

Deneysel Gentamisin Nefrotoksitesinde Üriner Enzim Aktivitelerinin Önemi*

Mehmet MADEN, Veysi ASLAN

Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya-TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 25.11.1996

Özet: Bu çalışmada 2'si kontrol, 7'si deneme grubu olmak üzere toplam 9 köpek kullanıldı. Deneme grubunu oluşturan köpeklere nefrotoksite oluşturmak amacıyla, 10 mg/kg dozunda ve 8 saat aralıklarla, günde 3 kez (8.00, 16.00, 24.00) olmak üzere, 10 gün süreyle Gentamisin sülfat enjeksiyonları yapıldı. İdrar ve kan örnekleri, deneme öncesi 2 ve deneme boyunca 9 kez olmak üzere, gün aşırı periyotlarda alındı. İdrar örneklerinde N-asetil-β-D-glukozaminidaz (NAG), γ-glutamyl transferaz (GGT) ve Alkalen fosfataz (ALP) enzim aktiviteleri, kreatinin (IKR), protein (IPr), glikoz (IGLU) ve elektrolit (ICa, IP, INa, IK) konsantrasyonları ölçüldü. İdrar dip stik ve sedimentin mikroskopik muayeneleri yapıldı. Kan örneklerinde kan üre nitrojen (BUN), serum kreatinin (SKR), total protein (TP), albümin (ALB), glikoz (GLU) ve elektrolit (Ca, P, Na, K) konsantrasyonları ölçüldü. İdrar protein/kreatinin (IPr/IKR) oranı ve günlük protein kayıpları (Gün. K) hesaplandı. İdrar ve serumda ölçülen elektrolit konsantrasyonları ve glikozun fraksiyonel klirensleri belirlendi. Deneme öncesi 2 kez, deneme boyunca da 3 kez olmak üzere 5 defa sodyum sulfanilat klirensi ölçüldü. Deneme boyunca tüm köpeklerde günlük klinik muayeneler yapıldı. Denemenin 11. gününde 1'ikontrol 2'si deneme grubundan olan 3 köpeğin, 12. günde üremik koma nedeniyle uyutulan 2 köpeğin ve deneme sonunda da kalan 4 köpeğin otopsileri ve histopatolojik incelemeleri yapıldı.

Bu çalışmada nefrotoksik dozlarda uygulanan gentamisin böbreklerde oluşturduğu akut tubuler nekrozisin, klinik ve laboratuvar bulgu sonuçlarına göre 7-10 günler arasında olduğu belirlendi. İdrar GGT aktivitesinde denemenin 7. gününde çok önemli (P<0.01) artış belirlenirken, NAG ve ALP aktivitelerinde önemli farklılık gözlenmedi. GGT/KR (P<0.01) ve NAG/KR (P<0.01), ALP/KR (P<0.01) oranlarında ise sırasıyla denemenin 7. ve 13. günlerinde önemli artışlar gözlemlendi.

Sonuç olarak, bu çalışmada gentamisin nefrotoksitesinde meydana gelen tubuler hasarın belirlenmesinde en duyarlı indikatörün idrar GGT/KR oranı olduğu ve bunun çeşitli nedenlerden kaynaklanabilen tubuler hasarın belirlenmesinde kullanılabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Sözcükler: İdrar enzimleri, gentamisin nefrotoksitesisi, köpek.

The Importance of Urinary Enzyme Activities in Dogs With Experimentally Induced Gentamicin Nephrotoxicity

Abstract: Totally nine healthy and mature dogs were used in the study. Two of which were served as controls and remaining seven dogs were assigned to experimental group. Gentamicin sulphate was given to induce nephrotoxicity at the dose of 10 mg/kg body weight every 8 hours for 10 consecutive days. The samples of blood and urine were taken twice before the experiment and every other day during gentamicin infection and for 5 days after gentamicin injection was ceased. N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG), γ-glutamyl transferase (GGT) and Alkaline phosphatase (ALP) and creatinine (CR), total protein (TP), glucose (GLU) and electrolyte (Ca, P, Na, K) concentrations in the urine samples and blood urea nitrogen (BUN), total protein (TP), albumin (ALB), creatinine (SCR), glucose and electrolytes (Ca, P, Na, K) concentrations in the blood samples were measured. Urine dip stick and microscopic examination of urine sediment were performed. Urine protein/creatinine rate and daily protein loss in urine were calculated. The fractional clearances of electrolytes (Ca, P, Na, K) and glucose were determined. Sodium sulphanylata clearance was measured twice before the experiment and three times during the experiment. Daily clinical examination of all dogs were performed during the experiment. Autopsy and histopathologic examinations were performed in three dogs (1 control, 2 experimental group) on the 11th day of the experiment, two dogs were euthanased due to uremic coma on the 12th day of the experiment and remaining dogs were necropsied at the end of the experiment.

In this study, acute tubular necrosis induced with nephrotoxic doses of gentamicin was found to be occurred between 7th and 10th days of the experiment on the basis of clinical and laboratory findings. Urine GGT activities were found to be increased (P<0.01) on the 7th day of the experiment, urine NAG and ALP activities did not significantly increase. Significant increments in the GGT/KR (P<0.01) and NAG/CR (P<0.01), ALP/CR (P<0.05) rates were observed respectively on the 7th and 13th days of the experiment.

In conclusion, GGT/CR rate was found to be the most sensitive and reliable indicator in the determination of renal tubular damage associated with gentamicin nephrotoxicity.

Key Words: Urinary enzymes, gentamicin nephrotoxicity, dog.

* SÜAF tarafından desteklenen aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

Giriş

İdrarda makromoleküler renal enzim aktivitelerinin belirlenmesi, böbrek hasarının duyarlı bir indikatörüdür. Böbreklerdeki akut toksik hasarın belirlenmesinde, idrar enzim aktiviteleri, lezyonun şiddeti ve/veya kapsamı, nefrondaki hasarın yeri, selüler veya subselüler niteliği bakımından bilgiler sağlamaktadır (1). Laktat dehidrogenaz ve glutasyon transferaz gibi sitozolik (1), Gamma-glutamil transferaz (GGT), Alanin aminopeptidaz (AAP) ve Alkalen fosfataz (AP) gibi proksimal tubuler epitelyumun fırçamsı kenarlarında lokalize olmuş enzimlerle (1-4), N-asetil-β-D glukozaminidaz (NAG) veya α-galaktosidaz gibi lizozomal enzimlerin (1, 5, 6) yükselmiş idrar aktiviteleri nefrotoksisitenin duyarlı indikatörleri olarak bildirilmiştir.

Renal hasar için güvenilir indikatörler, fonksiyonda ölçülebilir oranda bir etkilene olmadan önce değişikliklerin tanınmasını sağlayabilir ve renal disfonksiyon başladığı zaman hastalığın tanınmasına yardımcı olabilir (7). Renal toksikolojinin değerlendirilmesinde enzimuri önemli bilgiler sağlamaktadır. Gentamisin uygulaması sırasında gelişen nefrotoksisitenin enzim tayinleriyle reverzibl dönemde teşhis edilebileceği bildirilmektedir (1). İdrar enzim aktiviteleri fonksiyonel ve/veya lezyonel böbrek hasarının izlenmesinde bir model olarak kullanılabilir. Antibiyotikler ve analjezik maddelerin muhtemel nefrotoksik etkilerinin izlenmesi için çoğunlukla kullanılan parametreler, anormal idrar sedimenti ile birlikte, BUN ve SKR'de gözlenen artış veya kreatinin klirensidir. Üre ve kreatinin glomerular filtrasyon ile ekskresyon edilir. Bu nedenle BUN ve SKR glomerular filtrasyon oranının (GFR) değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (8-11). Bu parametreler GFR'nin iyi göstergeleri olmakla birlikte nonrenal faktörlerden etkilenemeleri nedeniyle hastalığın şiddeti veya sürekliliğini gösteremeyecekleri ifade edilmektedir (12). Ayrıca bu parametrelerde meydana gelen artışlar, hemen her zaman aşırı hasarın göstergeleridir. Bu nedenle selüler renal enzimlerin tayini gibi daha duyarlı metotlar sürekli olarak araştırılmaktadır (10).

İdrar enzim aktiviteleri renal tubuler lezyonları tespit etmek için kullanılmaktadır. Renal tubullere ilişkin hasarda idrardaki enzimlerin ekskresyonu 2 şekilde artmaktadır:

1. Proksimal tubule ilişkin hasar → geri emilim fonksiyonlarında bozulma → plazmadan gelen düşük moleküler ağırlıklı enzimlerin ekskresyonunda artış → Tubuler Enzimuri;

2. Tubullerin anatomik hasarı → direk olarak tubuler hücrelerde bulunan enzimlerin ekskresyonu artar → Paraşimatöz Enzimuri (13).

Üriner enzimatik aktiviteler renal paraneşim, ürogenital sistem veya plazmadan orijin alabilir. Çoğu enzimlerin kaybı glomerular permeabilite değişiklikleriyle ilgilidir. Normal durumlarda birkaç enzim (lizozim, ribonükleaz, amilaz) glomerular filtrata geçer ve renal tubullerden geri emilir. Tubuler değişikliklerin gösterilmesinde önemli olan birçok enzim, NAG ve AAP gibi, plazmada da bulunmaktadır. Bu nedenle bu enzimlerin idrardaki artışları, glomerular değişikliklerin olduğu nefrotik sendromda gözlenebilir. Bu sınırlamaya rağmen, bu enzimlerin tespiti intersitisyel nefropati veya tubuler hasarın gösterilmesinde geniş bir kullanım alanına sahiptir (14). Bishop ve ark. (15) enzim tayinlerinde güçlükler neden olan idrar volümündeki varyasyonların, enzim/kreatinin oranları kullanılarak azaltılabileceğini bildirmektedirler. İdrar NAG ve GGT konsantrasyonları ile enzim/kreatinin oranları arasında mükemmel bir korelasyon bulunduğu belirlenmiştir (7, 16-18).

