem tanısında değerı yüksek tespit edilmiştir (24).

NGAL idrardaki seviyesi normalde tespit edilemeyecek kadar azken (<5ng/ml), normal serum NGAL değerı 50-90 ng/ml olarak tespit edilmiştir (25). Bu yüzden serum NGAL cut-off değerı son yayınlanan meta analizde 150ng/ml olarak önerilmiştir (24). İdrarda ABH'na bağlı artışıñ proksimal tübülde sentezlenen miktarın geri emilenden fazla olması, ek olarak distal tübülde de salgılanmaya başlaması olarak kabul edilmektedir. NGAL böbrek dışında tüm epitelyum dokulardan sentezlendiği için beraberinde karaciğer, akciğer ve bağırsaklardan da sentezlenebilmektedir. İdrardaki düşük değere rağmen kanda daha yüksek olmasının sebebi bu olarak gösterilmektedir (25).

Akciğer gibi diğer epitel hücrelerinden salgılanması bu organların hasarlarında da ABH olmadan idrar ve kan miktarını arttırmaktadır bu ise kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi diğer bazı hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılabileceği düşündürmektedir (26).

Yapılan bir çalışmada, ABH tanısında idrar NGAL değerlerinin serum NGAL değerlerinden daha erken yükseldiği ve bu yüzden tanıda daha duyarlı olduğu, ayrıca ABH'da serum NGAL değerlerinin yükselmesinin ya azalmış GFH' ya bağlı olduğu ya da diğer epitelyum içeren organların hasarına bağlı olduğu ifade edilmektedir. Dayanak olarak tek taraflı renal iskemi yapılan hayvan modellerinde serum NGAL değerı yükselmemesine rağmen idrar NGAL seviyesi yükselmesi gösterilmektedir (25).

VII. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneyde, ratlarda, ABH yaratmak için, IM %50'lik gliserol enjeksiyonu ve takiben rabdomyoliz geliştirme yöntemini kullandık (10-12). Bu yöntemle oluşturulan ABH'nın tanısında serum NGAL değerinin kullanılması literatürde ki ilk çalışmadır.

1. Çalışmada Kullanılan Hayvanların Özellikleri

Çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi (DEÜ) Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, DEÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi, Anabilim Dalınca ortak yürütüldü. Çalışmaya DEÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başladı. Çalışma deneysel, randomize kontrollü çalışma olarak yürütüldü. Tüm denekler için uygulanan prosedürler 'Laboratuvar Hayvanları Kullanımı ve Bakım Kılavuzu'na uygun olarak planlandı.

Çalışmamızda ortalama ağırlıkları 240-260 gram olan 14 adet Wistar Albino cinsi dişi ratlar kullanıldı. Çalışma süresince ratlar sıcaklık ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), nem (%65-70) ve ışık (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) bakımından eşit koşullarda barındırıldı. Hayvanlar standart rat diyeti ile beslendi.

2. Anestezi

Girişimlere bağlı stresten kaynaklanacak farklılıkları engellemek amacı ile işlem öncesi tüm ratlara eter anestezisi uygulandı. Sirkadien değişiklikleri en aza indirmek için kan örneklerinin alınması ve tartı işlemleri 09:00-10:00 saatleri arasında gerçekleştirildi.

3. %50'lik Gliserol'ün Hazırlanışı:

%50'lik gliserol, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Eczacılık Bilimleri Merkezinde, tartılan 50g gliserol üzerine distile su ilavesi ile 100ml'e tamamlanarak flakonlandı ve buharlı sterilizasyon uygulandı.

4. Akut Böbrek Hasarı Modeli ve Ölçülen Parametreler:

Başlangıç (0. Gün) 0. saat:

Tartma işleminden sonra çalışmanın başlangıcında tüm ratlar randomize olarak 7'şerli iki ayrı eşit gruba ayrıldı (çalışma ve kontrol grupları) ve eter anestezisi uygulandı.

Eter anestezisi altındaki ratlara, kuyruk veninden 24G branül ile damar yolu açıldı. Açılan damar yolundan 0., 2. ve 24. saatlerde 1.25'er cc kan örnekleri alındı. Her kan alınışında, kanın 1cc'si SKr değeri için DEÜ Hastanesi, merkez laboratuvarında

spektrofotometrik enzim yöntemi ile Abbott Architect C16000 otoanalizöründe orijinal Abbott diagnostik ticari kitleriyle çalışıldı (SKr normal değer aralığı 0,8-1,4).

NGAL düzeyi için 0.25 cc kan Triage[®] marka NGAL kitleri (Biosite[®] Inc. ABD, Savaş Medikal Lab. Malz. Tic. Ltd. Şti. İstanbul) kullanılarak floresan immünoassay yöntemi ile hemen deneyin yapıldığı salonda yatakbaşı ölçüldü (serum NGAL normal değer aralığı 0-149ng/ml) (Fotoğraf 1,2). İşlem olarak, alınan venöz kan örneği hazır kitin haznesine enjekte edildi, mikro kanallar içinde uygun dağılımı için beklendi. Kit uygun şekilde cihaz içine yerleştirildi. Ortalama 10-12 dk içinde cihazın göstergesinde NGAL değeri dijital olarak belirdi, sonuç kayıtlara alındı ve yazdırıldı.

0. saat kan örnekleri alınan çalışma grubundaki ratların arka bacak kasından deneysel rabdomyolize ikincil ABH oluşturmak amacı ile iki ayrı yerden toplam 8 ml/kg dozunda (rat başına 2ml) %50'lik gliserol IM enjekte edildi (10-12). Kontrol grubundaki ratlara ek uygulama yapılmadı.

2. saat:

Her iki grup rattan gliserol enjeksiyonundan sonraki ikinci saatte serum NGAL ve SKr düzeyleri için kuyruk veninden eter anestezisi altında damar yolu açılarak 1.25 cc kan örneği alındı. Üstte 0. saatte bahsedilen uygulamalar ile aynı şekilde kan değerleri ölçüldü. İki rattan kan alınamadı. Ratlara ikinci saat kan alımı sonrası hipovolemik şok ve dehidratasyona bağlı prerenal ABH gelişmemesi için subkutan 2cc serum fizyolojik enjekte edildi. Ratlar işlem sonrası gözlem odasına alındı ve 24 saat boyunca saat başı kontrol edildi.

24. saat:

Her iki grup rattan gliserol enjeksiyonu sonrası 24. saat serum NGAL ve SKr değerleri için 1.25'er cc kan örnekleri alındı, aynı yöntemle kan değerleri çalışıldı. ABH gelişip gelişmediğini biyokimyasal düzey yanında mikroskopik ve anatomo-patolojik düzeyde de incelemek, eğer gelişti ise derecesini belirlemek için eter anestezisi altındaki laparotomi yapılarak sol unilateral nefrektomi gerçekleştirildi. Daha sonra ratlar yüksek doz eter anestezisi altında sakrifiye edildiler.

