

İYONİK VE NON-İYONİK KONTRAST MADDELERİN AKUT RENAL TOKSİTELERİNİN HÜCRE KÜLTÜRLERİNDE KARŞILAŞTIRMALI ARAŞTIRMASI

Sibel Yavru ¹

Nuri Yavru ²

The Comparative Study On Acute Renal Toxicity Of Ionic And Non-ionic Contrast Media In Cell Culture

Summary : In this study was carried out to show the damage of high osmolality ionic and low osmolality non-ionic contrast media in indirect radiography of kidneys, invitro.

In this study MDBK was used as permanent cell culture. Omnipaque (Iohexol) which is low osmolality non-ionic and Urografin 76 % (Diatrizoate) which is high osmolality ionic contrast media were used in different dilution concentrations.

As a result ionic contrast media even in low concentration produced CPE in kidney cell culture, but alternatively the same effect was determined in non-ionic media after 24 hours without any dilution. CPE was not determined in cell cultures dilution of these media.

Özet : Çalışma böbreğin indirekt radyografisinde kullanılan osmolalitesi yüksek iyonik ve osmolalitesi düşük non-iyonik kontrast maddelerin böbrekte yaptığı tahribatı invitro olarak göstermek amacıyla yapıldı.

Çalışmada doku kültürü olarak MDBK (Madine Darby Bovine Kidney) devamlı hücre kültürü kullanıldı. Kontrast madde olarak osmolalitesi düşük non-iyonik Omnipaque (Iohexol) ile osmolalitesi yüksek olan iyonik Urografin % 76 (Diatrizoate) nin farklı yoğunluktaki sulandırılmaları ile çalışıldı.

Sonuç olarak iyonik kontrast maddelerin düşük konsantrasyonda dahi böbrek hücrelerinde CPE oluşturdıkları buna karşılık non-iyonik maddelerin sulandırmadan kullanıldığında 24 saat sonra aynı etkiyi yaptığı gözlemlendi. Bu maddelerin sulandırma basamaklarında ise doku kültürlerinde hiçbir CPE saptanmadı.

Giriş

Kontrast maddeler gerek insan gerekse hayvan hekimliğinde böbrek hastalıklarının teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kullanılan kontrast maddeler iyonik ve non-iyonik olmak üzere iki grub altında toplanmaktadır. İyonik kontrast maddelerin osmolalitesi yüksek olup kullanımında böbrek kan akımında azalma, diürezis, ozmotik nefrozis, proteinuri, glomerul filtrasyonun azalması gibi yan etkiler görülmektedir (3,

4, 5, 6, 7, 9). Bu etkilerin kullanılan kontrast maddenin yüksek osmolalitesi sonucu olduğu iddia edilmektedir (2,3). Bettman ve Morris (1) bu yan etkilerin osmolalitesi düşük olan maddeler kullanılarak azaltılabileceğini ileri sürmektedir. Holtas ve ark. (4, 5, 7) yaptıkları bir seri çalışma sonucu renal angiografi sonrası görülen proteinurinin asıl nedeninin kullanılan kontrast maddenin kimyasal yapısına ve bireysel faktörlere bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Aynı araştırmacılar osmolalitenin dominant bir faktör olmadığını göstermişlerdir. Yine Ödev ve ark. (10)'ları proteinurinin yalnız osmolalite değil aynı zamanda bireysel faktörler ve maddenin kimyasal yapısından kaynaklanabileceğini ifade etmektedirler. Proteinuri böbrek kaynaklı olup bu ilaçların böbrek ve damar endotelinde yaptığı tahribata bağlıdır (8).

Son yıllarda bilim adamları özellikle böbrek indirekt radyografisi için osmolalitesi düşük, suda eriyen yeni kontrast maddelerin geliştirilmesine yönelmişlerdir. Non-iyonik karekterli bu maddelerin kullanılması ile daha önce görülen yan etkilerin azaltılabileceği ileri sürülmektedir (1, 2, 3, 12). Bazı araştırmacılar da (6, 12) yaptıkları çalışmalarda non-iyonik kontrast maddelerin iyonik kontrast maddelere oranla daha az proteinurie yol açtıklarını göstermişlerdir.

