



Relationship between Natriuretic Peptide Levels with Heart and Kidney Parameters in Rats with Chronic Renal Failure

Yıldıray BAŞBUĞAN¹ Zahid AĞAOĞLU²

¹Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Van, Turkey

²Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Sivas, Turkey

Received: 30.03.2018

Accepted: 12.10.2018

ABSTRACT

In the present study, the relationship between heart and kidney parameters compared to natriuretic peptide levels in rats having experimentally induced chronic renal failure were aimed to investigate. For this purpose, 60 Wistar albino rats were used as animal material. These rats were divided into two groups as control (10 male and 10 female) and study group (20 male and 20 female). Adenin (1gr/L) were added to the drinking water of the study group during 28 days. On the last day of the experiment, the animals were sacrificed under anaesthesia and blood, kidney, heart and liver samples were collected from all animals. When biochemical parameters examined; Ca²⁺ (p<0.01) and P (p<0.01) values increased in the study group compared to control group, but AST, ALT, LDH, CK, CK-MB and cTn I levels did not change significantly in both groups. Creatinin, urea and BUN, which all are diagnostic markers of kidney, levels increased in the study group as 1.55±0.20 mg/dL, 239.34 ± 22.00 mg/dL and 123.05 ± 15.02 mg/dL respectively. The same values in the control group were 0.34 ± 0.24 mg/dL, 41.07 ±1.39 mg/dL and 19.18 ± 0.6 mg/dL respectively. When natriuretic peptide parameters evaluated; BNP and NT-ProBNP levels increased significantly in the study group and the values were as 79.10 ± 12.64 pg/ml and 84.45 ±17.31 pg/ml respectively and the same values in the control group were 37.93 ± 3.68 pg/ml and 40.01 ± 5.85 pg/ml respectively. In the necropsy, enlargement in kidneys, and fading in their colours were observed in macroscopic examination. But, macroscopic changes in liver and heart were not observed in both groups. In the microscopic examination; tubular dilatation, crystallisation in the intertubular space and giant cell formation, degenerations in the tubuloseptills and tubulointerstitial nephritis were observed in the study group. In contrast, in the control group no changes observed both macroscopically and microscopically. As a result; it was concluded that diagnostic parameters used in the chronic renal failure may have a linear relationship between natriuretic peptides (especially BNP and NT-proBNP).

Keywords: Chronic renal failure, Natriuretic peptide, Rat

öz

Kronik Böbrek Yetmezliği Oluşturulan Ratlarda Kalp ve Böbrek Parametreleri İle Natriüretik Peptid Düzeyleri Arasındaki İlişki*

Bu çalışmada kronik böbrek yetmezliği oluşturulan ratlarda kalp ve böbrek parametreleri ile natriüretik peptid düzeyleri arasındaki ilişkinin ortaya konulması hedeflendi. Bu amaçla 60 adet Wistar albino rat materyal olarak kullanıldı. Ratlar, kontrol (10 dişi-10 erkek) ve çalışma (20 dişi-20 erkek) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Çalışma grubunun içme sularına 28 gün boyunca 1gr/L adenin katıldı. Çalışmanın son gününde hayvanlar anestezi altında sakrifiye edilerek, kan, böbrek, kalp ve karaciğer numuneleri alındı. Biyokimyasal parametreler irdelendiğinde; Ca²⁺ (p<0.01) ve P (p<0.01) düzeylerinde istatistiki olarak kontrol grubuna göre çalışma grubunda artış belirlenmesine rağmen, AST, ALT, LDH, CK, CK-MB ve cTn I değerlerinde kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiki olarak önemli bir fark belirlenmedi. Böbrek diagnostik belirteci olan kreatinin, üre ve BUN düzeyleri çalışma grubunda artış göstererek sırasıyla 1.55±0.20 mg/dL, 239.34±22.00 mg/dL, 123.05±15.02 mg/dL düzeyine gelmesine karşın kontrol grubunda ise bu değerler sırasıyla 0.34±0.24 mg/dL, 41.07±1.39, 19.18±0.6 mg/dL seviyesinde kaldığı belirlendi. Natriüretik peptid parametreleri incelendiğinde BNP ve NT-proBNP değerleri çalışma grubunda artış göstererek 79.10±12.64 pg/ml - 84.45±17.31 pg/ml düzeyine geldiği tespit edilmesine karşın kontrol grubunda ise bu değerler 37.93±3.68 pg/ml - 40.01±5.85 pg/ml seviyesinde kaldığı belirlendi. Deneklerin nekropsisinde çalışma grubunun makroskopik bakısında böbreklerde büyüme ve renklerinde açılma gözlenirken, kalp ve karaciğerde herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. Mikroskopik bakıda ise böbreklerde tubuler dilatasyon, intertubuler aralıkta kristalizasyon ve dev hücre oluşumu, tubulus epitellerinde dejenerasyon ve tubulointerstitiyel nefritise rastlandı. Buna karşın kontrol grubunun gerek makroskopik gerekse mikroskopik bakısında herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. Sonuç olarak kronik böbrek yetmezliğinde kullanılan diagnostik parametrelerle natriüretik peptitler (özellikle BNP ve NT-proBNP) arasında doğrusal bir ilişki olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kronik böbrek yetmezliği, Natriüretik peptid, Rat

GİRİŞ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY);metabolik bozukluklar, renal vasküler bozukluklar, immünolojik bozukluklar, enfeksiyonlar, primer tübüler bozukluklar, üriner kanal tıkanmaları, kongenital bozukluklar gibi durumlarda çok sayıda fonksiyonel nefronun geri dönüşümsüz kaybıdır.Üstelik,KBY'den böbreğin dışında diğer sistem ve organlar da olumsuz yönde etkilenmekte,. Ençok dolaşım sistemi etkilenmektedir (Yalçın ve Akpolat 2013).

Kalp hastalıklarının belirlenmesinde kullanılmaya başlanan "Natriüretik peptidler" miyokardiyal gerginlik sonucu atrium ve ventriküllerden dolaşıma salınan kuvvetli natriüretik, diüretik ve vazoaaktif özellikleri olan peptid yapısında nörohormonlardır (Connolly ve ark. 2008; San ve Selçuk 1993; Çam ve Vural 2003). Klinik kullanım açısından natriüretik peptidler Atrial Natriüretik Peptid (ANP), Brain Natriüretik Peptid (BNP), C-Tip Natriüretik Peptid (CNP) olmak üzere üç ana grupta incelenir (Oyama 2009; Akcan ve Oygür 2010).