5. Akut Böbrek Hasarının Patolojisi:

Nefrektomi sonrası sadece ışık mikroskopi çalışılacak olan dokular ikiye bölündükten sonra %10 tamponlu formole alınarak 24 saat fiske edildi. Rutin takip sonrasında parafin bloklara gömüldü ve 3 mikronluk kesitler hazırlanarak Hematoksilen Eozin ve PAS ile boyandı. Kontrol grubundan bir, çalışma grubundan iki rata ait böbreklerden ayrıca elektron

mikroskopi çalışılmak üzere gluteraldehite örnek alındı. Işık mikroskopik değerlendirmede “firçamsı kenar kaybı, sitoplazmik ve nükleer bütünlük, tübüler hücre nekrozu, lüminal debri ve kast varlığı ile rejenerasyon” esas alındı (27). Tüm korteks değerlendirilerek şu şekilde derecelendirildi;

- **0. Derece:** Lezyon yok,
- **I. Derece:** \leq %25,
- **II. Derece:** \leq %26-50,
- **III. Derece:** \geq %50

Fotoğraf 1. Triage® marka NGAL kitleri ve Bedside Triage Meterpro® ölçüm cihazı (Biosite® Inc. ABD)



Fotoğraf 2. Triage® marka NGAL kiti (Biosite® Inc. ABD)



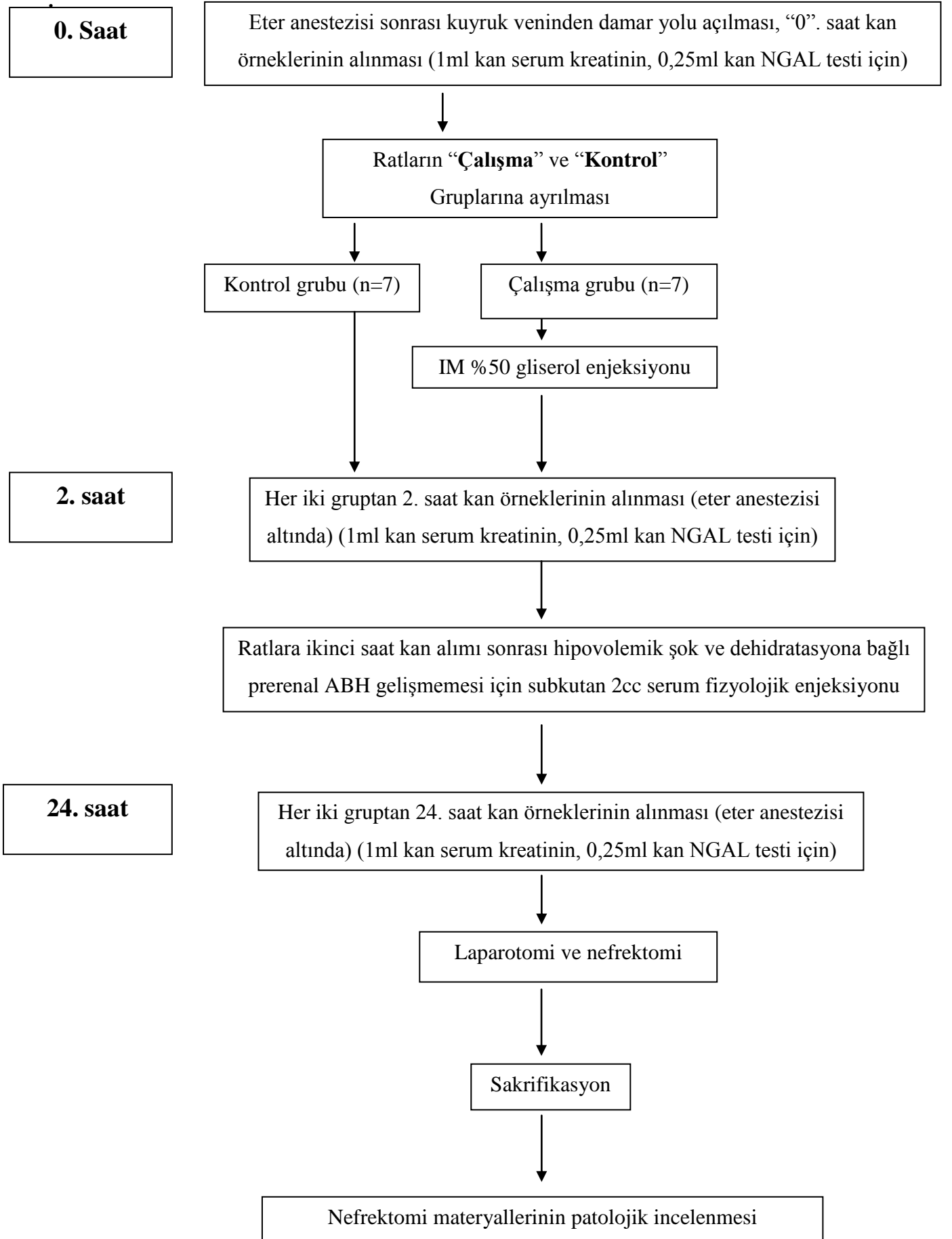
6. Değerlendirme yöntemleri

Ratlardan 24. saat SKr değerlerinde, AKIN kriterlerine göre bazal değere göre %50'den fazla yükselme gözlenenlerde biyokimyasal olarak ABH gelişmiş olduğu kabul edildi (13).

7. İstatistiksel yöntem

İstatistik analiz 'SPSS for Windows' istatistik programının '15.0 versiyonu' kullanılarak yapılacak, sonuçlar ortalama±standart sapma biçiminde verildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi, grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon işaret testi kullanıldı. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Şekil 1. Çalışma İş Akış Şeması



VIII. BULGULAR

Her iki gruptaki ratlar için bazal ve 24. saat ağırlık ortalamaları Tablo 3’de görülmektedir. Ağırlık ortalamaları açısından kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Mann Whitney U, $p>0.05$).

Tablo 3: Çalışma ve kontrol gruplarında bazal ve 24. saat ortalama ağırlık değerleri

	Kontrol grubu	Çalışma grubu	p değeri
Bazal ağırlık Ortalaması	250,9± 3,6 gr	248,9± 3,8 gr	0,305
24. saat ağırlık Ortalaması	251,2 ± 2,4 gr	248,9 ±2,8 gr	0,109

Tablo 4’de verilen SKr değerleri göz önüne alındığında kontrol grubunda hiçbir ratta ABH gelişmezken, çalışma grubunda; bir ratta “I. Derece”, bir ratta “II. Derece”, beş ratta ise “III. Derece” ABH gelişti.