Köpek ve kedilerdeki Akut İntrinsik Renal Yetmezliğin (AİRY) başlıca nedenlerinden birisi aminoglikozid nefrotoksisitesidir (19). Nefrotoksite; nefrotoksik renal yetmezlik, akut glomerulonefritis, intersitisyel nefritis, aşağı nefron nefrozisi ve nefrotik sendrom olarak tanımlanabilir (20). Böbrekler yüksek orandaki kan perfüzyonu ve metabolik aktivite ile ekskresyon fonksiyonları nedeniyle ilaçların ve diğer endojen ve eksojen toksinlerin toksik etkilerine predispozitedir. Böbreklerdeki aktif tubuler sekresyon, reabsorbsiyon ve idrar konsantrasyon mekanizmaları, renal tubuler hücreleri diğer vücut dokularından daha yoğun bir şekilde, yüksek toksin konsantrasyonlarıyla karşı karşıya getirir. Bu yüzden renal tubuller nefrotoksisitenin direk hedefi durumundadır (8). Nefrotoksisitenin belirgin niteliği tubuler nekrozistir (21). Bu nedenle akut tubuler nekroz olarakta adlandırılır (8). Aminoglikozid antibiyotikler Veteriner Hekimlikte gram (-) aerobik enfeksiyonların tedavisi ve kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gentamisin bunlar arasında en yaygın kullanım alanı bulmasına rağmen nefrotoksik etkilerinden dolayı kullanımları sınırlanmıştır (21-24). Akut renal yetmezlik vakalarının yaklaşık % 10'undan, aminoglikozid grubu antibiyotikler sorumlu tutulmaktadır (25). Bu nedenle aminoglikozid grubu antibiyotikler akut renal yetmezlik vakalarında model olarak kullanılmaktadır (26, 27).

Yapılan bir çok araştırma ile gentamisinin böbreklerde meydana getirdiği makroskobik ve histopatolojik bozukluklar ortaya konmuştur (27-31). Deneysel nefrotoksisite olgularında proksimal tubuler epitelyumun nekrozunun denemenin 9. gününde olduğu kaydedilmiştir (27). Makroskobik olarak böbreklerin

büyük ölçüde şişkin ve solgun olduğu gözlenirken (27); renal korteksin kontagiyöz bölgelerinde, normalden hyalin damlacık dejenerasyonuna ve fırçamsı kenar boyanmasının kaybindan ferdi hücre nekrozuna veya tubuler segmental nekroza kadar olan histopatolojik değişiklikler izlenmiştir. Bazı kesitlerde ferdi hücrelerin nekrotik ve nükleer piknoz ve karyoreksisli homojen eozinofilik sitoplazma ile karakterize olduğu tespit edilmiştir. Birçok tubulde dilatasyon ve amorf granular kastlar veya nekrotik döküntüler bulunmuştur. İntersitisyumun ödematöz, düzensiz yayılmış makrofajlar ve nötrofillerle dolu olduğu bildirilmiştir (27, 30). Yüksek miktarlarda ve uzun süreli uygulanan gentamisin enjeksiyon yerlerindeki kas fiberleri arasında nekrozlara ve ödemlere neden olmaktadır. Keza gentamisin enjeksiyonlarından sonra hayvanlarda agresif davranışlar izlendiği bildirilmiştir (7, 27, 30).

Materyal ve Metot

Araştırmada, farklı yaşlarda 3 dişi, 6 erkek olmak üzere toplam 9 köpek (2 Kontrol, 7 Deneme) kullanıldı. Köpekler sağlık kontrolleri ve paraziter ilaçlamaları yapıldıktan sonra 15 gün süre ile hospitalize edildi. Hospitalizasyon sırasında köpekler ayrı kafeslerde tutuldu ve deneme süresince tek çeşit ve tek öğün beslenildiler. Sürekli olarak su ihtiyaçları sağlandı.

Deneme grubunu oluşturan 7 köpeğe nefrotoksisite oluşturmak amacıyla, 10 mg/kg dozunda ve 8 saat aralıklarla, günde 3 kez (8:00, 16:00, 24:00) olmak üzere, 10 gün süreyle Gentamisin sülfat enjeksiyonları yapıldı. Gentamisin enjeksiyonları denemeden 1 gün önce başlatıldı.

İdrar ve kan örnekleri, deneme öncesi 2 ve deneme boyunca 8 kez olmak üzere, gün aşırı periyotlarda alındı. Her iki örneğin alınımının aynı saatlerde olmasına özen gösterildi. Örnek toplama zamanları 7:00–10:00 saatleri arasında sınırlandırıldı.

İdrar örnekleri ultrasound rehberliğinde, sitosentezis yoluyla alındı. Kan örnekleri vakumlu antikoagulanlı ve antikoagulanlı tüpler kullanılarak, serum analizleri için 10 ml, hematolojik yoklamalar için ise 5 ml olarak alındı. İdrar örnekleri analiz edilinceye kadar +4 °C'de, kan örnekleri oda ısısında tutuldu.

Hematolojik yoklamalar için alınan heparinize kan örneklerinde lökosit (WBC), eritrosit (RBC), hematokrit (PCV) ve hemoglobin (Hb) değerleri belirlendi ve ortalama alyuvar hacmi (MCV), ortalama alyuvar hemoglobini (MCH) ve ortalama alyuvar hemoglobin

konsantrasyonu (MCHC) tespit edildi. Serum örneklerinde total protein (TP), albümin (ALB), kreatinin (SKR), kan üre nitrojen (BUN), glikoz (GLU), kalsiyum (Ca), fosfor (P), sodyum (Na) ve potasyum (K) değerleri belirlendi.

Glomerular fonksiyonun belirlenmesi amacıyla, sodyum sulfanilat klirensi deneme öncesi 2 kez ve denemenin 1., 7. ve 15. günlerinde ölçüldü. Tubuler fonksiyonların değerlendirilmesi amacıyla da elektrolitlerin (Ca, P, Na, K) ve glikozun fraksiyonel klirensleri hesaplandı.

İdrar örneklerinde N-asetil-β-D-glukozaminidaz (NAG), γ-glutamil transferaz (GGT) ve Alkalen fosfataz (ALP) enzim aktiviteleri, idrar kreatinin (İKR), protein (İPr), glikoz (İGLU), kalsiyum (İCa), fosfor (İP), sodyum (İNa) ve potasyum (İK) değerleri belirlendi. Ölçülen enzim aktiviteleri ve protein idrar kreatinine bölünerek enzim/kreatinin (NAG/KR, GGT/KR ve ALP/KR) değerleri ve protein/kreatinin (İPr/İKR) oranı belirlendi. Günlük idrar protein kaybı (Gün.K.) hesaplandı. İdrar dip stik muayenelerinde (Medi-Test-Combi-9, Macherey-Nagel. D-5160, Düren) kan, ürobilinojen, bilirubin, protein, nitrit, keton, askorbit asit, glikoz ve pH; idrar sedimentinin mikroskopik muayenesinde eritrosit, lökosit, epitel hücreleri, silindir ve kristaller yönünden incelemeler yapıldı.

Tüm hayvanlar iştah, salivasyon, kusma, diyare, dehidrasyon, abdominal palpasyonda ağrı, enjeksiyon bölgelerinde hassasiyet ve ağrı ile davranışları bakımından her gün gözden geçirildi.

İdrar ve kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Süpernatant ve serumlar ölçümlerde kullanılmak üzere godelere konuldu. İdrar NAG (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, W. Germany), GGT ve ALP (Biobak Laboratory Supplies, Trade and Industries, Inc.) enzim aktiviteleri, Mikroprotein (Sigma Diagnostics, Katalog Nr. 610-A) ve Glikoz (Biosystems S.A., Barcelona, Spain) konsantrasyonları, ticari test kitleri kullanılarak Schimadzu spektrofotometrede (UV-Vis. 2100 model) ölçüldü.

Serum üre, total protein, albümin ve glikoz ile her iki örnekteki kreatinin, Ca ve P konsantrasyonları otoanalizörde (Technicon RA-XT); serum ve idrar Na ve K konsantrasyonları otomatik elektrolit analizöründe (Electrolyte Analyser) ölçüldü.

Denemenin 11. gününde 1 kontrol (Köpek. 1) ve 2 deneme grubundan (Köpek. 5 ve 7) olmak üzere 3 köpek, denemenin 12. gününde 2 köpek (Köpek. 3 ve 4) üremik komaya girmeleri nedeniyle uyutuldu. Denemenin 16. gününde 1'i kontrol (Köpek. 2) diğer 3'ü deneme

grubundan (Köpek. 6, 8, 9) olmak üzere son 4 köpekte sodyum pentotal ile uyutularak otopsileri yapıldı.

Böbreklerden ve diğer viseral organlardan alınan materyaller % 10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edilerek patoloji laboratuvarına gönderildi. Burada materyallerden parafin bloklar hazırlanarak, 5 mikron kalınlığında kesitler yayılıp Hemotoksilen Eosin (H.E.) ve Periodic Acid Schiff (PAS) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Araştırmada farklı günlerde elde edilen veriler arasındaki farklılığın tespit edilmesinde varyans analizi kullandı, farklı kan değerlere Duncan testi uygulandı (32). Bu araştırmada kontrol grubu istatistik analizlere alınmadı. Kontrol grubundan grafik çizimlerinde, klinik ve histopatolojik bulguların değerlendirilmesinde yararlanıldı.