Natriüretik peptidlerden hem ANP hem de BNP venöz kapasiteyi artırıp vasküler tonusu azaltıcı etkiye sahiptir (Çakır ve ark. 2006). BNP'in en önemli özelliklerinden birisi de kardiyak önyükü refleks taşikardi oluşturmadan azaltmasıdır. Bu etki vagal uyarımla santral sinir sisteminden sempatik uyarımın baskılanması ile gerçekleştirilir (Çakır ve ark. 2006).

Bu çalışmada, ratlarda deneysel olarak oluşturulan KBY'de öncelikle etkilendiği düşünülen kalp ve böbrek parametreleri ile erken teşhise yardımcı olabilecek natriüretik peptidler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapıldı.

MATERYAL ve METOT

Hayvan materyali

Çalışmada kullanılan hayvan materyali YYÜ Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Biriminden temin edildi ve çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun izni (27.06.2013/ tarih ve 2013/07 sayılı izin) ile birim bünyesinde gerçekleştirildi. Deneklerin bakım ve beslenmesinde standart rat pelet yemi ve normal çeşme suyu kullanıldı. Çalışmada, spesifik patojen free, sağlıklı, ortalama ağırlıkları 250-350 gr olan, 60 adet (30 adet erkek ve 30 adet dişi) Wistar albino ratrat kullanıldı. Denekler kontrol (10 erkek -10 dişi) ve çalışma (20 erkek -20 dişi) olmak üzere iki gruba ayrıldı.

Metot

Hayvanların kafes ortamına adaptasyonları sağlandıktan sonra çalışmaya başlandı. Kontrol grubuna musluk suyu verildi, çalışma grubuna ise kronik böbrek yetmezliği oluşturmak amacıyla içme sularına dört hafta boyunca 1 g/L adenine (Sigma, St Louis, MO, USA) ilave edildi (Hür ve ark., 2010). Dört haftanın sonunda hayvanlar 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun®, Bayer/Türkiye) ve 75 mg/kg dozda ketamin hidroklorürün (Ketalor®, Pfizer/Türkiye) intraperitoneal enjeksiyonuyla anesteziye alındı (İde, 2003). Biyokimyasal incelemeler için antikoagülsüz tüplere yeteri kadar kan alındıktan sonra ratlar kansız bırakma yöntemiyle hayvanlar sakrifiye edildi. Histopatolojik inceleme için formol (%4) içine böbrek, karaciğer ve kalpten doku örnekleri alındı.

Biyokimyasal muayeneler

Rutin biyokimyasal parametreler olan kreatinin, kan üre nitrojen (BUN), total kalsiyum, inorganik fosfat, kreatin kinaz (CK), kalp orjinli kreatin kinaz (CK-MB), laktat

dehidrogenaz (LDH), aspartat amino transferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) ticari test kitleri (Randox®-UK) ile spektrofotometrik olarak (Photometer® 5010 Boehringer Mannheim) ölçüldü. Natriüretik peptidler (ANP uscn®/ELISA Kit for rat, BNP uscn®/ ELISA Kit for rat ve NT pro BNP uscn®/ ELISA Kit for rat) ve troponin I (Troponin I kit - DRG Diagnostic) düzeyleri ticari test kitleri kullanılarak ile ELISA cihazında (ELISA reader® - DAS) ölçüldü

Histopatolojik muayeneler

Histopatolojik inceleme için böbrek, karaciğer ve kalp dokularından %4 konsantrasyondaki formaldehit solusyonu içine örnekler alındı. Daha sonra doku örnekleri %4'lük tamponlu formalin'de tespit edildi ve parafin bloklara gömülerek mikrotomla 4µm'lik kesitler alındı. Kesitler hematoksilin-eozin boyası ile boyandı ve araştırma mikroskopunda incelendi.

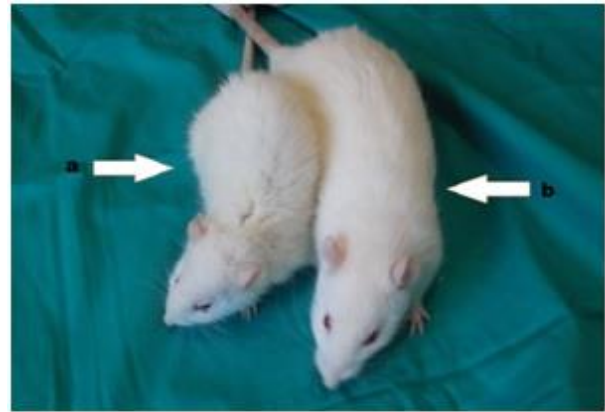
İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen verilerin tanımlayıcı istatistikleri; Ortalama, Standart Sapma değerler olarak ifade edildi. Grup ve cinsiyetlerin kendi aralarında yapılan karşılaştırmada independent-samples T testi uygulandı. Hesaplamalarda istatistik önemlilik düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Klinik Bulgular

Klinik olarak kontrol grubu denekler çalışma sonunda canlı ve sağlıklıydı. Çalışma grubundaki deneklerin ise denemenin 12-15. günlerinden sonra kontrol grubuna göre kilo kaybetmeye başladığı tespit edildi. Deneme süresinin sonunda çalışma grubundaki deneklerin çoğunda dehidrasyon ve canlı ağırlıklarında düşüş gözlemlendi. Erkeklerin dişilere göre daha fazla su tükettikleri gözlemlendi. Erkeklerin 300-350 gr canlı ağırlıktan 150-200 gr'a, dişilerin ise 250-300 gr dan 200-220 gr'a düştüğü belirlendi. Ayrıca erkeklerki dehidrasyonun dişilere göre şiddetli olduğu gözlemlendi (Şekil 1).



Şekil 1. Çalışmanın 28. gününde çalışma (a) ile kontrol grubu (b) ratların klinik görünümü.

Figure 1. Clinical appearance of rats in study (a) and control group (b), day28 of study.