Tablo 4: Çalışma ve kontrol gruplarında “Bazal (0. saat), 2. saat ve 24. saat SKr değerleri”

Rat No	0. Saat kreatinin (mg/dL)	2. Saat kreatinin (mg/dL)	24. Saat kreatinin (mg/dL)
Kontrol 1	0,49	0,42	0,61
Kontrol 2	0,47	0,56	0,6
Kontrol 3	0,49	0,37	0,62
Kontrol 4	0,5	0,6	0,56
Kontrol 5	0,52	0,57	0,66
Kontrol 6	0,47	0,48	0,64
Kontrol 7	0,48	0,41	0,57
Çalışma 1			
Çalışma 1	0,49	0,5	0,88
Çalışma 2	0,46	0,47	1,74
Çalışma 3	0,46	Kan alınamadı	2,07
Çalışma 4	0,54	0,49	2,59
Çalışma 5	0,51	Kan alınamadı	2,26
Çalışma 6	0,47	0,76	1,23
Çalışma 7	0,49	0,62	1,6

Çalışmada ölçülen bazal SKr ortalama değerleri kontrol grubu için $0,49\pm,018$ mg/dL, ÇALIŞMA grubu için $0,49\pm,029$ mg/dL olarak saptandı (Tablo 5). Çalışma başlangıcında her iki grup ratların bazal SKr ortalama değerleri arasında anlamlı fark gözlenmedi (Mann Whitney U, $p>0.05$).

Çalışmada 2. saat SKr ortalama değerleri kontrol grubu için $0,49\pm 0,09$ mg/dL, ÇALIŞMA grubu için $0,57\pm 0,12$ mg/dL olup (Tablo 6) gruplar arası anlamlı fark yoktu (Mann Whitney U, $p>0.05$). ÇALIŞMA grubundan 10 ve 12 no'lu ratlardan 2. saat serum örneği alınamadı. Bazal ve 2. saat SKr değerleri açısından kontrol ve ÇALIŞMA grupları arasında anlamlı fark bulunmadı (Mann Whitney U, $p>0.05$).

Çalışmada 24. saat SKr ortalama değerleri kontrol grubu için $0,61\pm 0,04$ mg/dl, ÇALIŞMA grubu için $1,77\pm 0,59$ mg/dl olup (Tablo 6), iki grup arası fark anlamlı bulundu (Mann Whitney U, $p<0.05$).

Tablo 5. Çalışma ve kontrol gruplarında bazal, 2. saat ve 24. saat ortalama Kr değerleri

	Kontrol grubu Kr ortalaması (mg/dL)	ÇALIŞMA grubu Kr ortalaması (mg/dL)	p değeri
Bazal (0. Saat)	$0,49\pm,018$	$0,49\pm,029$	0,745
2. Saat	$0,49\pm 0,09$	$0,57\pm 0,12$	0,223
24. Saat	$0,60\pm 0,04$	$1,77\pm 0,59$	0,002

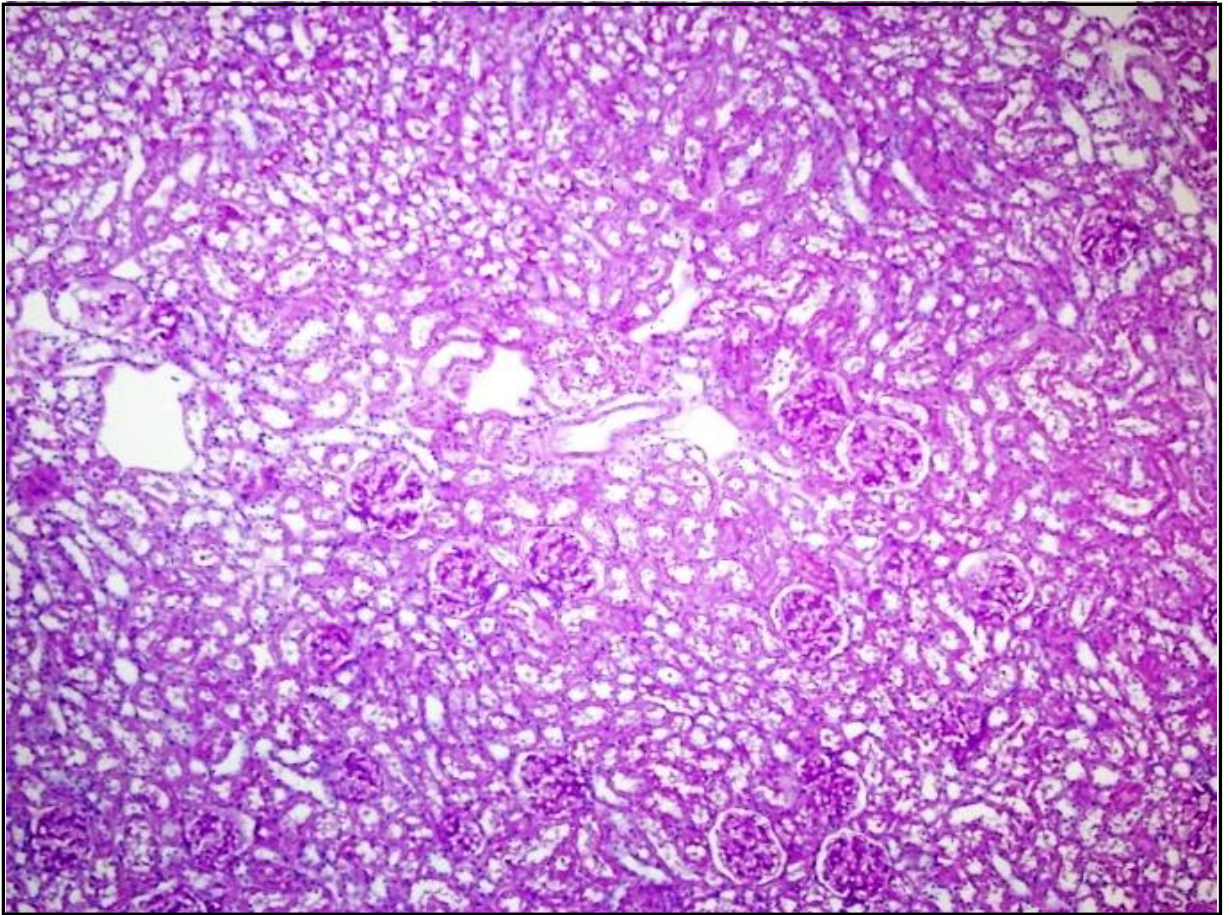
Çalışma sırasında kontrol ve çalışma gruplarında bakılan bazal, 2. ve 24. saat NGAL değerleri normal sınırlardaydı. çalışma grubunda ki 14 numaralı ratın 2. saat NGAL değeri olan 127 ng/ml normal sınırlar içindeydi (Tablo 6). Tüm NGAL değerleri normal sınırlarda ve 14 numaralı ratın 2. saat değeri dışında hepsi <60 ng/ml saptanması nedeni ile NGAL değerleri için istatistik çalışması yapılmadı.