Bulgular

Klinik Bulgular

Deneme grubundaki köpeklerde gentamisin enjeksiyonlarının 7–8. günlerinde başlayan ve giderek artan durgunluk, anoreksi, abdominal palpasyonda hassasiyet ve enjeksiyona karşı agresif davranışlar izlendi. Enjeksiyon bölgelerinin palpasyonunda hassasiyet ve ağrının tespit edildiği köpeklerde enjeksiyon sonrası bir müddet ayaklarını çekme gözlemlendi.

Gentamisin enjeksiyonlarının bitimini takiben 2–3. günlerde deneme grubundaki 2 köpekte (Köpek. 3, 4) şiddetli kusma (sarı–yeşil renkli) ve salivasyon, sık soluma, eksitasyon nöbetleri ve dehidrasyon gözlemlendi. Mukozalarda hiperemi, abdominal palpasyonda ağrı ve kiremit kırmızısı renginde bir ishal tespit edildi. Denemenin 12. gününde üremik komaya giren bu 2 köpek (Köpek. 3, 4) uyutularak otopsileri yapıldı. Bir köpekte (Köpek. 8) denemenin 11. gününde sarı–yeşil kusma, abdominal palpasyonda ağrı ve kırmızı–kiremit renkli sulu dışkı gözlemlendi. Kontrol grubu köpeklerde herhangi bir klinik bulguya rastlanmadı.

Laboratuvar Bulgular

Bu araştırmada gentamisin enjeksiyonlarının 8. gününde 3 köpekte (Köpek. 3, 4, 8) proteinuri, 2 köpekte (Köpek. 3, 8) glikozuri gözlenirken, 10. günde deneme grubundaki tüm köpeklerde proteinuri ve glikozuri gözlemlendi. İdrar pH'larında herhangi bir değişiklik gözlemlenmedi.

İdrar sedimentinin mikroskopik muayenesinde, gentamisin enjeksiyonlarının 8. gününde 4 (Köpek. 3, 4, 7, 8), enjeksiyonların sona ermesinden sonraki 2. günde ise diğer 3 köpekte (Köpek. 5, 6, 9) silindürü ve renal tubul hücrelerinin varlığı tesbit edildi.

Kontrol grubundaki köpeklerin idrar muayenelerinde önemli bir bulguya rastlanmadı.

Bu araştırmada deneme grubunu oluşturan 7 köpeğin deneme öncesi ve deneme boyunca kaydedilen idrar enzim aktiviteleri, enzim ve protein/kreatinin oranları ile günlük protein kayıpları ve diğer idrar parametrelerinin ortalamaları Tablo 1'de verildi. İdrar GGT aktivitesinde denemenin 7. gününde çok önemli ($P<0.01$), NAG ve ALP aktivitelerinde ise önemsiz ($P>0.05$) artışlar gözlenirken, GGT/KR oranında yine denemenin 7. gününde, NAG/KR ($P<0.01$) ve ALP/KR ($P<0.05$) oranlarında da 13. günde önemli artışlar tespit edildi (Tablo 1). İdrar protein/kreatinin (İPr/İKR) oranı ise denemenin 9. gününde çok önemli ($P<0.01$) artış gösterdi. İdrar kreatinin, sodyum ve potasyumda denemenin 1. gününde, idrar glikoz ve protein değerlerinde de sırasıyla denemenin 7. ve 11. günlerinde önemli farklılıklar belirlendi. İdrar Ca konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmezken, İP konsantrasyonunda önemsiz düşme tespit edildi. Serum parametrelerine ait verilerin ortalama değerleri, standart hataları ve önemlilik dereceleri Tablo.2'de verildi. Serum albümin ve Na konsantrasyonlarında sırasıyla denemenin 7 ve 9. günlerinde çok önemli ($P<0.01$) düşme, kan üre nitrojen ve kreatinin konsantrasyonlarında sırasıyla denemenin 3 ve 9. günlerinde, fosfor ve potasyum değerlerinde de denemenin 13. gününde çok önemli ($P<0.01$) artışlar tespit edildi. Serum GLU ve Ca konsantrasyonlarındaki değişiklikler ise önemsizdi (Tablo 2).

Elektrolitlerin fraksiyonel klirenslerinin ortalamaları, standart hataları ve önemlilik dereceleri Tablo.3'te verildi. Fosforun fraksiyonel klirensinde (PKl) denemenin 7. gününde, kalsiyum ve potasyumun fraksiyonel klirenslerinde (CaKl ve Kkl) denemenin 7 ve 9. günlerinde, glikoz ve sodyumun fraksiyonel klirenslerinde de (GLUKl ve NaKl) sırasıyla denemenin 11 ve 13. günlerinde çok önemli ($P<0.01$) artışlar belirlendi (Tablo 3).

Hematolojik parametrelere ait verilerin ortalamaları, standart hataları ve önemlilik dereceleri Tablo 4'te verildi. Bu parametreler arasında yalnızca WBC değerlerinde denemenin 9. gününde önemli ($P<0.05$) farklılık tespit edildi (Tablo 4).

Sodyum sulfanilat klirensinde deneme boyunca gözlenen değişimler Tablo 5'te verildi. SS klirensinde denemenin 1. gününden başlayarak artış kaydedildi (Şekil 7).

Kontrol ve deneme grubunda ölçülen idrar enzim aktiviteleri ve bu enzimlere ait enzim/kreatinin oranları Şekil 1, 2, 3, 4, 5 ve 6'da verildi.

Tablo 1. Deneme grubundaki köpeklerden elde edilen idrar enzim aktiviteleri, enzim-kreatinin ve protein kreatinin oranları ile günlük protein kayıpları ve diğer idrar parametrelerinin ortalama değerleri, standart hataları ve önemlilik dereceleri (n=7).

Birim	G Ü N L E R						
	0	1	3	5	7	9	
GGT (IU/L)	91.78±10.26 ^{cd}	57.82±14.36 ^d	121.94±21.77 ^{cd}	140.27±18.18 ^{cd}	425.90±81.46 ^a	338.46±61.57 ^{ab}	
GGT/KR (IU/L/mg/dl)	0.26±0.02 ^b	0.34±0.08 ^b	0.62±0.10 ^b	0.82±0.22 ^b	3.12±1.19 ^a	3.38±1.03 ^a	
NAG (IU/L)	20.45±3.29	27.98±12.42	32.37±8.66	22.79±1.88	44.10±11.59	46.20±7.24	
NAG/KR (IU/L/mg/dl)	0.06±0.00 ^b	0.12±0.03 ^b	0.27±0.15 ^b	0.12±0.01 ^b	0.31±0.11 ^b	0.54±0.16 ^b	
ALP (IU/L)	34.26±5.01	—	104.01±11.32	103.24±11.64	533.72±311.89	290.90±136.83	
ALP/KR (IU/L/mg/dl)	0.10±0.02 ^b	—	0.63±0.13 ^b	0.58±0.11 ^b	3.72±2.50 ^b	2.58±0.91 ^b	
IKR (mg/dl)	363.86±39.23 ^a	206.67±56.35 ^b	202.00±36.07 ^b	199.57±24.16 ^b	199.71±34.39 ^b	127.14±29.30 ^{bcd}	
IPr (mg/dl)	45.07±3.87 ^{bcd}	46.14±7.79 ^{bcd}	31.18±2.90 ^d	40.76±4.04 ^{cd}	57.92±7.40 ^{ab}	59.08±3.71 ^{ab}	
IPr/KR (mg/dl)	0.14±0.01 ^d	0.27±0.05 ^d	0.18±0.03 ^d	0.23±0.04 ^d	0.37±0.10 ^{cd}	0.69±0.19 ^b	
Gün.K. (mg/dl)	5.73±0.23	7.53±1.04	6.62±0.60	7.45±0.73	10.28±1.90	16.32±3.60	
IGLU (mg/dl)	19.36±1.00 ^d	19.13±1.34 ^d	22.27±0.83 ^d	17.79±0.84 ^d	46.23±16.31 ^c	88.54±15.90 ^{bc}	
ICa (mg/dl)	9.53±4.75	27.98±11.80	26.01±12.25	38.23±15.74	11.00±3.43	21.84±14.42	
IP (mg/dl)	125.55±28.13	81.67±31.50	62.86±20.26	98.57±21.23	79.43±14.53	51.43±13.15	
INa (mEq/l)	224.58±40.43 ^a	93.17±10.75 ^{bcd}	205.16±43.31 ^{ab}	191.69±48.81 ^{abc}	73.01±54.00 ^c	14.80±9.27 ^d	
IK (mEq/l)	236.11±18.25 ^{ab}	91.75±37.50 ^c	203.90±43.84 ^{abc}	168.96±25.75 ^{abc}	252.10±33.67 ^a	165.66±21.25 ^{abc}	

Tablo 1'in devamı.