Çalışmanın farklı günlerinde 4 adet erkek rat öldü. Deneklerin nekropsisinde çalışma grubunun makroskopik bakısında böbreklerde büyüme ve renklerinde açılma görülürken, kalp ve karaciğerde herhangi bir değişikliğe rastlanmadı.

Biyokimyasal Bulgular

Kontrol grubu ile çalışma grubunun biyokimyasal verileri tablo 1'de, çalışma grubu erkek ile çalışma grubu dişilerin biyokimyasal verileri Tablo 2'de, kontrol grubu erkek ile çalışma grubu erkek ve kontrol grubu dişi ile çalışma grubu dişilerin biyokimyasal verileri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 1. Kontrol ve çalışma grubunda biyokimyasal veriler.

Table 1. Biochemical levels in control and study group.

Parametreler	Kontrol Grubu (X±Sx) (n=20)	Çalışma Grubu (X±Sx) (n=36)
CK (U/L)	60.46±7.23	82.10±9.72
CK-MB (U/L)	104.50±14.69	141.40±17.69
Kalsiyum (mg/dL)	9.05±0.32	10.56±0.43**
Fosfor (mg/dL)	7.30±0.52	10.51±3.4**
Üre (mg/dL)	41.07±1.39	239.34±22.00***
BUN (mg/dL)	19.18±0.61	123.05±15.02***
Kreatinin(mg/dL)	0.34±0.24	1.55±0.20***

*: Kontrol grubundan farkı istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

**: Kontrol grubundan farkı istatistik olarak önemlidir (p<0.01)

***: Kontrol grubundan farkı istatistik olarak önemlidir (p<0.001)

Tablo 2. Çalışma grubu erkek ve dişilerde biyokimyasal veriler.

Table 2. Biochemical levels of males and females in the study group.

Parametreler	Çalışma Grubu Erkek (X±Sx) (n=16)	Çalışma Grubu Dişi (X±Sx) (n=20)
CK (U/L)	93.37±5.40	70.83±4.32
CK-MB (U/L)	156.62±10.20	126.18±7.49
Kalsiyum (mg/dL)	11.46±0.78	9.74±0.30*
Fosfor (mg/dL)	11.09±1.80	9.98±1.30*
Üre (mg/dL)	289.22±29.78	194.00±26.2*
BUN (mg/dL)	158.60±24.48	90.72±12.32*
Kreatinin(mg/dL)	2.13±0.28	1.02±0.18*

Tablo 3. Kontrol ve çalışma grubu erkek ve dişilerde biyokimyasal veriler.

Table 3. Biochemical levels of male and female in control and study groups.

Parametreler	Kontrol Erkek (Ort.± St.Hata) (n=10)	Çalışma Erkek (X±Sx) (n=16)	Kontrol Dişi (X±Sx) (n=10)	Çalışma Dişi (X±Sx) (n=20)
CK (U/L)	64.18±8.62	93.37±5.40	56.74±5.84	70.83±4.32
CK-MB (U/L)	111.26±17.72	156.62±10.20	97.74±11.66	126.18±7.49
Kalsiyum (mg/dL)	8.74±0.20	11.46±0.78*	9.43±0.66	9.74±0.30
Fosfor (mg/dL)	7.35±0.25	11.09±1.80*	7.24±1.18	9.98±1.30
Üre (mg/dL)	43.38±1.36	289.22±29.78***	38.30±2.10	194.00±26.28**
BUN (mg/dL)	20.16±0.60	158.60±24.48**	18.00±0.94	90.72±12.32**
Kreatinin(mg/dL)	0.31±0.01	2.13±0.28***	0.38±0.04	1.02±0.18*

* Çalışma erkeğin kontrol erkeğe ve çalışma dişinin kontrol dişiye farkı istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

** : Çalışma erkeğin kontrol erkeğe ve çalışma dişinin kontrol dişiye farkı istatistik olarak önemlidir (p<0.01)

***: Çalışma erkeğin kontrol erkeğe ve çalışma dişinin kontrol dişiye farkı istatistik olarak önemlidir (p<0.001)

*Erkek olan gruptan farkı istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

Yapılan cTn I ölçümleri neticesinde, tüm gruplarda cTn I düzeyi 0.001 ng/ml den küçük olarak ölçülmüş ve belirlenen bu düzeylerde istatistiksel olarak bir fark tespit edilememiştir.

Natriüretik Peptid Düzeyleri

Serum ANP, BNP ve NT-proBNP'nin kontrol grubu ile çalışma grubu verileri tablo 4'te, çalışma grubu erkek ile çalışma grubu dişilerin verileri tablo 5'te ve kontrol grubu erkek ile çalışma grubu erkek ve kontrol grubu dişi ile çalışma grubu dişilerin verileri ise tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 4. Kontrol ve çalışma grubunun ANP, BNP ve NT-proBNP düzeyleri.

Table 4. ANP, BNP and NT-proBNP levels of control and study groups.

Parametreler	Kontrol Grubu (X±Sx) (n=20)	Çalışma Grubu (X±Sx) (n=36)
ANP (pg/ml)	87.16±10.95	113.75±11.48
BNP (pg/ml)	37.93±7.48	79.10±12.64*
NT-proBNP (pg/ml)	40.08±5.85	84.45±17.31*

*: Kontrol grubundan farkı istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

Tablo 5. Çalışma grubu erkek ve dişilerin ANP, BNP ve NT-proBNP düzeyleri.

Table 5. ANP, BNP and NT-proBNP levels of males and females in the study group.

Parametreler	Çalışma Grubu Erkek (X±Sx) (n=16)	Çalışma Grubu Dişi (X±Sx) (n=20)
ANP (pg/ml)	125.41±20.83	105.98±13.31
BNP (pg/ml)	98.43±29.17	63.94±14.10
NT-proBNP (pg/ml)	102.56±32.22	66.34±12.47

Çalışma grubu erkek ile dişiler arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir (p>0.05).