Tablo 6. Çalışma ve kontrol gruplarında bazal (0. saat), 2. saat ve 24. saat serum NGAL değerleri

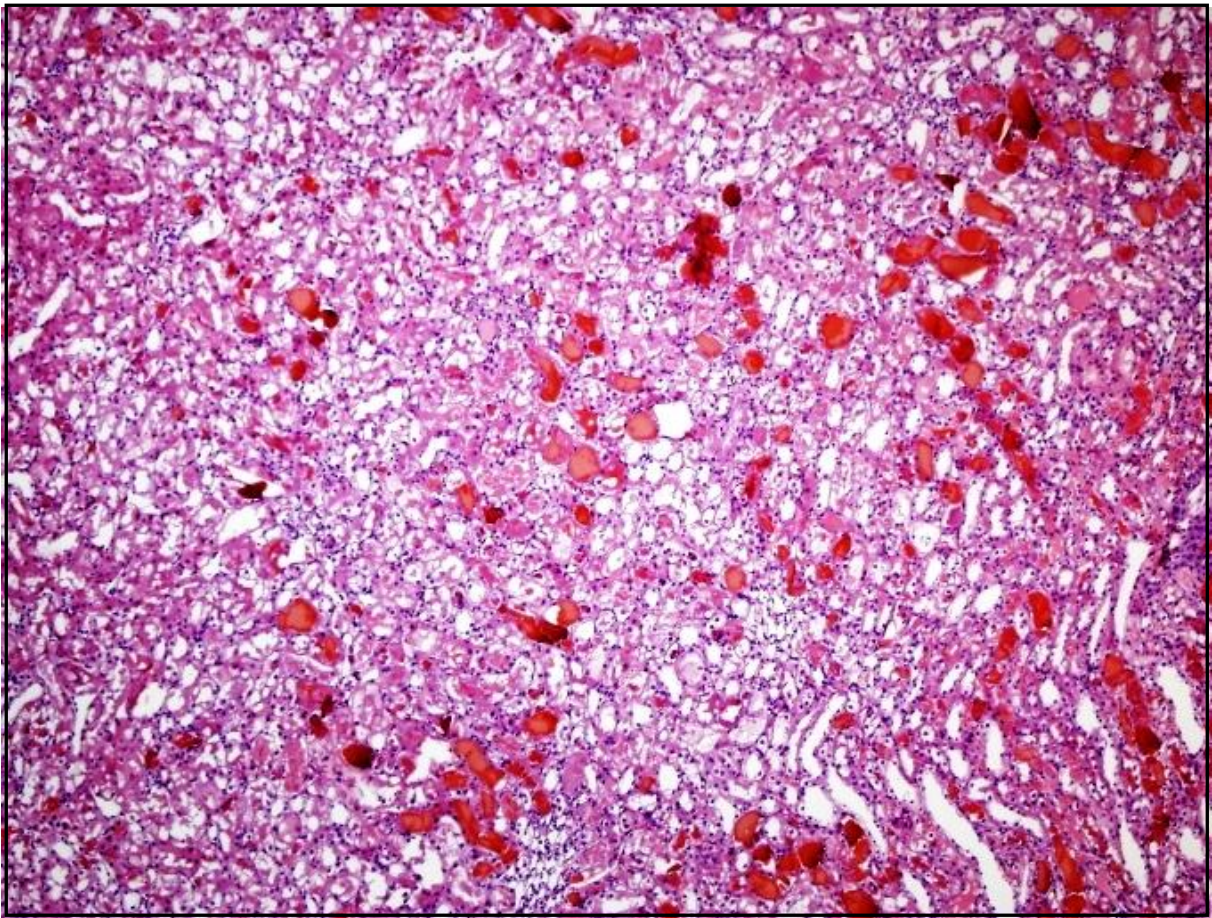
Rat no	0. saat NGAL (ng/ml)	2. saat NGAL (ng/ml)	24. saat NGAL (ng/ml)
Kontrol 1	<60	<60	<60
Kontrol 2	<60	<60	<60
Kontrol 3	<60	<60	<60
Kontrol 4	<60	<60	<60
Kontrol 5	<60	<60	<60
Kontrol 6	<60	<60	<60
Kontrol 7	<60	<60	<60
Çalışma 1	<60	<60	<60
Çalışma 2	<60	<60	<60
Çalışma 3	<60	<60	<60
Çalışma 4	<60	<60	<60
Çalışma 5	<60	<60	<60
Çalışma 6	<60	<60	<60
Çalışma 7	<60	127	<60

Patolojik değerlendirme için yapılan nefrektomi materyallerinden kontrol grubundan 5 numaralı, çalışma grubundan 4 no'lu ve elektron mikroskopisi için alınan örnekler materyal uygunsuzluğu nedeni ile değerlendirilemedi. Tablo 7'de görüldüğü üzere, kontrol ve çalışma grubu karşılaştırıldığında, çalışma grubunda ağır tübüler hasarlanma görüldü. Bulgular ve fotoğraflara bakıldığında, çalışma grubundaki değerlendirmede mikrovillus kaybı, sitoplazmik ve nükleer integritiy kaybı, kast yapısı yaygınlığı derece 3 düzeyinde saptanırken tübül epitel hücre kaybı derece 2 düzeyinde, rejeneratif epitel hücre varlığı derece 1 düzeyinde saptandı (Fotoğraf 3-7)

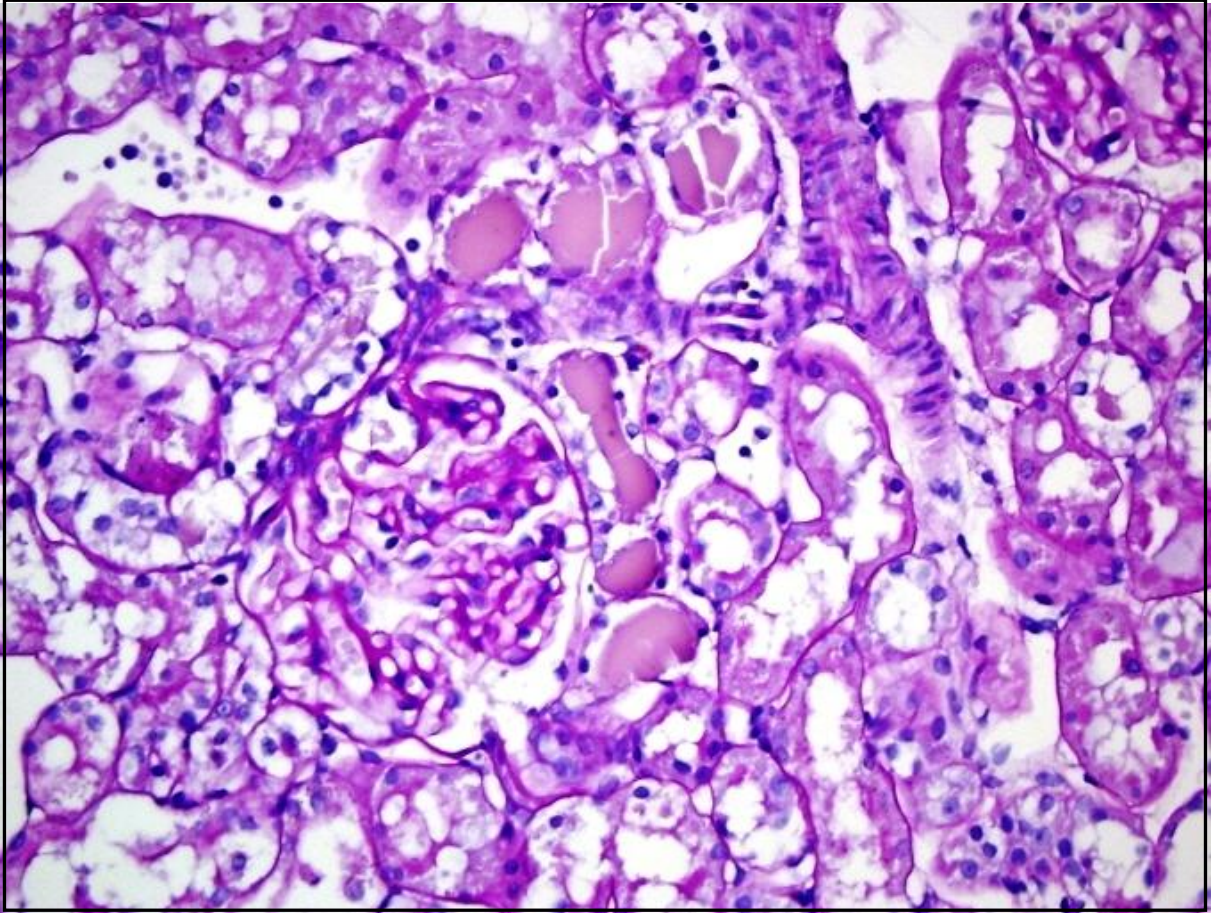
Fotoğraf 3: Doğal görünümde korteks kast yapısı ya da tübül epitel hücre hasarı yok