Bu çalışma osmolalitesi yüksek (iyonik) ve osmolalitesi düşük (non-iyonik) suda eriyen kontrast maddelerin böbrekteki yaptığı tahribatı böbrek hücre kültürlerinde invitro olarak karşılaştırmalı olarak göstermek amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

Araştırmada omnipaque ve urografin'nin farklı yoğunluktaki sulandırılmaları MDBK (Madine Darby Bovine Kidney) devamlı hücre kültüründe sitopatolojik yönden karşılaştırıldı.

1. Yard. Doç. Dr., S. Ü. Veteriner Fakültesi, Viroloji Bilim Dalı, Konya.
2. Doç. Dr., S. Ü. Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Konya.

Çalışmada kontrast madde olarak osmolalitesi düşük non-iyonik kontrast madde Omnipaque (Iohexol) ile osmolalitesi yüksek olan iyonik kontrast madde Urografin % 76 (Diatrizoate) kullanıldı.

Hücre kültürü şişesinde monolayer olarak üremesini tamamlayan MDBK hücre kültürü, çalışmanın gerçekleştirildiği mikropate'lere aktarıldı. Bu amaçla hücre kültürü şişesindeki vasat dökülerek, hücre yüzeyleri Phosphat Buffered Saline-Minus (PBS-M) ile yıkandı. Yıkama işlemini takiben, hücre kültürü şişelerine, hücreleri birbirinden ve şişe yüzeyinden ayırmak için PBS-Versen + % 1'lik tripsin solusyonundan ilave edilerek 37°C de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda elde edilen sıvı+hücre süspansiyonu 10 dakika süreyle 1000 devirde santrifuj edildi. Santrifuj sonunda dipte toplanan hücre peleti, % 2 fetal dana serumu (FDS) ihtiva eden, 100 IU/ml Penisilin, 100 mic.g/ml Streptomisin ve 50 mic.g/ml Kanamisin ilave edilen Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) içinde 2.5×10^5 hücre/ml olacak şekilde sulandırıldı. Bu şekilde hazırlanan hücre süspansiyonlarından mikropate'deki her bir göze 0.1 ml konarak, 37°C'deki % 5 CO₂ ihtiva eden etüvde 1 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Omnipaque ve Urografin 'nin 2 basamaklı sulandırmaları hazırlandı. Mikropate 'teki gözlerde hücre üremesi sağlandıktan sonra hücre üretme vasatları döküldü. Hazırlanan her bir sulandırma basamağı için mikropate'de bir sırada bulunan dört adet göze % 10 kontrast madde sulandırmalarından içeren yeni vasat ilave edildi. Kontrol olarak ayrılan 8 adet göze ise % 10 oranında PBS içeren vasat kondu. Takib eden günlerde her sulandırma basamağı için mikropate'te ayrılan 4 adet göz doku kültürü mikroskobunda (Olympus C-K Tokyo) incelenerek, sitotoksosite sonuçları kayıt edildi (11).

Bulgular

Omnipaque ve Urografin'nin uygulandıkları sulandırmalarda MDBK hücrelerine olan sitopatolojik (CPE) etkileri Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Urografin'nin bütün sulandırma basamakları kontrollerle karşılaştırıldığında; direkt kullanıldığında 1. saatten itibaren hücrelerde yuvarlaklaşma ve lize neden olmuş sitopatolojik etki göstermiştir. Bu etki 1/16 sulandırmada 48 saat sonrasına kadar kendini göstermiştir. Omnipaque ise direkt kullanımında 24. saatten itibaren aynı sitopatolojik etki göstermiş, diğer sulandırma basamaklarında ise hiçbir sitopatolojik etkiye neden olmamıştır.