Birim	G Ü N L E R			
	11	13	15	F
GGT (IU/L)	233.41±56.62 ^{bc}	129.70±57.59 ^{cd}	91.29±48.95 ^{cd}	7.018 ^{**}
GGT/KR (IU/L/mg/dl)	2.26±0.42 ^{ab}	2.42±1.09 ^{ab}	1.75±0.82 ^{ab}	3.383 ^{**}
NAG (IU/L)	55.11±14.59	93.53±65.19	100.57±60.46	2.112 ⁻
NAG/KR (IU/L/mg/dl)	0.69±0.24 ^b	1.85±1.24 ^a	1.93±1.06 ^a	4.281 ^{**}
ALP (IU/L)	708.12±341.31	1485.33±1295.98	1776.20±1570.77	2.011 ⁻
ALP/KR (IU/L/mg/dl)	9.10±4.54 ^{ab}	28.52±24.94 ^a	32.34±27.76 ^a	2.659 [*]
IKR (mg/dl)	121.67±24.61 ^{bcd}	52.67±6.36 ^{cd}	49.33±3.53 ^d	6.197 ^{**}
IPr (mg/dl)	64.69±0.55 ^a	54.28±3.46 ^{abc}	56.23±6.29 ^{abc}	4.791 ^{**}
IPr/KR (mg/dl)	0.64±0.11 ^{bc}	1.07±0.17 ^a	1.15±0.17 ^a	9.979 ^{**}
Gün.K. (mg/dl)	13.64±2.51	11.91±4.33	12.59±4.64	1.82 ⁻
IGLU (mg/dl)	100.35±10.92 ^b	139.20±30.76 ^a	121.97±31.57 ^{ab}	13.202 ^{**}
ICa (mg/dl)	7.70±3.37	7.63±0.49	10.57±0.27	1.026 ⁻
IP (mg/dl)	55.67±15.75	28.00±8.08	26.00±4.16	1.923 ⁻
INa (mEq/l)	16.23±15.73 ^d	28.33±28.33 ^d	79.30±42.50 ^{cd}	4.856 ^{**}
IK (mEq/l)	219.38±62.28 ^{ab}	112.77±28.71 ^{bc}	79.30±42.50 ^c	2.536 [*]

Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

- : P > 0.05

* : P < 0.05

** : P < 0.01

Otopsi Bulguları

Denemenin 11., 12. ve 16. günlerinde yapılan otopsilerde genel olarak böbreklerin şişkin ve solgun olduğu, böbrek korteksinin boz alacalı bir görünüm sergilediği ve medullasında kanamalar bulunduğu belirlendi. Denemenin 12. gününde, üremik komaya girmelerinden dolayı uyutulan köpeklerin (Köpek. 3, 4) böbreklerinin çevresinde ödem belirlenirken, denemenin 16. gününde uyutulan köpeklerde ödemin yanı sıra

böbrek etrafındaki yağ dokusunda jelatinöz atrofi tespit edildi. Denemenin 11 ve 16. günlerinde uyutulan köpeklerin mide mukozalarında izlenen hiperemi ve peteşiyel kanamaların, denemenin 12. gününde uyutulan köpeklerde (Köpek. 3, 4) çok şiddetli olduğu ve tipik üremik gastritis tablosunun şekillendiği belirlendi. Tüm köpeklerin sidik kesesi duvarlarında kalınlaşmalar ile mukozasında hiperemi ve peteşiyel kanamalar izlendi. İki köpekte (Köpek. 5, 9) oldukça şiddetli submüköz kanamalar belirlendi.

Tablo 2. Deneme grubundaki köpeklerden elde edilen serum parametrelerinin ortalama değerleri, standart hataları ve önemlilik dereceleri (n=7).

Birim	G Ü N L E R						
	0	1	3	5	7	9	
TP (g/dl)	6.46±0.20	6.08±0.23	6.16±0.18	6.41±0.26	6.17±0.20	5.74±0.23	
ALB (g/dl)	3.45±0.14 ^a	3.30±0.13 ^{ab}	3.13±0.08 ^{abc}	3.20±0.10 ^{ab}	3.03±0.08 ^{bcd}	2.81±0.08 ^{cd}	
SKR (mg/dl)	1.24±0.06 ^d	1.21±0.08 ^d	1.66±0.10 ^d	1.80±0.09 ^d	3.10±0.66 ^d	7.40±1.91 ^c	
BUN (mg/dl)	11.51±1.24 ^h	11.05±1.13 ^h	17.40±2.06 ^f	12.26±1.42 ^g	20.21±3.78 ^e	54.07±13.48 ^d	
GLU (mg/dl)	88.07±4.10	76.00±6.81	83.14±4.32	82.29±7.01	82.14±4.21	88.00±6.86	
Ca (mg/dl)	10.64±0.20	10.38±0.13	10.30±0.18	10.60±0.12	10.34±0.24	10.07±0.44	
P (mg/dl)	4.74±0.16 ^c	4.83±0.24 ^c	5.30±0.28 ^c	4.96±0.33 ^c	4.50±0.25 ^c	4.66±0.38 ^c	
Na (mEq/l)	149.11±0.93 ^a	144.00±1.00 ^b	145.29±0.64 ^{ab}	146.39±0.54 ^{ab}	144.83±0.87 ^{ab}	143.04±1.59 ^b	
K (mEq/l)	5.10±0.16 ^b	5.15±0.07 ^b	4.84±0.12 ^b	5.22±0.17 ^b	4.83±0.18 ^b	4.64±0.23 ^b	

Tablo 2'nin devamı.

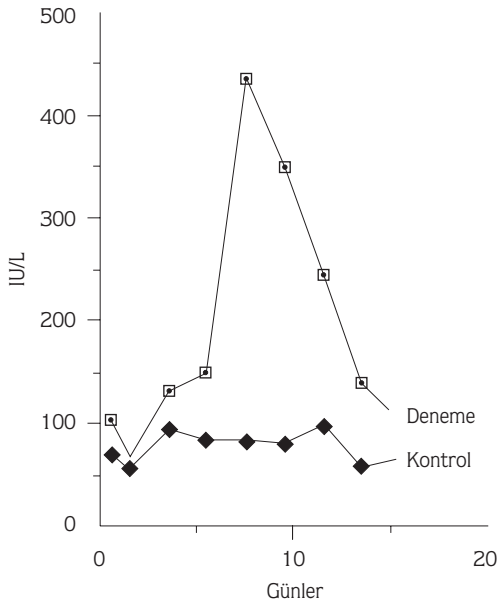
Birim	G Ü N L E R			
	11	13	15	F
TP (g/dl)	5.73±0.18	5.97±0.38	5.77±0.34	1.558 ⁻
ALB (g/dl)	2.77±0.10 ^{cd}	2.70±0.21 ^d	2.73±0.28 ^d	4.918 ^{**}
SKR (mg/dl)	13.96±2.35 ^b	17.30±3.53 ^b	21.77±4.45 ^a	20.657 ^{**}
BUN (mg/dl)	99.30±14.27 ^c	119.43±17.47 ^b	129.22±313.70 ^a	13.347 ^{**}
GLU (mg/dl)	83.57±6.26	98.33±6.36	98.33±7.26	1.041 ⁻
Ca (mg/dl)	10.10±0.43	10.60±0.25	10.00±0.50	0.606 ⁻
P (mg/dl)	6.79±0.83 ^c	11.83±1.91 ^b	14.20±4.06 ^a	12.179 ^{**}
Na (mEq/l)	144.71±1.38 ^b	143.33±2.85 ^b	140.63±3.64 ^c	2.950 ^{**}
K (mEq/l)	5.47±0.36 ^{ab}	6.00±0.58 ^a	6.18±0.86 ^a	2.887 ^{**}

Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

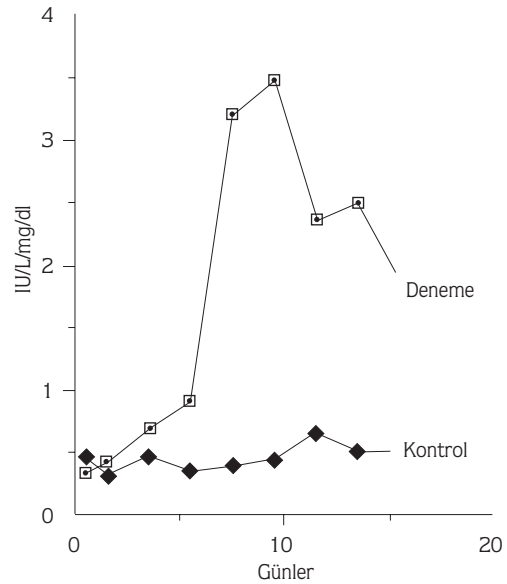
- : P > 0.05

* : P < 0.05

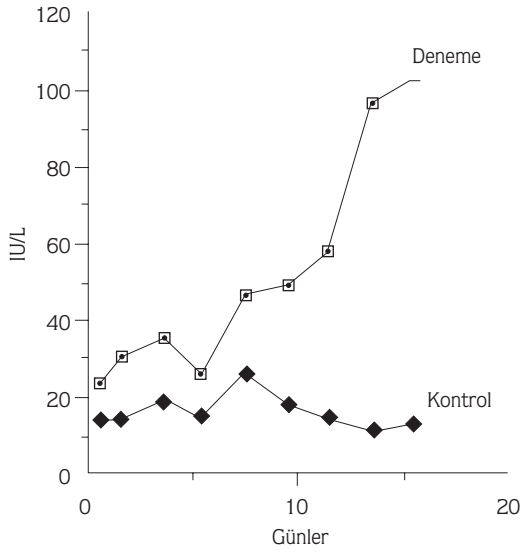
** : P < 0.01



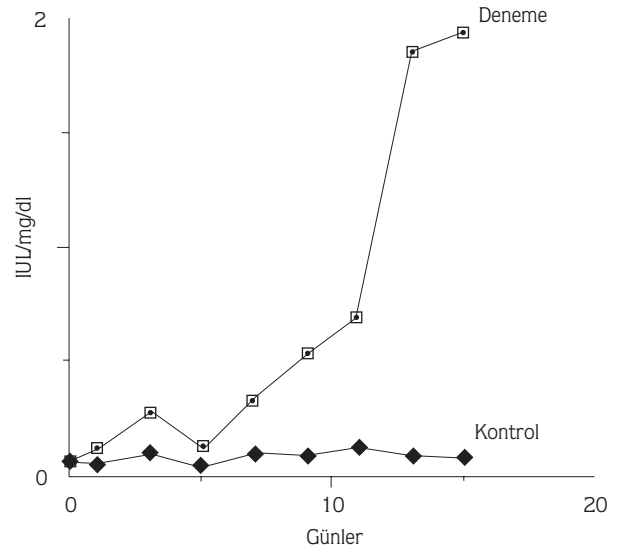
Şekil 1. Kontrol ve Deneme Grubundaki Köpeklerde İdrar Gamma Glutamil Transferaz (GGT) Enzim Değerleri.