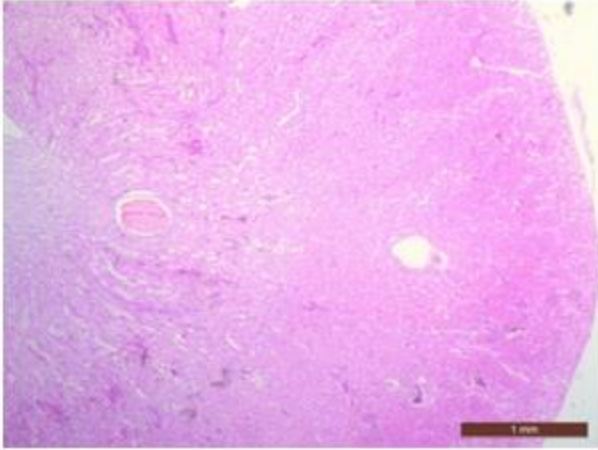
Tablo 6. Kontrol ve çalışma grubu erkek ve dişilerin ANP, BNP ve NT-proBNP düzeyleri.**Table 6.** ANP, BNP and NT-proBNP levels of male and female in control and study groups.

Parametreler	Kontrol Erkek (X±Sx) (n=10)	Çalışma Erkek (X±Sx) (n=16)	Kontrol Dişi (X±Sx) (n=10)	Çalışma Dişi (X±Sx) (n=20)
ANP (pg/ml)	119.70±13.46	125.41±20.83	54.62±7.99	105.98±13.31*
BNP (pg/ml)	26.48±5.43	98.43±29.17*	51.18±4.27	68.94±10.10
NT-proBNP (pg/ml)	29.65±6.37	102.56±32.22*	49.20±8.52	66.34±12.47

* Çalışma erkeğin kontrol erkeğe ve çalışma dişinin kontrol dişi gruptan farkı istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

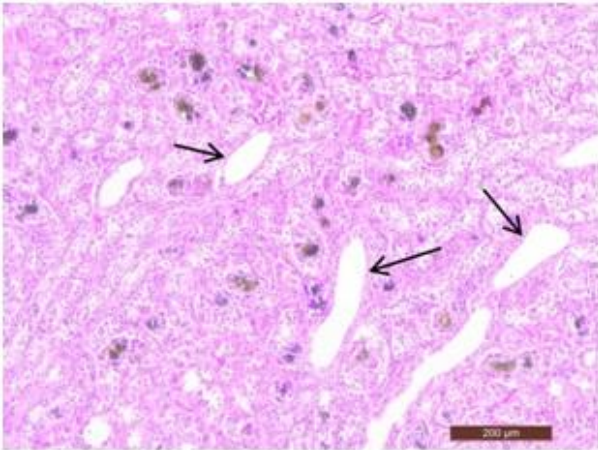
Histopatolojik Bulgular

Bütün gruplardan alınan kalp ve karaciğer dokularında histopatolojik bulguya rastlanmadı. Kontrol gruplarındaki ratların böbrekleri incelendiğinde böbreklerin normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 2). Çalışma gruplarındaki ratların böbreklerinde tubuler dilatasyon (Şekil 3), kristalizasyon (Şekil 4) ve tubulus epitellerinde dejenerasyona (Şekil 5 ve 6) ilaveten tubulointerstitiyel nefritis ve kristaller etrafında oluşan dev hücreler tespit edildi.



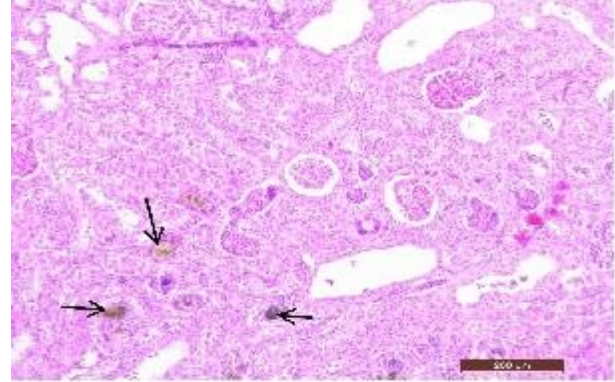
Şekil 2. Kontrol grubu dişilerde böbreğin histolojik görünümü (HxE) Bar=1mm.

Figure 2. Histological appearance of the kidneys of the control group females. (HxE) Bar = 1 mm.



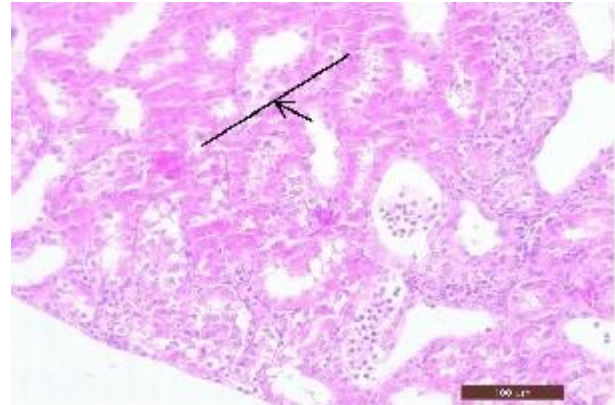
Şekil 3. Çalışma grubu ratlarda tubuler dilatasyon (HxE) Bar=200µm.

Figure 3. Dilatation of the tubules of the study group rats. (HxE) Bar = 200µm.



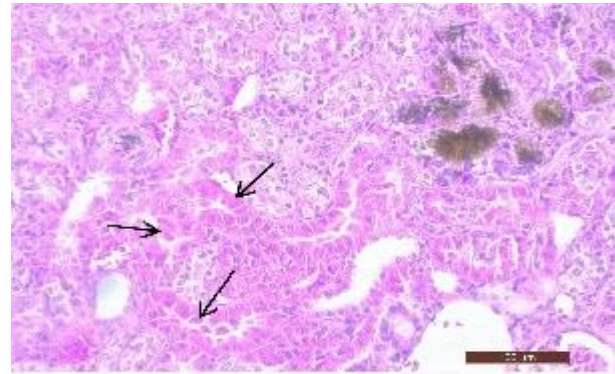
Şekil 4. Çalışma grubu dişi ratlarda tubuler kristalizasyon (HxE) Bar=200µm.

Figure 4. Tubular crystallization of female rats in the study group. (HxE) Bar = 200µm.



Şekil 5. Çalışma grubu dişi ratlarda tubulus epitellerinde dejenerasyon (HxE) Bar=100µm.