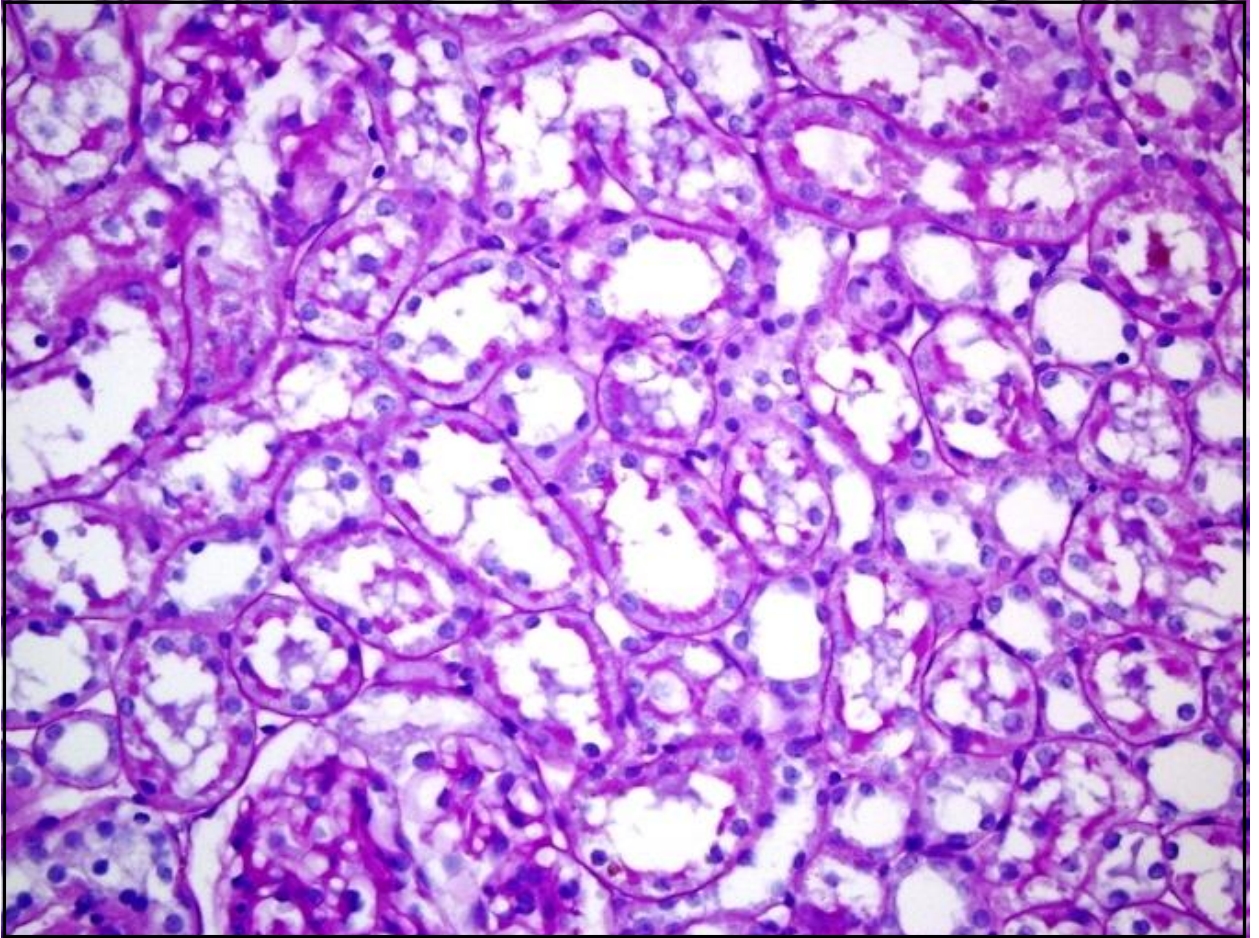
Fotoğraf 4: Kortikal ve medüller yaygın kast varlığı



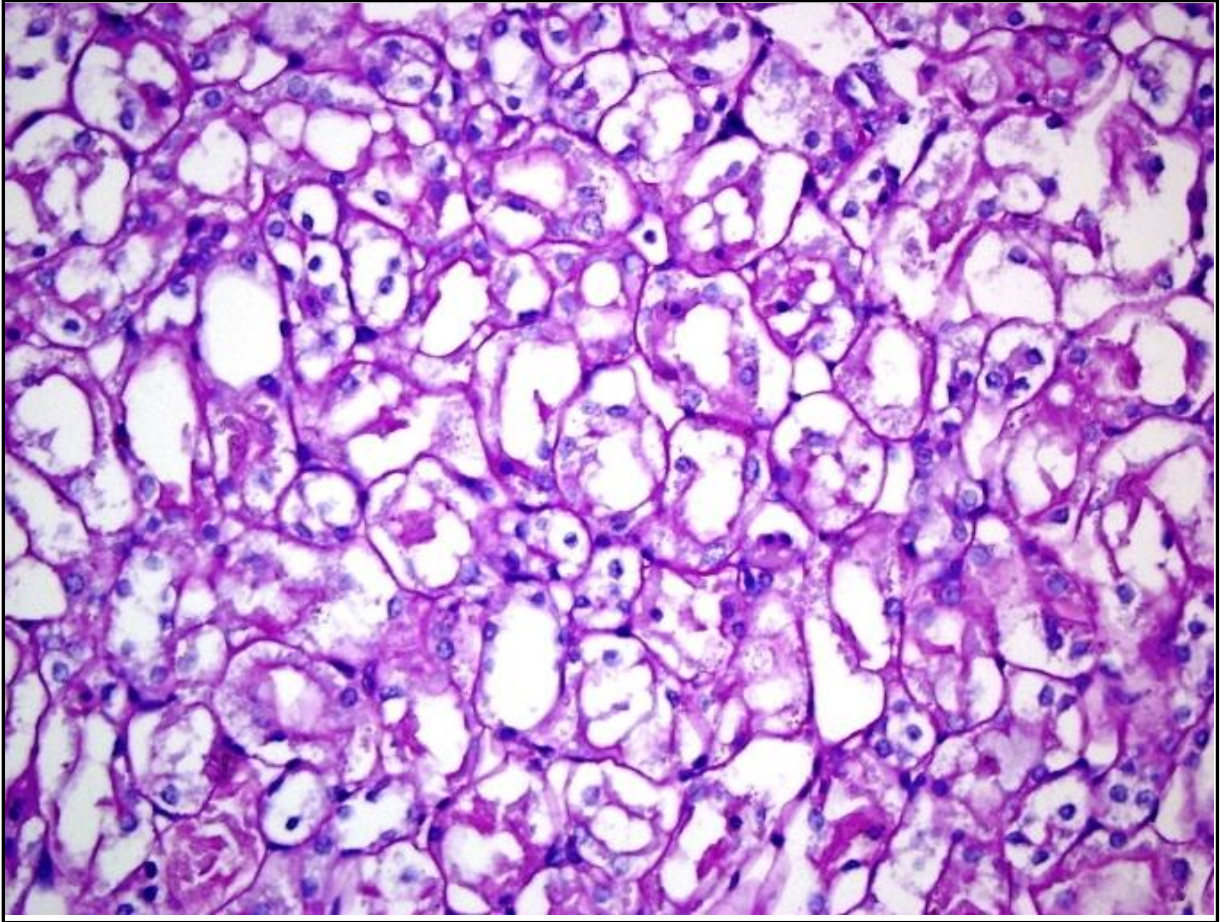
Fotoğraf 5: Proksimal tübüller içersinde hyalen kast ve yaygın tübüler epitel hasarı