Şekil 2. Kontrol ve Deneme Grubundaki Köpeklerde İdrar Gamma Glutamil Transferaz/Kreatinin (GGT/KR) Değerleri.



Şekil 3. Kontrol ve Deneme Grubundaki Köpeklerde İdrar N-asetil-β-D-Glukozaminidaz (NAG) Aktiviteleri.



Şekil 4. Kontrol ve Deneme Grubundaki Köpeklerde İdrar N-asetil-β-D-Glukozaminidaz/Kreatinin Oranı (NAG/KR) Değerleri.

Tablo 3. Deneme grubundaki köpeklerde ölçülen elektrolitlerin fraksiyonel klirenslerinin ortalama değerleri, standart hataları ve önemlilik dereceleri (n=7).

Birim	G Ü N L E R						
	0	1	3	5	7	9	
Cakl	%	0.29±0.12 ^d	2.37±1.19 ^{cd}	1.92±0.67 ^{cd}	3.19±1.33 ^{cd}	17.2±0.75 ^{cd}	9.29±3.21 ^c
Pkl	%	9.15±1.92 ^d	11.16±3.12 ^d	10.83±3.59 ^d	17.70±3.00 ^{cd}	27.91±5.51 ^c	51.25±7.76 ^b
Nakl	%	0.61±0.19 ^c	0.54±0.15 ^c	1.68±0.58 ^c	1.14±0.23 ^c	0.54±0.33 ^c	1.00±0.87 ^c
Kkl	%	17.70±2.88 ^d	11.01±3.55 ^d	36.88±6.00 ^d	31.34±5.13 ^d	112.71±36.99 ^{cd}	277.80±86.10 ^{bc}
GLUkl	%	0.08±0.01 ^c	0.21±0.05 ^c	0.30±0.08 ^c	0.23±0.05 ^c	2.23±1.39 ^c	14.84±6.66 ^{bc}

Tablo 3'ün devamı.

Birim	G Ü N L E R				
	11	13	15	F	
Cakl	%	8.17±2.63 ^{cd}	26.09±8.39 ^b	46.61±9.68 ^a	20.802 [*]
Pkl	%	74.55±5.07 ^a	70.56±6.31 ^a	82.35±3.55 ^a	31.912 ^{**}
Nakl	%	0.42±0.35 ^c	9.69±9.59 ^b	22.23±11.62 ^a	5.634 ^{**}
Kkl	%	489.73±121.13 ^{ab}	566.13±76.15 ^a	561.64±196.33 ^a	11.280 ^{**}
GLUkl	%	25.54±12.07 ^b	44.51±8.14 ^a	49.35±5.38 ^a	7.557 ^{**}

Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

- : P > 0.05

* : P < 0.05

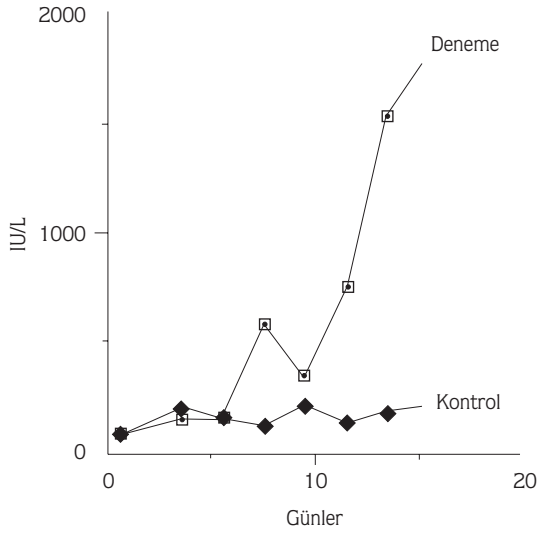
** : P < 0.01

Tüm köpeklerde enjeksiyon bölgelerinde kanama ve nekroz odakları tespit edildi.

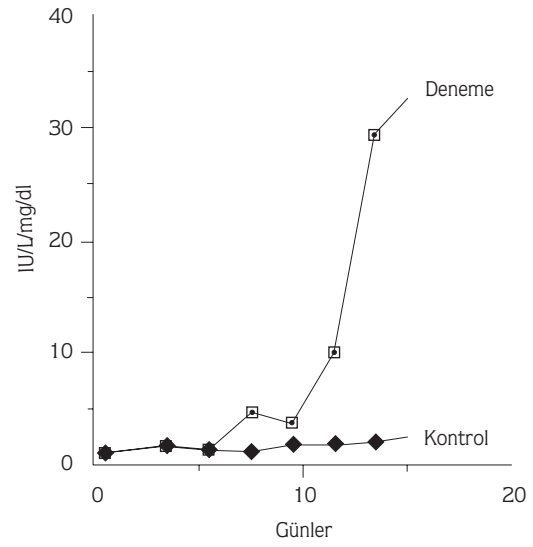
Denemenin 11 ve 16. günlerinde otopsileri yapılan kontrol grubu köpeklerde (Köpek. 1, 2) gerek böbrek ve gerekse diğer viseral organlarda makroskopik patolojik bir lezyon belirlenemedi.

Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubu köpeklerde fırçasmsı kenarları bulunan prizmatik epitellerle döşeli proksimal tubulusların ve diğer tubullerin epitellerinde belirgin bir dejeneratif ve nekrotik değişikliğe rastlanmadı. PAS boyanmasında proksimal tubul epitellerinin lumene doğru uzanmış fırçasmsı



Şekil 5. Kontrol ve Deneme Grubundaki Köpeklerde İdrar Alkalen Fosfataz (ALP) Aktiviteleri.



Şekil 6. Kontrol ve Deneme Grubundaki Köpeklerde İdrar Alkalen Fosfataz/Kreatinin (ALP/KR) Oranı Değerleri.

Tablo 4. Deneme grubundaki köpeklerden elde edilen hematolojik parametrelerinin ortalama değerleri, standart hataları ve önemlilik dereceleri (n=7).

Birim	G Ü N L E R						
	0	1	3	5	7	9	
WBC (x10 ³)	6.94±0.68 ^b	7.74±0.61 ^{ab}	5.69±0.46 ^b	6.54±1.13 ^b	7.80±0.97 ^{ab}	11.29±1.87 ^a	
RBC (x10 ⁶)	5.22±0.58	5.61±0.58	6.17±0.73	5.14±0.21	4.99±0.54	4.83±0.45	
Hb (g/dl)	11.07±0.53	9.57±0.68	11.17±0.27	11.37±0.31	10.09±0.83	10.34±0.65	
PCV (%)	37.21±2.86	29.43±1.81	35.29±1.19	36.43±0.90	32.43±2.99	30.86±1.58	
MCV (fl)	75.19±83.69	55.87±71.86	64.42±107.41	71.98±21.45	67.07±48.59	66.09±47.78	
MCH (pg)	23.13±2.52	18.22±2.53	20.29±3.16	22.36±1.07	20.73±1.26	22.09±1.80	
MCHC (g/dl)	30.98±2.14	32.45±0.73	31.90±0.99	31.29±0.99	31.50±1.90	33.72±2.06	

Tablo 4'ün devamı.

Birim	G Ü N L E R			
	11	13	15	F
WBC (x10 ³)	9.91±2.03 ^{ab}	6.40±1.21 ^b	6.13±0.87 ^b	2.185 [*]
RBC (x10 ⁶)	4.84±0.41	4.42±0.68	3.96±0.24	1.114 ⁻
Hb (g/dl)	11.17±0.47	10.40±0.90	9.93±2.17	0.964 ⁻
PCV (%)	31.43±1.02	32.00±2.00	29.00±5.51	1.920 ⁻
MCV (fl)	67.82±61.71	74.88±80.83	72.62±120.67	0.680 ⁻
MCH (pg)	23.94±1.98	24.13±1.99	24.80±4.82	0.764 ⁻
MCHC (g/dl)	35.55±1.01	32.39±0.86	33.75±1.34	0.919 ⁻

Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

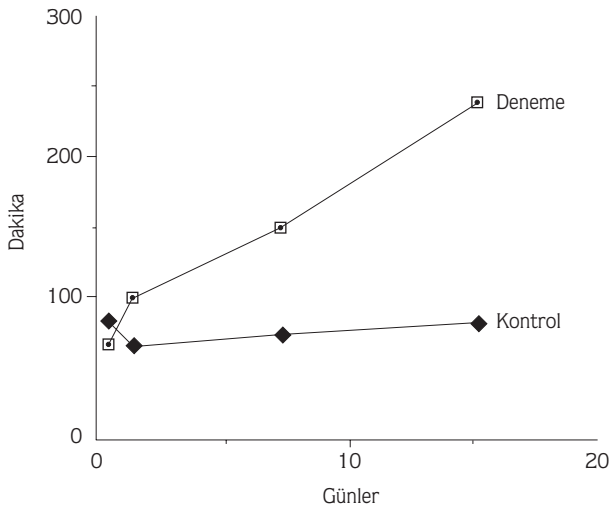
- : P > 0.05

* : P < 0.05

** : P < 0.01

silyumları belirgin olarak gözlemlendi. Denemenin 11. gününde uyutulan deneme grubu köpeklerde proksimal tubul epitellerinin nekroze olduğu ve hücrelerin sınırları

ile çekirdeklerinin tamamen ortadan kalktığı, tubulusların şekilsiz, eozinofilik küçük granüler yapıda kitlelerle dolu olduğu görüldü. Bu tubulusların bazılarında eozinofilik



Şekil 7. Kontrol ve Deneme Grubundaki Köpeklerde Sodyum Sulfanilat (SS) Klirensi Değerleri.

granüler kitlelerin kaybolduğu ve sadece bazal membranın varlığı dikkat çekti. Distal tubulusların bir kısmının lumenlerinde homojen–eozinofilik kitleler (hyalin silindirler) tespit edildi. PAS boyanmasında ise proksimal tubulusların bazal membranlarının incelendiği, hatta yer yer yırtılmaların ekillendiği, diğer tubuluslarda ise bazal membranların bütünlüğünü koruduğu görüldü.