Figure 5. Degeneration of tubulus epithelium in female rats of the study group. (HxE) Bar = 100µm.



Şekil 6. Çalışma grubu erkek ratlarda tubulus epitellerinde dejenerasyon (HxE) Bar=100µm.

Figure 6. Degeneration of tubulus epithelium in male rats of study group. (HxE) Bar = 100µm.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kronik böbrek yetmezliği böbreğin glomerular filtrasyon hızının teşhis edilebilir düzeyde düşmesi, ilerleyici ve dönüşümsüz kaybı olarak ifade edilmektedir (Samet 2005; Yalçın ve Akpolat 2013). Birçok araştırmacı (Samet, 2005; Tanrıverdi ve ark. 2010) KBY'nin gelişimini GRF düzeyindeki düşümlere paralel olarak sınıflandırmıştır. GRF düzeyinde meydana gelen düşüşler sonucunda hipertansiyon, sekonder hiperparatroidizm, anemi, iştahsızlık, kilo kaybı, kusma, mental fonksiyonlarda azalma, akciğer ödemi, koma ve ölüm gelişmektedir.

KBY modelleri en sık olarak rat ve farelerde cerrahi teknikler veya toksik ajanlar kullanılarak oluşturulmaktadır (Koç ve Yeğen 2010). Birçok araştırmacı (Lacour ve ark. 2005; Hür ve ark. 2010; Ienaga ve Yokozawa 2010) KBY oluşturulmasında adenini kullanmıştır. Bu çalışmada içme sularına 1 gr/L oranında adenineklenmiş çalışma grubu ratlarda 28 günde KBY oluşturuldu (Hür ve ark. 2010).

Çalışma sırasında deneklerde dehidrasyon, iştahsızlık ve kilo kaybı gözlemlendi. Deney başlangıcında 200-350 gr arasında olan ratların canlı ağırlıkları (0) çalışmanın sonunda kontrol grubunda hemen hemen aynı düzeylerde kalırken, deneme grubunda 150-220 gr'a düştüğü belirlendi (Şekil 1). Üstelik gözlenen kilo kaybının erkeklerde daha önemli düzeyde olduğu tespit edildi (150-200 gr). Belirlenen bu klinik gözlemler araştırmacıların (Samet 2005; Tanrıverdi ve ark. 2010) bulgularıyla paralellik arz etmektedir.

Tanıma kardiak diağnoz olarak troponinlerden troponin I kalp hasarlarının tespitinde ve özellikle akut myokardial olguların belirlenmesinde yoğun olarak kullanılmaktadır (Babuın ve Jaffe, 2005; Elmalı ve ark., 2005). Bu araştırmada, gerek kontrol gerekse çalışma grubunda cTn I düzeyi 0.001 ng/ml den düşük ölçülmüştür. Bu bulgu, deneklerde kardiak hasarın olmadığına bir göstergesidir.

Kalp kası hastalıklarının teşhisinde yardımcı biyokimyasal parametreler den CK, ve CK-MB sıkça kullanılır. Asano ve ark., (1998) sağlıklı ratlarda CK düzeyini 70.7±10.1U/L olarak saptamışlardır. Saad ve ark., (2006) kardiyomiyopatiyi araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, kontrol grubu ratlarda CK-MB düzeyini 191±8.35 U/L olarak bulduklarını ifade etmektedirler. Bu çalışmada, kontrol grubu ratlarda CK düzeyini 60.46±7.23 U/L ve CK-MB düzeyini de 104.50±14.69 U/L olarak saptanmıştır (Tablo 1). Belirlenen bu düzeyler birçok araştırmacının (Asano ve ark. 1998; Zhang ve ark. 2004; Saad ve ark. 2006; Demment ve ark. 2010) bulgularıyla paralellik arz etmektedir. Çalışma grubunda ise CK ve CK-MB düzeyleri sırasıyla 82.10±9.72 ve 141.40±17.69 U/L olarak bulunmuştur (Tablo 1). Kontrol ve çalışma gruplarında belirlenen bu düzeyler (CK, CK-MB) karşılaştırıldığında, çalışma grubunda nisbi bir artış belirlenmesine rağmen aradaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (p>0,05). Bazı araştırmacıların (Benjamin, 1978; Turgut, 2000) belirttiği gibi, CK ve CK-MB iskelet kası bozuklukları, kalp kası hastalıkları (miyokard infarktüsü, bakteriyel endokarditis, dirofilariasis, aortik trombozis) ve karaciğer hastalıklarının belirlenmesinde önemli belirteçlerdir. Bu çalışmada belirlenen cTn I düzeyleri ile karaciğer ve kalple ilgili gerek mikroskopik gerekse makroskopik olarak patolojik bir bulguya rastlanmaması belirlenen enzimatik değerleri doğrular niteliktedir.

Kan kalsiyum düzeyinin yaklaşık %45'i proteinlere bağlı %15'i sitrat gibi küçük anyonlara, geriye kalan %40'ı ise

serbest ya da iyonize halde bulunur. Organizmada fosforun %85'i kemikte fosfat formunda depolanır. Hücre içi sıvıların ana anyonunu oluşturur. Fosfatlar dönüştürülebilir olmalarından dolayı birçok koenzim sisteminin ve metabolizma fonksiyonlarının devamı için gereklidir (Turgut, 2000).

(Matsui ve ark. (2009), KBY oluşturulan bir çalışmada, Ca²⁺ değerinin çalışma öncesi 9.25±0.30 mg/dl'den çalışmanın 4 haftasında 8.45±0.44 mg/dl'ye düştüğünü bildirmişlerdir. Başka bir KBY modelinde ise, Hür ve ark., (2010) çalışmanın 4. haftasında Ca²⁺ ve P değerlerini kontrol grubunda sırasıyla 8.9±0.55 mg/dl ve 5.0±1.6 mg/dl ölçerken, KBY oluşturulan grupta ise bu parametreleri 9.5±0.17 mg/dl ve 6.5±2.5 mg/dl düzeyinde tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada Ca²⁺ ve P değerleri kontrol grubunda sırasıyla 9.05±0.32 ve 7.30±0.52 mg/dl, çalışma grubunda ise 10.56±0.43 mg/dl ve 10.51±3.4 mg/dl olarak belirlenmiştir. Çalışma ve kontrol grubu düzeyleri arasında belirlenen bu farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Tablo 1). Elde edilen bu bulgular Hür ve arkadaşlarının (Hür ve ark. 2010) bulgularıyla paralellik arz ederken, Matsui ve arkadaşlarının (Matsui ve ark. 2009) bulgularından farklılık göstermektedir.