Fotoğraf 6: Proksimal tübüllerde korunmuş firçamsı kenar



Fotoğraf 7: Yaygın tübül epitel hücre hasarı, stoplazmik ve nükleer düzensizlik



Tablo 7. Patolojik ABH bulguları

	Mikrovillus kaybı	Sitoplazmik ve nükleer integritiy kaybı	Tübül epitelyum hücre kaybı	Kast yapısı	Rejeneratif epitel
Kontrol 1	Derece 1	Derece 1	Derece 1	Derece 0	Derece 1
Kontrol 2	Derece 1	Derece 0	Derece 0	Derece 0	Derece 0
Kontrol 3	Derece 1	Derece 1	Derece 0	Derece 0	Derece 0
Kontrol 4	Derece 1	Derece 1	Derece 1	Derece 0	Derece 0
Kontrol 5					
Kontrol 6	Derece 2	Derece 1	Derece 1	Derece 0	Derece 1
Kontrol 7	Derece 2	Derece 1	Derece 1	Derece 0	Derece 1
Çalışma 1					
Çalışma 1	Derece 3	Derece 2	Derece 2	Derece 2	Derece 1
Çalışma 2	Derece 3	Derece 3	Derece 2	Derece 3	Derece 1
Çalışma 3	Derece 3	Derece 3	Derece 2	Derece 3	Derece 1
Çalışma 4					
Çalışma 5	Derece 3	Derece 3	Derece 2	Derece 3	Derece 1
Çalışma 6	Derece 3	Derece 3	Derece 2	Derece 3	Derece 1
Çalışma 7	Derece 3	Derece 2	Derece 2	Derece 3	Derece 1

IX. TARTIŞMA

Ratlarda, IM %50'lik gliserol enjeksiyonu sonucu oluşan Rb'e ikincil ABH'nın erken dönem tanısında "0", "ikinci saat" ve "24. saat" serum NGAL değerlerinin anlamsız olduğunu bulduk. Bununla beraber "0" ve "ikinci saat" serum SKr değerlerinin yine anlamsız fakat "24. saat" SKr değerlerinin anlamlı idi (p=0.002). AKIN kriterlerine göre 24. saat SKr değerlerindeki artıştan dolayı çalışma grubunda deneysel Rb'e ikincil ABH gelişirken, kontrol grubunda %50'nin üstünde SKr artışı olmaması nedeni ile ABH gelişmediği gözlenmiştir, yapılan patolojik incelemelerde bunu desteklemiştir.

CS ve Rb savaşlarda, madenlerdeki göçüklerde, endüstri ve trafik kazalarında ve de en sık depremlerde ortaya çıkar. Bir gözleme göre, bir binanın tamamen çökmesi durumunda binada bulunanların %80'i hemen ölür; yaşayanların da %40'ında CS gelişir. Ancak, tüm CS'lu hastalarda değil, olguların ancak 1/3'ünde akut böbrek yetmezliği gelişir (2).

Rb'e ikincil ABH sık görülen ve Rb'nin en önemli komplikasyonlardan birisidir (1). Rb'e ikincil ABH'nin tedavisinde erken tanı önemlidir. ABH saatler içinde başlayabilmekte ama ne yazık ki SKr değeri dışında ilk 24 saat içinde tanı koydurabilecek yönteminin olmaması tedaviyi geciktirmektedir (19). ABH'lı hastalarda SKr, çalışmamızda da olduğu gibi en erken 24. saatte yükselmektedir (12).

Günlük yaşamda, yani acil servis pratiğinde, esas sorun hastalara tanı amacıyla (pulmoner emboli, akut batın ayırıcı tanıları vs.) çekilen BT-anjio, bilgisayarlı tomografi gibi filmlerde kullanılan kontrast maddeye ikincil gelişen kontrast nefropatisidir. Burada iki türlü sorun vardır. Mesela acil servisteki hastamıza kontrastlı batın tomografisi çekilecek. Kişide daha önceden ABH olup olmadığını bilmediğimiz için sKr değerine bakıyor ve ona göre çekimi yapıyor veya yapmıyoruz. Fakat hastamıza mesela geçen gün ve/veya birkaç saat önce başka hastanede kontrast kullanıldı ise (anjio, herhangi bir amaçla kontrastlı film çekim vs.) hastada ABH gelişmiş olabilir ama daha 24 saat dolmadığı için bunu teşhis edemeyeceğiz ve de hasta iatrojenik akut böbrek yetersizliğine girecektir. Bu durum, hastanın morbidite ve mortalitesini arttıracığı gibi, hasta memnuniyetini azaltacak, tedavi masraflarının artmasına ve hatta adli sorunların ortaya çıkmasına neden olabilecektir. Bir diğer sorun ise tedavide olan gecikmedir. Kontrastlı film çekimi öncesi ABH olup olmadığını anlamak sKr değeri için hastadan kan örneği alınmakta ve merkez laboratuvarına gönderilmektedir. Sonuç en iyi şartlarda 90 dakika sonra elimize geçmekte, bu süre içinde hasta acil servis içinde beklemekte, acil servisi gereksiz olarak işgal etmekte ve de kendisinin memnuniyetsizliği artmaktadır.

İşte bu aşamada bize hemen yatak başı yapılabilecek, ABH gelişen hastada ilk saatlerde tanı koydurabilecek, kullanımı kolay ve ucuz tanı yöntemine ihtiyacımız vardır. Yapılan birçok çalışma NGAL testini bu özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (4, 15, 17, 20, 25, 26). Biz de bu görüşün doğruluğunu ortaya koymak için deneyimizi planladık.