Denemenin 12. gününde üremik koma nedeniyle uyutulan köpeklerin böbreklerinde derecesi biraz değişik olmakla beraber 11. günde uyutulanlarla benzer mikroskopik lezyonlar gözlemlendi. Fakat özellikle dış kortikal bölgedeki bazı tubulusların rejenerasyona ilgili olarak bazofilik sitoplazmalı yassı epitelle döşeli olduğu görüldü.

Denemenin 16. gününde otopsileri yapılan deneme grubu köpeklerin böbreklerinde, bazı tubulusların lumenlerinin tubulonefroza ilgili olarak ince granüllü materyalle dolu olmasına karşılık çoğunun özellikle dış kortikal bölgedeki tubulusların rejenerasyon olmuş yassı epitelle döşeli olduğu görüldü. PAS boyanmasında içinde granüllü materyal bulunan nefrotik tubulusların bazal

membranlarının incelendiği, hatta yer yer gözden silindiği dikkati çekti. Rejenerasyonun geliştiği tubuluslarda ise bazal membranın sağlam olduğu görüldü. Sınırlı da olsa bazı sahalarda tubulusların kaybolduğu bunun yerini ödemli gevşek bir dokunun aldığı ve yer yer fokal mononükleer hücre infiltrasyonlarının şekillendiği belirlendi. Medulladaki tubulusların büyük bir kısmının lumenlerinde hyalin silindirlerine rastlandı.

Tartışma

Köpeklerdeki Akut İntrinsik Renal Yetmezliğin (AIRY) başlıca nedenlerinden birisi aminoglikozid nefrotoksitesidir (19). Köpeklerde gentamisinle yapılan deneysel nefrotoksikite olgularında, klinik ve histopatolojik nefrotoksitenin oluşumu gentamisinin nefrotoksik dozlarını takiben 9. (27) ve 9.3'üncü (26) günler olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada nefrotoksik dozlarda uygulanan gentamisinin böbreklerde oluşturduğu akut tubuler nekrozisin, klinik ve laboratuvar bulgu sonuçlarına göre 7–10 günler arasında olduğu belirlendi. Böylece diğer çalışmalarda (7, 22, 27, 30, 31) olduğu gibi gentamisin nefrotoksitesinin köpeklerde AIRY çalışmaları bir model olarak kullanılabilirliği tespit edildi.

İdrar muayeneleri (dik stik, sedimentin mikroskopik muayenesi) gentamisin enjeksiyonlarının 8. gününden başlayarak anormal bulgular (renal tubuler hücrelerin varlığı, silindiruri, hematuri, glikozuri ve proteinuri) gösterdi. Bu bulgular, Brown ve ark. (26) ve Greco ve ark. (30)'nın gentamisin enjeksiyonlarının 8. gününde gentamisin nefrotoksikozisli köpeklerde hematuri, proteinuri, glikozuri ile granüler kitlelerin varlığına ilişkin tespitlerini desteklemektedir. Bu çalışmada BUN, SKR ve P, K konsantrasyonlarında sırasıyla denemenin 3., 9. ve 13. günlerinde çok önemli ($P < 0.01$) artışlar, serum ALB konsantrasyonunda denemenin 7. gününde, Na'da ise 9. günde çok önemli ($P < 0.01$) azalma gözlemlendi (Tablo 2). Serum kreatinin ve BUN konsantrasyonlarındaki artışlar GFR'nın iyi göstergeleri olmakla birlikte, gerek nonrenal faktörlerden etkilenmeleri, gerekse fonksiyonel

Dakika	G Ü N L E R			
	0	1	7	15
0	23.25±2.92	10.97±1.27	15.21±2.27	31.93±3.61
30	68.49±3.03	28.91±0.50	38.65±1.66	50.04±5.67
60	56.58±3.12	24.69±0.41	28.07±0.89	46.59±1.34
90	34.08±2.79	20.16±0.43	26.54±1.26	43.63±1.71
$t_{1/2}$	61.22	94.54	141.90	229.28

Tablo 5. Deneme grubu köpeklerde ölçülen sodyum sulfanilat klirensinin deneme boyunca gözlenen değişimleri (n=7).

nefronların % 75'inin kaybı gibi aşırı hasarın göstergeleri olduğu ifade edilmektedir (8, 9, 12, 33–35). Spangler ve ark. (27) SKR ve BUN konsantrasyonları yükselmeden öne belirgin ve irreverzibl nefrotoksik hasarın oluştuğunu tespit etmişlerdir. Greco ve ark. (30)'da köpeklerde gentamisin nefrotoksitesinde benzer şekilde SKR'in 9. günden başlayarak 2 mg/dl'yi aştığını (azotemi) bildirmektedirler. Bu çalışmada BUN konsantrasyonunda denemenin 3. gününde meydana gelen artış önemli olmakla birlikte azotemi için bildirilen (9) değer (34–45 mg/dl) altındaydı. Ayrıca BUN konsantrasyonu denemenin 3. gününden sonra azalma kaydetti ve azotemi için bildirilen (9) 35–45 mg/dl sınırı ancak denemenin 9. gününde aştı. Benzer sonuçlar Hardy ve ark. (36)'nin kedilerde gentamisin nefrotoksitesine üzerine yaptığı çalışmada da elde edilmiştir. Bu çalışmada (36) BUN konsantrasyonu denemenin 9. gününde normal değerleri aşarken, SKR konsantrasyonunun ise ancak denemenin 7. gününde normal değerinin 2 katına (azotemi) ulaştığı bildirilmiştir.

Brown ve ark. (22) köpeklerde gentamisine ilişkin akut renal yetmezlikte 10 köpeğin 10'unda hiperfosfatemi, 5'inde hipokalemi, 5'inde hiperkalemi tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı şekilde Polzin ve ark. (19) köpeklerde akut renal yetmezlik olgularında serum P ve K'da artış olduğunu bildirmişlerdir. Bayly ve ark. (12) küçük hayvanlarda hiperfosfateminin renal yetmezliğin işareti olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da renal yetmezliğin göstergesi olarak denemenin 13. gününde P ve K konsantrasyonunda çok önemli ($P<0.01$) artışlar belirlendi. Fosforun glomerular filtrasyonunun azalması hiperfosfatemiye yol açmaktadır. Ayrıca bu çalışmada tespit edilen SS klirensinin sonuçları, GFR'ında denemenin 1. gününde başlayan ve denemenin ilerleyen günlerinde giderek artan bu azalmaya işaret etmektedir (Tablo 5). Bu çalışmada Brown ve ark. (22)'nin yaptıkları çalışmanın aksine tüm köpeklerde hiperkalemi gözlemlendi. Akut renal yetmezlikte gelişen metabolik asidozis sonucu böbreklerde bikarbonat rejenarasyonuna bağlı olarak K'a oranla H iyonunun aşırı sekresyonu ve biyolojik tamponlama sırasında H iyonu intraselüler sıvıya geçerken K iyonunun ekstraselüler sıvıya geçmesi hiperkaleminin gelişmesinin bir nedeni olabilir. Bu çalışmada serum albümin konsantrasyonundaki azalma proksimal tubuler dejenerasyon ve Na'daki düşme de bu dejenerasyonla ilgili olarak tubuler geri emilimdeki azalmadan kaynaklanabilir. Bu bulgular Brown ve ark. (22)'nin bulguları ile paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada idrar parametreleri değerlendirildiğinde IKR, INa konsantrasyonlarında çok önemli ($P<0.01$) ve İK konsantrasyonunda da denemenin

1. gününde önemli ($P<0.05$) düşme, İGLU ve İPr konsantrasyonlarında da sırasıyla denemenin 7 ve 11. günlerinde çok önemli ($P<0.01$) artış tespit edildi (Tablo 1). İdrar kreatinin konsantrasyonundaki düşme kreatinin azalmış glomerular filtrasyonunun bir sonucu olabilir. İK konsantrasyonunda 1. günden itibaren belirlenen artma–azalma şeklinde, dalgalı bir seyir izleyen değişiklikler, gelişen metabolik asidozisin derecesiyle ilgili olarak denemenin sonuna kadar devam etmiştir, serum tablosunda gözlenen hiperkalemi de bu tabloyu desteklemektedir. İPr ve İGLU konsantrasyonlarındaki artışlar ise proksimal tubuler nekrozis ve bunun neticesi oluşan geri emilimdeki aksamaların sonucu olabilir. İdrarda belirgin protein varlığı akut generalize nefritis olgularında, nefrozis oluşturan bazı ilaçlar ve kimyasal maddelerin meydana getirdiği şiddetli renal hasarda gözlenebilir. Normal idrarda glikoz yoktur. Renal glikozuri, renal tubuler geri emilimin bozulmasının bir sonucudur. Glikoz solüsyonları verilmeyen veya belirgin bir şekilde hiperglisemik olmayan hayvanlarda glikozuri genel olarak proksimal tubuler disfonksiyona işaret eder (9, 12). Gentamisin nefrotoksitesine ilişkin proksimal tubuler hasarın belirlendiği olgularda proteinuri ve glikozuri gözlemlendiği çeşitli araştırmacılar (22, 37, 38) tarafından bildirilmiştir. Gentamisin nefrotoksikozisli olgularda gözlenen İKR, İNa ve İK konsantrasyonlarındaki düşüşler araştırmacıların (36, 27) bildirimlerine uygundur. Ancak bu çalışmada İK konsantrasyonunun sonuç olarak düştüğü gözlenmesine rağmen, deneme boyunca dalgalı bir seyir izlediği belirlenmiştir.