Tablo-1 Omnipaque'ın sulandırmalarının MDBK hücrelerindeki CPE etkileri

Sulandırmalar	Etki süreleri				
	10 dk.	30 dk.	1 saat	24 saat	48 saat
1	0/4	0/4	0/4	2/4	3/4
1/2	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
1/8	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
1/16	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
1/32	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
1/64	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

Tablo-2 Urografinin sulandırmalarının MDBK hücrelerindeki CPE etkileri

Sulandırmalar	Etki süreleri				
	10 dk.	30 dk.	1 saat	24 saat	48 saat
1	0/4	0/4	1/4	4/4	4/4
1/2	0/4	0/4	0/4	4/4	4/4
1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4
1/8	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4
1/16	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
1/32	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
1/64	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

Tartışma ve Sonuç

Aynı osmolaliteye sahip iki kontrast maddenin postanjiografik albuminuri yönünden karşılaştırılmasında albuminurinin biraz farklı olması bunda kimyasal yapının ve bireysel faktörlerin etkin olduğunu ortaya koymaktadır (4, 5, 7). Yapılan çalışmada farklı osmolaliteli iki kontrast maddenin sulandırılarak osmolalitelerinin azaltılmasına karşılık iyonik kontrast madde kullanılan hücre kültürlerinde dökülmenin görülmesi bunun böbrek hücreleri için toksik olabileceğini gösterdi. Ayrıca osmolalitenin albuminuri oluşumunda doğrudan etkili olamayacağını ortaya koydu. Her iki kontrast madde için kullanılan hücre kültürlerinin aynı orijinli olması invivo çalışmalarda ortaya çıkan bireysel faktörleri de elimine etmektedir. Kontrast maddeler arasında görülen bu toksisite farkı maddelerin kimyasal yapılarına bağlanabilir. İyonik kontrast madde kullanılan hücre kültürlerinde 1 saatten itibaren CPE görülmesi bu maddelerin non-iyonik kontrast maddelere oranla daha fazla proteinuri oluşturduğunu ifade etmektedir. Bu sonuç yapılan invivo çalışmalarla (1, 2, 3, 6, 10, 12) paralellik göstermektedir.

Bu araştırma sonucu ile, böbreğin indirekt radyografisi için daha önce iyonik kontrast maddelerin kullanılması ile azaltılabileceği görüşü desteklenmektedir.

Literatür Listesi

- 1-Bettman, M. A. and Morris, T. W. (1986). Recent advances in contrast agents. *Radiol. Clinic North Am.* 24, 347-359.
- 2-Dawson, P., Grainger, R. G. and Pitfield, J. (1983). The new lowosmolar contrast media: A simple guide. *Clinical radiology*, 34, 221-226
- 3-Golman, K. and Almen, T. (1985). Contrast media: induced nephrotoxicity. Survey and present state. *Invest. Radiol.*, 20, 90-96
- 4-Holtas, S., Almen, T., Hellestén, S. and Tejler, L. (1980). Proteinuria following nephroangiography IV-Comparison between metrizoate and metrizamide in man. *Acta Radiol. Diagn.*, 21, 491-494.
- 5-Holtaş, S., Almen, T. and Tejler, L. (1978). Proteinuria following nephroangiography III-Role of osmolality and concentration of contrast medium in renal arteries in dogs. *Acta Radiol. Diagn.*, 19, 401-407.
- 6-Holtas, S. Golman, K. and Törnquist, C. (1980). Proteinuria following nephroangiography VIII-Comparison between diatrizoate and iohexol in the rat. *Acta Radiol. Supplementum*, 362, 53-55.
- 7-Holtas, S. and Tejler, L. (1979). Proteinuria following nephroangiography IV-Comparison in dogs between ionic and non-ionic contrast media. *Acta Radiol. Diagn.*, 20, 13-18.
- 8-Kaneko, J. J. (1980). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Third edition. Academic Press Inc., Newyork.
- 9-Mudge, G. H. (1980). Nephrotoxicity of urographic radiocontrast drugs. *Kidney Int.*, 18, 540-552.
- 10-Ödev, K., Yavru, N., İzci, C. ve Nizamlioğlu, M. (1987). Köpeklerde iyonik ve non-iyonik kontrast maddelerle yapılan renal antiografi uygulamalarında proteinuri oluşumunun karşılaştırmalı olarak incelenmesi. *S. Ü. Tıp Fakültesi Derg.*, 1,3,35-50
- 11-Torneck, C. D. and Howley, T. D. (1983). The effect of calcium hydroxide on porcine pulp fibroblast invitro. *J. Endodon.* 9, 4, 131-136.
- 12-Törnquist, C and Holtas, S. (1984). Renal angiography with iohexol and metrizoate. *Radiology*. 150, 331-334.