Renal fonksiyonların belirlenmesinde kreatinin, üre ve BUN değerleri kullanılan en önemli parametrelerdir. Böbrek yetmezliği durumlarında sözü edilen parametrelerde önemli artışlar meydana gelmektedir (Kaneko ve ark., 1997; Turgut, 2000). Böbrek yetmezliğinde azalan GFR oranına bağlı olarak kreatinin klirensinde azalma, bununla birlikte BUN ve üre düzeyinde de artışlar meydana gelmektedir (Yalçın ve Akpolat 2013).

Buncharoen ve ark. (2012) yaptıkları deneysel çalışmada, kontrol grubu ratlarda BUN ve kreatinin düzeylerini sırasıyla 20.08±2.38 ve 0.70±0.03 m/dl olarak tespit etmişlerdir. Bazı araştırmacılar (Ienaga ve ark., 2009) sağlıklı ratlarda kreatinin ve BUN düzeylerini sırasıyla 0,45 ve 12,0 mg/dl olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar (Zhang ve ark. 2004) da sağlıklı erkek ve dişi ratlarda BUN düzeyini sırasıyla 16.30±3.60 ve 18.97±4.13mg/dl, kreatinin düzeyini ise 0.74±0.17 ve 0.80±0.16 mg/dl olarak bulmuşlardır.

Ataka ve ark., (2003), KBY oluşturdukları ratlarda kreatinin düzeyini kontrol grubunda 0.64 ±0.02 mg/dl saptarken, KBY oluşan grupta bu miktarı 2.1±0,25 mg/dl olarak saptamışlardır. Hür ve ark., (2010), deneysel olarak oluşturdukları KBY'de üre ve kreatinin düzeylerini kontrol grubunda 43.0±6.0 ve 0.58±0.07 mg/dl bulurken, çalışma grubunda bu düzeyleri 67±21 ve 0.94±0.1 mg/dl olarak saptadıklarını, aradaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Zhao ve ark. (2012), farklı bir deneysel böbrek yetmezliği modelinde kontrol ve çalışma grubunda kreatinin düzeyini 0.36±0.1 ve 1.40±0.15 mg/dl, BUN düzeyini ise 16.30±4.37 ve 85.88±11.19 mg/dl olarak tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada, kontrol grubu deneklerde üre, BUN ve kreatinin düzeyleri sırasıyla 41.07±1.39, 19.18±0.61 ve 0.34±0.24 mg/dl olarak saptanmıştır. Çalışma grubunda ise bu veriler sırasıyla 239.34±22.00, 123.05±15.02 ve 1.55±0.20 mg/dl olarak tespit edilmiştir. Kontrol ve çalışma grupları karşılaştırıldığında, veriler arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Tablo 1). Bu çalışmada kontrol grubunda belirlenen üre, BUN ve kreatinin düzeylerinin birçok araştırmacının (Zhang ve ark. 2004; Ienaga ve ark. 2009; Buncharoen ve ark. 2012) sağlıklı ratlarda belirledikleri seviyelerle aynı doğrultuda olduğu gözlemlendi. Çalışma grubunda ise üre, BUN ve

kreatinin düzeyleri pek çok araştırmacının (Ataka ve ark. 2003; Hür ve ark. 2010; Zhao ve ark. 2012) bulgularıyla paralellik arz etmektedir.

Cinsiyet baz alınarak üre, BUN ve kreatinin düzeylerindeki artış karşılaştırıldığında, erkeklerde meydana gelen artışın dişilere oranla daha yüksek düzeyde olduğu ve aradaki farkın istatistiki olarak önemli olduğu saptandı (Tablo 2). Bu çalışmada deneme grubundaki erkeklerin dişilere göre daha fazla su tükettikleri bilinmektedir. Bu nedenle almış oldukları günlük adenin miktarının dişilere göre daha fazla olması aşikârdır. Bu durum erkeklerde daha şiddetli bir nefrotik yangının olabileceği ihtimalini artırmaktadır. Nitekim histopatolojik bulgular bu ihtimali destekler niteliktedir.

Natriüretik peptidlerden ANP ve BNP ana kardiyak hormonlardır. Atrium genişlemesine bağlı olarak ANP atrial dokudan, BNP ise ventriküler basınç ve hacim artışına bağlı olarak daha çok ventriküler dokudan salgınır (Duygu ve ark. 2005; Akcan ve Oygür 2010). Natriüretik peptidlerin kandaki düzeyini etkileyen kalp ve böbrek hastalıkları gibi birçok faktörün (Tablo 5) var olduğu bilinmektedir (San ve Selçuk 1993). Artan natriüretik peptidlerin kanda yarılmasında böbrekler büyük ölçüde rol oynamaktadır (Mueller ve ark. 2005).

Hori ve arkadaşları (Hori ve ark. 2009) buzağular üzerinde yaptıkları çalışmada, ANP düzeyini sağlıklı olanlarda 31 pg/ml, kongenital kalp yetmezliği olanlarda ise 220 pg/ml olarak tespit etmişlerdir. Greco ve arkadaşları (Greco ve ark. 2003) klinik olarak sağlıklı, hafif ve ileri derecede kalp yetmezliği olan köpeklerde ANP düzeyini sırasıyla 56.9±17.4 pg/ml, 64±45 pg/ml ve 328±122 pg/ml olarak saptamışlardır.

Kalp yetmezliğinin belirlenmesinde NT-proBNP'nin kullanımıyla ilgili yapılan bir çalışmada, 300 pg/ml'ye kadar olan değerlerin hastalık için bir belirteç olamayacağı ifade edilmiştir (Mueller ve ark. 2007).

Marttila ve arkadaşları (Marttila ve ark. 1996), deneysel olarak hipertansiyon oluşturdukları ratlarda kontrol grubu hayvanlarda ANP ve BNP düzeylerini 124.81±11.01 ve 44.05±11.01 pg/ml olarak belirlemişlerdir. Hipertansiyon oluşturulan başka bir deneysel çalışmada ise Klinger ve arkadaşları (Klinger ve ark. 1998) kontrol grubu ratlarda BNP düzeyini 35±4 pg/ml olarak ölçmüşlerdir.