Bu çalışmada İPr/İKR oranında denemenin 9. gününden başlayarak çok önemli ($P<0.01$) artış tespit edilmiştir (Tablo 1). Akut renal yetmezlik vakalarında köpeklerde renal fonksiyondaki hızlı değişiklikler nedeniyle, bu etkilerin aynı şekilde İPr/İKR oranına yansıtılabileceği kaydedilmektedir (39). White ve ark. (39) akut renal yetmezlikli bir köpekte İPr/İKR oranını 3.94 olarak bildirirken, Fettmann (40) İPr/İKR oranının akut renal yetmezlik bulunan 6 köpeğin 3'ünde 1'den küçük, 2'sinde 1–2 arasında ve 1'inde de 2'den büyük olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışmada ise denemenin 9–11. günlerinde 0.69 ± 0.19 – 0.64 ± 0.11 oranlarıyla şüpheli durumda olan İPr/İKR oranının, 13 ve 15. günlerde anormal oranlara (1.07 ± 0.17 – 1.15 ± 0.17) ulaştığı belirlenmiştir (Tablo 1). İPr/İKR oranının tam yorumu için optimal şartlardan biri glomerular filtrasyonun stabilitesidir (41). Bu nedenle İPr/İKR oranı akut renal yetmezliğin tanısında ilave bir parametre olarak bilgi sağlayabilir, ancak sabit olmayan glomerular filtrasyonda bu oranın değişimleri incelenmelidir. Bu çalışmada günlük protein kayıpları (Gün.K.) deneme boyunca

önemsiz bir artış kaydetti (Tablo 1). İPr/KR oranı klinik boyutlara ulaştığı halde Gün.K.'nın önemsiz olması GFR'nın denemenin ilerleyen günlerinde giderek artan değişimleriyle ilgili olabilir.

Sodyum sulfanilat (SS) yalnızca glomerular filtrasyonla ekskresyon edilir, bu nedenle SS'in yarı ömrü glomerular fonksiyonun bir indikatörü olarak kullanılmaktadır (8). Bu çalışmada gentamisin enjeksiyonlarının 2. gününden başlayarak SS klirensinde bir artış belirlenmiş ve bu artış deneme boyunca devam etmiştir. Bu durum Cojocel ve ark. (42)'nin aminoglikozid antibiyotiklerin GFR üzerindeki etkilerle, GFR'nı azalttığı yolundaki bildirimleriyle uygunluk göstermektedir. Keza denemenin 7–9. günlerinden başlayarak artış gösteren SKR ve denemenin 9. gününden başlayarak artış gösteren BUN değerlerinden öncelikli olması ile de Maddison ve ark. (35)'nin bildirimlerini desteklemektedir. Bu çalışmada SS klirensi denemenin 1. gününden itibaren belirgin azalma gösterirken, SKR, BUN ve P'un sırasıyla denemenin 7., 9. ve 11. günlerinden başlayarak önemli artış göstermeleri Glomerular fonksiyonların değerlendirilmesinde SS klirensinin daha güvenli bir değerlendirme olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada Pkl'nde denemenin 7. gününde, Cakl ve Kkl'lerinde 9. günde, GLUKl ve Nakl'lerinde de sırasıyla denemenin 11 ve 13. günlerinde çok önemli ($P<0.01$) artışlar belirlendi (Tablo 4). Garry ve ark. (28) gentamisin nefrotoksikozisli koyunlarda Na, K ve P'un fraksiyonel klirenslerinde belirgin artışlar bildirirken, Bennett (29) gentamisin nefrotoksikozisli koyunlarda Na'un fraksiyonel ekskresyonunda düşüş, K'un fraksiyonel ekskresyonunda ise artış gözlediğini bildirmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, ölçülen elektrolitlerin fraksiyonel klirenslerindeki artışların, proksimal tubuler nekrozdan kaynaklanan artmış tubuler sekresyon veya azalmış tubuler reabsorpsiyonun sonucu olduğu şeklindeki Garry ve ark. (28)'nin bildirimlerini desteklemektedir.

İdrardaki makromoleküler renal enzim aktivitesinin belirlenmesinin böbrek dokusunun duyarlı bir indikatörü olduğu; böbreklerdeki akut toksik hasarın belirlenmesinde lezyonun şiddetli ve/veya kapsamı, nefrondaki hasarın yeri ve selüler veya subselüler niteliği bakımından önemli bilgiler sağladığı bildirilmektedir (1, 2, 5, 7, 16, 17, 30, 35, 38). Bu çalışmada deneme grubunda GGT enzim değerleri, denemenin 7. gününde çok önemli ($P<0.01$) artış gösterdi. Bu artışın denemenin 1. gününde kaydedilen önemsiz bir düşmeden sonra 7. güne kadar artarak devam ettiği, sonraki günlerde yine azalarak başlangıç değerlerine döndüğü belirlendi (Şekil 2). Ancak deneme grubundaki köpeklerin ferdi enzim

değerleri göz önüne alındığında denemenin 3. gününden itibaren başlangıç (0) değerlere göre belirgin olarak yükseldiği tespit edildi. Greco ve ark. (30) tarafından GTP enzim seviyelerinde benzer şekilde denemenin 2. gününde başlayan belirgin artışların, 5–10. günler arasında dalgalanma gösterdiği, fakat artışların yine de yüksek oranlarda olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da idrar GGT aktivitesinin önemli artışları denemenin 7. gününde tespit edilmiş olmasına rağmen, belirgin yükselmeler denemenin 3. gününden itibaren olmuştur.

Spangler ve ark. (27) gentamisin ile oluşturdukları deneysel nefrotoksisite vakalarında NAG aktivitesinin 2. günde önemli oranda arttığını bildirmiş olmalarına rağmen, bu çalışmada gerek NAG ve gerekse ALP değerlerinde istatistiksel farklılık gözlenmedi. Ancak bu iki enzim GGT'ye benzer şekilde denemenin sonuna kadar progressif bir artış gösterdi (Şekil 4, 6). Her iki enzim grup ortalamaları göz önüne alındığında giderek arttığı halde istatistiksel olarak önemli olmaması, idrar enzimlerinin fertler arası ve ferdi değişkenliklerden etkilendiği şeklinde yorumlanabilir. Reusch ve ark. (6), sağlıklı köpeklerde idrar enzim ekskresyonlarının biyolojik değişkenliğini araştırdıkları çalışmalarında, fertler arası ve ferdi varyasyonların muhtemel nedenlerini, enzim matriksi ve enzimin moleküler yapısı üzerindeki birtakım güçlü fizyolojik etkilere (glomerular filtrasyonun değişimi, tubuler geri emilim ve enzim katabolizması gibi) bağlamışlardır. Bu araştırmacılar (6) bu tür varyasyonların azaltılabilesinin, sonuçların idrar kreatinine ilgilendirilmesiyle mümkün olabileceğini bildirmişlerdir. Bu görüşü destekleyen birçok araştırma da bulunmaktadır (7, 15–18, 43). Sunulan bu çalışmada NAG ve ALP enzim seviyelerindeki artışlar istatistiksel olarak önemsiz görünürken, NAG/KR ($P<0.01$) ve ALP/KR ($P<0.05$) oranlarında denemenin 13. gününde önemli artışlar belirlendi. GGT/KR oranında da denemenin 7. gününde başlayan ve 9. günde pik noktasına çıkan çok önemli ($P<0.01$) artışlar tespit edildi. Bu sonuçlar diğer araştırmacıların (7, 15–19) belirttiği gibi enzim/kreatinin oranının daha duyarlı ve sağlıklı sonuçlar verdiğini göstermektedir.

Heiene ve ark. (17) yaptıkları çalışmada, akut renal hastalıklarda ALP/KR oranının akut dönemde 5.8 IU/L/mmol kreatinin'den 49.4 IU/L/mmol kreatinin'e, GGT/KR oranının ise 3.4 IU/L/mmol kreatinin'den 9.6 IU/L/mmol kreatinin'e kadar yükseldiğini ve akut renal yetmezliğin tanısında ALP'ın GGT'den daha duyarlı bir gösterge olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada ise ALP/KR oranı denemenin 13. gününde önemli ($P<0.05$) artış gösterirken, GGT/KR oranındaki önemli ($P<0.01$) artış denemenin 7. gününde tespit edilmiştir,

dolayısıyla GGT/KR oranının ALP/KR oranına göre daha duyarlı bir indikatör olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmada GGT/KR oranının, ALP/KR oranına göre daha önemli bulunması, her iki oranın standart hataları göz önüne alındığında, ALP/KR oranında fertler arasında gözlenen geniş varyasyonun, GGT/KR oranında daha sınırlı olmasına bağlanabilir.