İnsanlarda deneysel Rb oluşturmak etik açıdan mümkün değildir. Ratlarda da deneysel kontrast nefropatisi bilinmeyen nedenlerle oluşturulamamaktadır (28). İşte bu nedenle çalışmamızda, ratlarda rabdomyoliz ve buna ikincil ABH gelişmesine yarayan modeli kullandık.

Bu uygulamamızın ülkemiz şartları içinde ayrı bir önemi vardır. Ülkemiz bir afet ve deprem ülkesidir. Yaşanan depremler sonrası enkaz altında kalan ve yaralı olarak kurtarılan kişilerde de benzer mekanizma sonucu ABH gelişebilmektedir. Elektriklerin kesik, doktor ve laborant sayısının çok kısıtlı olduğu, laboratuvarların çalışmadığı, çok miktara yaralı ve hastanın olduğu afetlerde (Marmara depremi, Van depremi vs) bu özelliklere sahip testin önemi daha da artmaktadır. Bu tespit, yaptığımız hayvan deneyinin anlam ve önemini daha iyi ortaya koymaktadır.

Literatürde ABH oluşumunda serum ve idrar NGAL değerleri en erken 2. saatte arttığı görülmektedir (12). Rb'e ikincil ABH'da serum NGAL değerinin en erken hangi saat ve saatlerde yükseldiğine dair literatür bilgisi olmadığı için biz IM %50'lik gliserol enjeksiyonu sonrası ikinci saatte serum NGAL değerine bakmaya karar verdik. ABH varlığında ise sCr değeri 24. saatte yükseldiği için biz 24. saatte de NGAL değerine baktık.

Nickolas ve arkadaşlarının (22) acil servisteki 635 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, tek sefer idrar NGAL değerine bakarak ABH'nın prerenal azotemi, normal çalışan böbrek, ve kronik böbrek hastalığından ayırt edilebileceğini göstermiştir. Mishra ve arkadaşları (12) kalp ameliyatı sonrası ABH gelişen çocuklarda yaptıkları çalışmada idrar ve serum NGAL değerlerinin kalp cerrahisi sonrası gelişen ABH'nın tanısında spesifik ve sensitif tanı yöntemleri olduğunu bulmuştur. Kardiyak bypass ameliyatı sonrası ABH gelişen 99 hastanın erken dönem tanısında idrar NGAL testinin anlamlı bir test olduğu vurgulanmıştır (7). Haase ve arkadaşları (24), hazırladıkları sistematik derleme ve meta-analizde, farklı 19 çalışmada 2,500'den fazla hastanın bulgularını değerlendirdiklerinde ABH tanısında NGAL testinin anlamlı olduğunu vurgulamışlardır fakat NGAL'in kan veya serum değeri hakkında yorum yapmamışlardır. Başka bir derleme yazısında kreatinin, cystatin C, NGAL, KIM-1 vs gibi ABH tanısında kullanılabilir yöntemlerin çoğunlukla hayvanlara denendiği, insanlar üzerinde randomize kontrollü çalışmalarının olmadığı için kullanımının erken olduğunu vurgulamakta ve önermemektedir (25).

Literatür bilgileri incelendiğinde NGAL testinin daha çok idrarda bakıldığı, kan ve/veya idrar değerlerinin ABH tanısında etki olduğunu vurgulayan ve de buna karşı çıkan çeşitli görüşler vardır. Henüz acil serviste yapılan ve kanda ölçülen NGAL değerleri ile yapılan çalışmaya rastlamadığımız için biz bu deneyi bu şekilde kurgulamıştık. Yani deneyin kurgulanması tamamen özgündür.

Shemin ve arkadaşlarının (25) derleme yazılarında hem serum hem de idrar NGAL değerlerinin ABH'nın erken dönem tanısında başarılı olduğunu hatta iskemik kalp hastalıklarında kullanılan troponin gibi, bu tanı testinin de ABH tanısında tanı yöntemi olabileceğini iddia etmişlerdir.

Gördüğümüz gibi gerek yapılan çalışmalarda gerekse derleme yazılar ve metaanalizlerde NGAL'in ABH'nın erken dönem tanısında etkinliği konusunda birbirleri ile çelişen görüşler vardır. Bizde çalışmamızda ratlarda böbrek yetersizliği geliştiğini hem patolojik hem de kan kreatinin değeri ile ortaya koyduk ama serum NGAL değerlerinde tanıya götürücü anlamlı bir değişme olmadı. Bunun nedeni kullandığımız yöntem ile ilgili olabileceği gibi serum NGAL değerinin ABH'nın erken dönem tanısında tanı değerinin olmamasından da kaynaklanabiliyor olabilir. Belki ratlarda bu yöntemle yaratılan ABH'da erken dönemde serum NGAL değerlerinde değişme/yükselme olmuyordur. Yani böyle bir deney modeli için ratlar uygun denek çeşidi değildir. Bir de bugüne kadar yapılan çalışmalar ameliyat (bypass vs.) ve/veya girişim (anjio vs.) sonrası yapılmış ve de genellikle deneklerin idrarında NGAL değerleri bakılmıştır. Hâlbuki biz çalışmamızda serum NGAL değerlerine baktık. Bulgularımızın farklılığı bundan kaynaklanabiliyor olabilir.

Patolojik incelemelerde, ratlarda ABH oluşumu makroskopik ve mikroskopik bulgularla objektif olarak ortaya konmuştur. Enjeksiyonu takiben 2. saatte myoglobüniyeye bağlı hematüri gözlenmiştir. Yapılan histopatolojik incelemede ABH mikroskopik seviyede de gösterilmiştir (Fotograf: 3-7).

ABH erken tanısı açısından istenmeyen bir özellik olarak akciğer gibi diğer epitel hücrelerinden salgılanması bu organların hasarlarında da ABH olmadan idrar ve kan miktarını arttırmaktadır (26). Bu yüzden çalışmamızın idrar NGAL'ın tanıda daha duyarlı olduğunu, ayrıca ABH'da serum NGAL değerlerinin yükselmesinin ya azalmış GFH'ya ya da diğer epitelyum içeren organların hasarına bağlı olduğu öngören yayınlara destek vereceğini düşündük (17,26).

Bir serum NGAL kitinin bedeli 24 TL'dir (24.10.2011). Dokuz Eylül Hastanesi Merkez Laboratuvarında SKr değerinin maliyeti 1.45 TL'dir (24.10.2011). ABH tanısında SKr değerinin kullanılmasının maliyeti çok daha düşüktür. Yani aslında cost-effective

çalışmada değildir. Ancak yatak başı çalışılabilen testlerde hastane öncesi alanda veya tıbbi ekip ve zaman yetersizliğinin oldukça önemli bir sorun olduğu afet durumlarında bu maliyet farkının önemli olmadığı düşüncesindeyiz.