Bu çalışmada, ANP, BNP ve NT-proBNP düzeyleri kontrol grubunda sırasıyla 87.16±10.95, 37.93±7.48 ve 40.08±5.85 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışma grubunda ise bu düzeyler sırasıyla 113.75±11.48, 79.10±12.64 ve 84.45±17.31 pg/ml olarak belirlenmiştir. Bu değerler karşılaştırıldığında çalışma grubundaki ANP hariç değerlerin daha yüksek olduğu ve aradaki farkın istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Tablo 4). Bu bulgunun, adenine bağlı olarak oluşan nefrotoksitite sonucu geliştiği düşünülmektedir. Nitekim gerek nefrotik yangınların üre, BUN ve kreatinin gibi diagnostik parametreleri (Tablo 1, 2 ve 3) gerekse histopatolojik bulgular (Şekil 3-6) bu tespiti destekler niteliktedir. ANP düzeyi değerlendirildiğinde, çalışma grubunda artış kaydedilmesine rağmen aradaki farkın istatistiki olarak önemli bulunmaması, kontrol grubu ortalama değerinin yüksek olması ile açıklanabilir (Tablo 4).

Çalışma grubu erkek ve dişilerde belirlenen ANP, BNP ve NT pro-BNP düzeyleri karşılaştırıldığında (Tablo 5), erkeklerdeki düzeyin dişilere göre daha yüksek olduğu gözlemlendi. Ancak belirlenen farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. İstatistiki olarak farklılık belirlenmemesine rağmen erkeklerde belirlenen bu

yüksek düzey muhtemelen erkeklerde oluşan daha şiddetli nefrotoksitite ile açıklanabilir.

Badreldin ve arkadaşları (Badreldin ve ark. 2010), KBY oluşturdukları ratlarda, histopatolojik olarak böbreklerde tübuler hasar, nötrofil infiltrasyonu, tübuler nekroz, tübuler atrofi ve interstisyel nefritis tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan farklı bir KBY modelinde, kristalizasyon ve tubulointerstisyel nefritisin geliştiği bildirilmiştir (Hür ve ark. 2010).

Bu çalışmanın makro ve mikroskopik değerlendirilmesinde, çalışma grubu deneklerde böbreklerde büyüme ve renginde açılma gözlenirken, kalp ve karaciğerde bir değişikliğe rastlanmadı. Kontrol grubunda ise herhangi bir değişik gözlenmedi. Mikroskopik bakıda kontrol grubunda herhangi bir anomaliye rastlanmadı (Şekil 2). Çalışma grubunda ise böbreklerde tübuler dilatasyon (Şekil 3), kristalizasyon (Şekil 4), tubülüs epitellerinde dejenerasyon (Şekil 5 ve 6), tubulointerstisyel nefritis ve kristaller etrafında dev hücreler tespit edildi. Belirlenen bu bulgular bazı araştırmacıların (Badreldin ve ark. 2010; Hür ve ark. 2010) bildirimleriyle paralellik arz etmektedir.

Çalışma grubu erkeklerde belirlenen histopatolojik bulguların dişilere göre daha şiddetli olduğu gözlemlendi. Bu durum, muhtemelen erkek ratların dişilere oranla günlük daha fazla adenin tüketmesiyle açıklanabilir. Nitekim deneme sürecinde erkeklerin dişilere oranla daha fazla su tükettikleri gözlenmiştir. Erkeklerin dişilere oranla daha fazla miktarda adenin tüketmeleri, oluşan nefrotik hasarın daha şiddetli olmasına neden olmuştur. Ayrıca böbrek diagnostik parametrelerin (Üre, BUN, Kreatinin) erkeklerde daha yüksek olması bu görüşü destekler niteliktedir (Tablo 2).

Sonuç olarak; bu çalışmada içme sularına 28 gün süreyle 1gr/L adenin katılmasının KBY oluşturmak için iyi bir model olabileceği, oluşturulan KBY modelinde deney süresi içerisinde kalp ve karaciğer hasarının şekillenmediği, kalp ve karaciğer diagnostik parametrelerinde bir değişikliğin olmadığı, oluşan KBY'ne bağlı olarak üre, BUN ve kreatinin düzeylerinde artışın şekillendiği, KBY'de natriüretik peptidlerin yükseldiği ancak belirlenen natriüretik peptid düzeylerindeki artışın çok yüksek olmadığı, KBY neticesinde artan hematokrit ve dehidrasyon nedeniyle ventrikuluslar üzerindeki yükün artmasına bağlı olarak natriüretik peptidlerin sentezinde bir artışa neden olabileceği, kronik böbrek yetmezliğinde diagnostik öneme sahip kan üre, kreatinin ve BUN parametreleri ile natriüretik peptidler arasında doğrusal bir ilişkinin var olabileceği kanısına varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2012-SBE-D036 nolu proje ile desteklenmiş olan aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akcan AB, Oygür N (2010). Beyin Natriüretik Peptid ve Pediatride Kullanım Alanları. *Güncel Pediatri*; 8, 67-71
- Asano Y, Susami M, Honda K, Serikawa T (1998). Haematological and serum biochemical values in spontaneously epileptic malerats and related rat strains. *Laboratory Animals*, 32, 214-218
- Ataka K, Maruyama H, Neichi T, Miyazaki JI, Gejyo F (2003). Effects of erythropoietin-gene electrotransfer in rats with adenine-induced renal failure. *American journal of nephrology*, 23, 5, 315-323.
- Babuin L and Jaffe AS (2005). Review, Troponin: The Biomarker of choice for the detection of cardiac injury. *CMAJ* 173, 10, 1191-1202

- Badreldin H Ali, Suhail Al-Salam, Isehaq Al Husseni, Rana R Kayed, Noura Al-Masroori, Thuriya Al-Harhi, Mohamed Al Zaabi and Abderrahim N (2010).** Effects of Gum Arabic in rats with adenine-induced chronic renal failure. *Society for Experimental Biology and Medicine*, 235, 373-382.
- Benjamin MM (1978).** Outline of Veterinary Clinical Pathology. Third Ed. Colorado State University. USA
- Buncharoen W, Saenphet S, Chomdej S ve Saenphet K (2012).** Evaluation of biochemical, hematological and histopathological parameters of albino rats treated with *Stemona aphylla* Craib. Extract. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 27, 4429-4435
- Connolly DJ, Magalhaes SJR, Syme MH, Boswood A, Fuentes LV, Chu L, Metcalf M (2008).** Circulating natriuretic peptides in cat with heart disease. *J Vet Intern Med*, 22, 96-105
- Çakır Z, Sarıtaş A, Aslan Ş (2006).** Brain Natriüretik peptid acil servise kullanı alanı ve önemi. *The Eurasian Journal of Medicine*, 38, 130-133.
- Çam N, Vural M (2003).** Kalp yetersizliği tanı, tedavi ve prognozunun belirlenmesinde B-tipi natriüretik peptidin yeri. *Türk Kardiol Der Ars*, 31, 8, 458-465.
- Duygu H, Türk U, Zoghi M, Nalbantgil S (2005).** Plazma B-tipi natriüretik peptid düzeylerinin kardiyovasküler hastalıklardaki yeri ve önemi. *Anadolu Kardiyal Derg*, 5, 305-311
- Elmalı E, Karaeren Z, Özgül Ç ve Akan ÖA (2005).** Akut Koroner Sendrom Şüpheli Hastalarda Kardiyak Troponin T ve Troponin I'nın Karşılaştırılması. *Türk Biyokimya Dergisi* 30, 3, 212-215
- Greco DS, Biller B, Liew CH (2003).** Measurement of plasma atrial natriuretic peptides as an indicator of prognosis in dogs with cardiac disease. *Can Vet J*, 44, 293-297.
- Hori Y, Kikuchi M, Nakagawa A, Yonezawa T, Muira H, Ohnami Y (2009).** Plasma atrial natriuretic peptid in healthy calves and calves with congenital heart disease. *J Vet Intern Med*, 23, 653-656
- Hür E, Bozkurt D, Timur Ö, Bıçak S, Narlı Z, Erden A, Patır P, Şen S, Akçiçek F, Duman S (2010).** Kronik böbrek yetmezliği oluşturma protokolünde pratik bir model. *Türkiye Klinikleri Nefroloji özel dergisi*, 3, 3, 30-33.
- Ienaga K, Mikami H ve Yokozawa T (2009).** First indications demonstrating the preventive effects of NZ-419, a novel intrinsic antioxidant, on the initiation and/or progression of chronic renal failure in rats. *Biol Pharm Bull*, 32, 7, 1204-8
- İde T (2003).** Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri. Ankara: Medipres Mat.
- Kaneko JJ, Harvey JW and Bruss ML (1997).** Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 50. Ed., Academic Pres., California, USA
- Klinger JR, Warburton RR, Pietras L ve Hill NS (1998).** Brain natriuretic peptide inhibits hypoxic pulmonary hypertension in rats. *J Appl Physiol*, 84, 1646-1652
- Koç M, Yeğen BÇ (2010).** Kronik böbrek yetmezliği modelleri. *Türkiye Klinikleri J Nephrol-Special Topics*, 3, 3, 23-9.
- Lacour B, Lucas A, Auchère D, Ruellan N, Patey NMDS, & Drüeke TB (2005).** Chronic renal failure is associated with increased tissue deposition of lanthanum after 28-day oral administration. *Kidney international*, 67(3), 1062-1069.
- Marttila M, Vuolteenaho O, Ganten D, Nakao K, Ruskoaho H (1996).** Synthesis and secretion of natriuretic peptides in the hypertensive TGR(mREN-2)27 transgenic rat. hypertension, *ahajournals*, 28, 995-1004.
- Matsui I, Hamano T, Mikami S, Fujii N, Takabatake Y, Nagasawa Y, Kawada N, Ito T, Rakugi H, Imai E, Isaka Y (2009).** Fully phosphorylated fetuin-A forms a mineral complex in the serum of rats with adenine-induced renal failure. *Kidney Int*, 75, 9; 915-28
- Mueller C, Breidhardt T, Laule-Kilian K, Christ M, Perruchoud AP (2007).** The integration of BNP and NT-proBNP into clinical medicine. *Swiss Med Wkly*, 13;137, 1, 2, 4-12.
- Mueller C, Laule-Kilian K, Scholer A, Nusbaumer C, Zeller T, Staub D and Perruchoud AP (2005).** B-Type natriuretic peptide for acute dyspnea in patients with kidney disease: insights from a randomized comparison. *Kidney International*, 67, 278-284.
- Oyama MA (2009).** Neurohormonal activation in canine degenerative mitral valve disease: implications on pathophysiology and treatment. *Journal of Small Animal Practice*, 50, 3-11.
- Saad SY, Najjar TA ve Arafah MM (2006).** Cardioprotective effects of subcutaneous ebselen against daunorubicin-induced cardiomyopathy in rats. *Basic&Clinical Pharmacology&Toxicology*, 99, 412-417
- San A, Selçuk NY (1993).** Atrial Natriüretik peptid. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1, 1-6.
- Tanrıverdi MH, Karadağ A, ve Hatipoğlu EŞ (2010).** Kronik böbrek yetmezliği. (Derleme) *Konuralp Tıp Dergisi*, 2, 2, 27-32.
- Turgut K (2000).** Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Bahçivanlar Basım Sanayi Konya
- Yalçın AU, Akpolat T (2013).** Kronik böbrek yetmezliği, www.tsn.org.tr/folders/file/kronik_bobrek_yetmezligi.pdf (Erişim 19.01.2013)
- Zhang ZP, Tian YH, Li R, Cheng XQ, Guo SM, Zhang JX, Wang JJ and Hu L (2004).** The comparison of the normal blood biochemical values of Wistar rats with different age and sex. *Asian Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 4,3; 215-218
- Zhao, Y. Y., Liu, J., Cheng, X. L., Bai, X., & Lin, R. C. (2012).** Urinary metabolomics study on biochemical changes in an experimental model of chronic renal failure by adenine based on UPLC Q-TOF/MS. *Clinica chimica acta*, 413(5), 642-649.