Kontrol grubunda tespit ettiğimiz, istatistiksel olarak anlamlı fakat AKIN kriterlerine göre ABH kabul etmediğimiz SKr artışları iki saat arayla alınan yaklaşık 2.5cc kan miktarına, yani alına kan miktarının ratların total kan hacmi ile karşılaştırıldığında yüksel olmasına bağlandı. Bundan dolayı benzer hayvan deneyleri için total kan volümü daha yüksek olan hayvanların kullanımı daha uygun olacaktır.

Bundan sonra aminoglikozid ilaçlar gibi başka nefrotoksik ajanlarla yaratılan ve/veya pre/postrenal böbrek yetersizliklerinde NGAL'in etkinliği araştırılabilir.

X. SONUÇ

Bu çalışma modelinde; ratlarda IM %50'lik gliserol ikincil gelişen Rb'e bağlı ABH'nın erken dönem tanısında gliserol enjeksiyonu sonrası ikinci saat serum NGAL ve Kr değerlerinin anlamsız olduğunu, bunun yanında 24. saat serum NGAL değeri tanıda anlamsızlığını korurken Kr değeri tanı koymada anlamlı hale gelmiştir.

XI. KAYNAKLAR

- 1- Tintinalli J.E, Stapczynski J.S, Cline D.M, Ma O.J et al. (2011). Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide. (7. bs.) New York: McGraw Hill.
- 2- Sever M.Ş. (2002). Crush (Ezilme) Sendromu ve Marmara Depremi'nden Çıkarılan Dersler. İstanbul:Türk Nefroloji Derneği Yayınları
- 3- Hawkins R._New Biomarkers of Acute Kidney Injury and the Cardio-renal Syndrome Korean J Lab Med 2011;31:72-80
- 4- Urbschat A, Obermüller N, Haferkamp A. Biomarkers of kidney injury. Biomarkers 2011;16(S1):22-30.
- 5- Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Defining acute renal failure: physiological principles. Intensive Care Med 2004;30:33-7.
- 6- Zappitelli M, Washburn K.K, Arikian A.A, Loftis L et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. Critical Care 2007;11:R84
- 7- Bennett M, Dent CL, Ma Q et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. Clin J Am Soc Nephrol 2008;3:665-73.
- 8- Karen ML, Evan DK, Richard AZ. Anesthetic effects on the glycerol model of rhabdomyolysis induced acute renal failure in rats. J Am Soc Nephrol 1998;9:305-9.
- 9- Christian R, Marina G, Ahuva S, et al. Evidence for sustained renal hypoxia and transient hypoxia adaptation in experimental rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. Nephrol Dial Transplant, 2008;23:1135-43.
- 10- Donald EO, Manuel LA, Douglas RW. Glycerol-induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat. I.Micropuncture study of the development of oliguria. J Clin Invest 1966;45: 724-35.
- 11- Bellomo R, Kellum JA, Mehta R, Palevsky PM et al. Acute Dialysis Quality Initiative: the Vicenza conference. Curr Opin Crit Care 2002; 8:505-8.
- 12- Mishra J, Dent C, Tarabishi R et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. Lancet 2005;365:1231–8.
- 13- Mehta R.L, Kellum J.A, Shah S.V. et al Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury Crit Care. 2007;11:2.

- 14- Bywaters EGL, Beall D. Crush injuries with impairment of renal function. *Br Med J* 1941;1:427-32.
- 15- Fauci A.S, Braunwald E, Kasper D.L, Hauser, S.L et al. (2008). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. (17. Bs.), New York:McGraw Hill.
- 16- Kekeç Z. (2010). *Tüm Yönleriyle Acil Tıp Tanı Tedavi ve Uygulama Kitabı* (1. bs.), Adana: Nobel Tıp Kitabevi.
- 17- Rafael SAL, Geraldo BSJ, Alexandre BL et al. Acute kidney injury due to rhabdomyolysis. *Saudi J Kidney Dis Transplant*, 2008;19:721-9.
- 18- Bagley W.H, Yang H, Shah K.H. Rhabdomyolysis. *Intern Emerg Med*, 2007;2:210-8.
- 19- Yavuz M. Crush Sendromu ve Akut Böbrek Yetmezliği. *Turk Neph Dial Transpl* 1999; 4:163-6.
- 20- Gunal AI, Celiker H, Dogukan A, Ozalp G, et al. Early and Vigorous Fluid Resuscitation Prevents Acute Renal Failure in the Crush Victims of Catastrophic Earthquakes *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:1862-7.
- 21- Brown CV, Rhee P, Chan L, Evans K et. al. Preventing renal failure in patients with rhabdomyolysis: do bicarbonate and mannitol make a difference? *J Trauma*.2004;56:1191-6.
- 22- Nickolas TL, O'Rourke MJ, Ynag J et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase–associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med*, 2008;148:810-9.
- 23- Hoffmann D, Fuchs T.C, Henzler T, Matheis K.A. Evaluation of a urinary kidney biomarker panel in rat models of acute and subchronic nephrotoxicity. *Toxicology* 2010;277:49-58.
- 24- Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis*.2009;54:1012-24.
- 25- Shemin D, Dworkin L.D, Neutrophil gelatinase–associated lipocalin (NGAL) as a Biomarkerfor Early Acute Kidney Injury. *Crit Care Clin* 2011;27:379-89.
- 26- Eagan T.M, Damås J.K, Ueland T. et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin : A Biomarker in COPD *Chest* 2010;138:888-95
- 27- Pereira B.J, Castro I, Burdmann E.A. et al. Effects of sirolimus alone or in combination with cyclosporine A on renal ischemia/reperfusion injury. *Braz J Med Biol Res*, 2010;43:737-44.
- 28- Nefrotoksik ve sepsis ilişkili akut böbrek hasarı modelleri. *Türkiye Klinikleri J nephrol topics* 2010; 3(3):11-22.

XII- EK.1 Etik kurul onay formu

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

35340, Inciraltı, İzmir-232 4122234
http://deu.edu.tr/idenyetik/

Toplantı No : 07/17/2011
Toplantı Tarihi : 09 Eylül 2011

Acil Tıp Anabilim Dalı Başkanlığı'na

52/2011 Protokol No'lu: Acil Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Gürkan ERSOY'un yürüttüğü olduğu "Ratlarda oluşturulan deneysel rabdomyolize ikincil "Akut Böbrek hasarı"nın erken dönem tanısında "Serum Kreatinin" ve serum "Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin" değerlerinin karşılaştırılması" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Başkanı
(Araştırmacı)

Prof.Dr.Alper SOYLU
Üye

Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı
(Araştırmacı)

Prof.Dr.Ayşe GELAL
Üye

Prof.Dr.Selman SÖKMEN
Üye (Topl.katılmadı)

Prof.Dr.O.Nejat SAKIOSMANOĞLU
Üye

Prof.Dr.Abdullah KUMRAL
Üye

Prof.Dr. Hüseyin BASKIN
Üye

Doç.Dr.Turna İLKNUR
Üye

Doç.Dr.H.Alper BAĞRIYANIK
Üye

Doç.Dr.Tonay İNCEBOZ
Üye

Vtr.Hekim Adnan SERPEN
Üye

Ayşe Nur BALİN
Üye(Topl.katılmadı)

Doç.Dr.Şermin GENÇ
Üye

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.