Renal hasar için güvenilir indikatörler, fonksiyonda ölçülebilir oranda bir etkilenme olmadan önce değişikliklerin tanınmasını sağlamalı ve renal disfonksiyon başladığı zaman hastalığın tanınmasına ve lokalizasyonunun belirlenmesine yardımcı olmalıdır (7). Bu açıdan bakıldığı zaman bu araştırmada GGT/KR oranı gentamisin nefrotoksitesinin belirlenmesinde kullanılabilir en duyarlı indikatör olarak bulunmuştur. Her ne kadar İKR, İNa ve İK konsantrasyonlarındaki artışlar denemenin 1. gününde önemli olarak bulunmuş olsa da, bu parametrelerin idrar konsantrasyonları idrarın dansitesinden kolayca etkilenebileceklerinden dolayı

duyarlı indikatörler olarak ele alınmaları uygun olmayabilir. İdrar K ve Na'un fraksiyonel klirenslerindeki önemli artışların sırasıyla denemenin 9 ve 13. günlerinde bulunmuş olması bu görüşü doğrulamaktadır. Ayrıca SS klirensinin 1. günden itibaren normal sınırların üzerine çıkmış olması bu klirensin GGT/KR oranından daha duyarlı olduğunu gösterebilir. Ancak rutin laboratuvar diyagnostik analizlerde bu metodun uygulanması zaman alıcı olduğundan yaygın olarak kullanılmamaktadır. İdrar GGT/KR oranı gibi 7. günde önemli artış gösteren Pkl, GGT/KR oranına alternatif olabilir. Ancak glomerular filtrasyon oranından etkilendiğinden tubuler hasarın belirlenmesinde spesifik değildir.

Sonuç olarak, bu araştırmada gentamisin nefrotoksitesinde meydana gelen tubuler hasarın belirlenmesinde en duyarlı indikatörün idrar GGT/KR oranı olduğu ve bunun çeşitli nedenlerden kaynaklanabilen tubuler hasarın belirlenmesinde kullanılabilirliği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Maruhn, D., Bornhaard, E. and Paar, D.: Urinary enzymes as markers for renal toxicology. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1987; 25, 12: 875.
2. Braun, J.P., Siest, G. and Rico, A.G.: Uses of γ -glutamyltransferase in experimental toxicology. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine.* 1987; 31: 151-172.
3. Keller, P.: Enzymaktivitäten in organen, zellfraktionen und körperfliüssigkeiten des hundes unter spezieller berücksichtigung klinisch-diagnostischer aspekte. I. Teil: Biologisch-physiologische grundlagen. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1986; 128: 1-25.
4. Milne, E.M. and Doxey, D.L.: Alkaline phosphatase and its isoenzymes in the tissues and sera of normal dogs. *Veterinary Research Communications.* 1986; 10: 229-236.
5. Gibey, R., Dupond, J.L. and Henry, J.C.: Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) isoenzyme profiles: a tool for evaluating nephrotoxicity of aminoglycosides and cephalosporins. *Clinica Chimica Acta.* 1984; 137: 1-11.
6. Reusch, C., Vochezer, R. and Weschta, E.: Enzyme Activities of urinary alanine aminopeptidase (AAP) and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) in healthy dogs. *J. Vet. Med. A.* 1990; 38: 90-98.
7. Garry, F., Chew, D.J. and Hoffsis, G.F.: Enzymuria as an index of renal damage in sheep with induced aminoglycoside nephrotoxicosis. *Am. J. Vet. Res.* 1990; 51, 3: 428-432.
8. Chew, D.J. and Dibartola, S.P.: Diagnosis and pathophysiology of renal disease. In *Textbook of Veterinary Internal Medicine-Diseases Of The Dog And Cat*, Third Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, Ed. S.J.Ettinger, 1893-1961, 1989 (2).
9. Coles, E.H.: Kidney Function. In *Veterinary Clinical Pathology*, Fourth Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1986.
10. Dubach, U.C. and Le Hir, M.: Critical evaluation of the diagnostic use of urinary enzymes. *Contr. Nephrol.* 1984; 42: 74-80.
11. Meyer, D.J., Coles, E.H. and Rich, L.J.: Urinary Tract Test Abnormalities, In *Veterinary Laboratory Medicine-Interpretation and Diagnosis*. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
12. Bayly, W.: A practitioner's approach to the diagnosis and treatment of renal failure in horses. *Veterinary Medicine.* 1991; 632-639.
13. Amodio, P., Bazzler, G., Malatesta, R. and Gatta, A.: Reference ranges and methodological aspects in the urinary measuring of lysozyme, malate-dehydrogenase, γ -glutamyltransferase and α -glucosidase. *Enzyme.* 1985; 33: 216-225.
14. Palmieri, L., Ronca, G., Cioni, L. and Puccini, R.: Enzymuria as a marker of renal injury and disease: Studies of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase, Alanine Aminopeptidase and Lysozyme in Patients with Renal Disease. *Contr. Nephrol.* 1984; 42: 123-129.
15. Bishop, S.A., Lucke, W.M., Stokes, C.R. and Gruffydd-Jones, T.J.: Plasma and Urine biochemical changes in cats with experimental immune complex glomerulonephritis. *J. Comp. Path.* 1991; 104: 65-76.

16. Gossett, K.A., Turnwald, G.H., Kearney, M.S., Greco, D.S. and Cleghorn, B.: Evaluation of γ -glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio from spot samples of urine supernatant, as an indicator of urinary enzyme excretion in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1987; 48, 3: 455–457.
17. Heiene, R., Biewenga, W.J. and Koeman, J.P.: Urinary alkaline phosphatase and γ -glutamyl transferase as indicators of acute renal damage in dogs. *Journal of Small Animal Practice.* 1991; 32: 521–524.
18. Jung, K., Schulze, B-D. and Sydow, K.: Diagnostic significance of different urinary enzymes in patients suffering from chronic renal diseases. *Clinica Chimica Acta.* 1987; 168: 287–295.
19. Polzin, D., Osborne, C. and O'Brien, T.: Diseases of the kidneys and ureters. In *Textbook of Veterinary Internal Medicine–Diseases Of The Dog And Cat, Third Edition*, W.B. Saunders Company, Philadelphia. Ed. S.J. Ettinger, 1962–2046, 1989 (2).
20. Davis, L.E.: Adverse drug reactions. In *Textbook of Veterinary Internal Medicine, Diseases of The Dog and Cat, Third Edition*, W. B. Saunders Company, Philadelphia. Ed. S.J. Ettinger, 499–510, 1989 (1).
21. Tulkens, P. M.: Aminoglycoside Nephrotoxicity: Recent Insights and Perspectives. *Contr. Nephrol.* 1984; 42: 168–181.
22. Brown, S.A., Barsanti, J.A. and Crowell, W.A.: Gentamicin-associated acute renal failure in the dog. *JAVMA.* 1985; 186, 7: 686–690.
23. Frazier, D.L., Aucoin, D.P. and Riviere, E.: Gentamicin pharmacokinetics and nephrotoxicity in naturally acquired and experimentally induced disease in dogs. *JAVMA.* 1988; 192, 1: 57–63.
24. Jemigan, A.D., Hatch, R.C., Wilson, R.C., Brown, J. and Crowell, W.A.: Pathologic changes and tissue gentamicin concentrations after intravenous gentamicin administration in clinically normal and endotoxemic cats. *Am. J. Vet. Res.* 1988; 49, 5: 613–617.
25. Bennett, W.M.: Aminoglycoside Nephrotoxicity. *Nephron.* 1983; 35: 73–77.
26. Brown, S.A., Groves, C., Barsanti, J.A. and Finco, D.R.: Determination of excretion of inulin, creatinine, sodium sulfanilate, and phenolsulfoftalein to assess renal function in goats. *Am. J. Vet. Res.* 1990; 51, 4: 481–586.
27. Spangler, W.L., Adelman, R.D., Conzelman, Jr, G.M., and Ishizaki, G.: Gentamicin Nephrotoxicity in the dog: Sequential Light and Electron Microscopy. *Vet. Pathol.* 1980; 17: 206–217.
28. Garry, F., Chew, D.J. and Hoffsis, G.F.: Urinary indices of renal function in sheep with induced aminoglycoside nephrotoxicity. *Am. J. Vet. Res.* 1990; 51, 3: 420–427.
29. Bennett, W.M., McDougall, J., Potocnik, S., Wright, R.D. and Whitworth, J.A.: Renal handling and acute urinary electrolyte effects of aminoglycoside antibiotics: Use of a solitary renal autotransplant in the conscious sheep. *Life Sciences.* 1983; 32: 205–212.
30. Greco, D.S., Trunwald, G.H., Adams, R., Gossett, K.A., Kearney, M., Casey, H.: Urinary γ -glutamyl transpeptidase activity in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicity. *Am. J. Vet. Res.* 1985; 46, 11: 2332–2335.
31. Hinchcliff, K.W., McGuirk, S.M., McWilliams, P.S. and Cooley, A.S.: Phenolsulphatalein pharmacokinetics and renal morphologic changes in adult pony mares with induced nephrotoxicosis. *Am. J. Vet. Res.* 1989; 50, 11: 1848–1853.
32. Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F.: *Istatistik Metotları*. Ankara, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları. 1983 (No: 861).
33. Dibartola, S.P.: Renal Function Tests. In *Handbook of Veterinary Procedures and Emergency Treatment*. W.B.Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc., Philadelphia, 5th Edition, Ed. R.W. Kirk, S.I. Bistner, R.B. Ford, 789–793, 1989.
34. Finco, D.R.: Kidney Function. In *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press, Inc., San Diego. Ed. J.J. Kaneko, 4th Edition, 496–542, 1989.
35. Maddison, J.E., Pascoe, P.J. and Jansen, B.S.: Clinical evaluation of sodium sulfanilate clearance for the diagnosis of renal disease in dogs. *JAVMA.* 1984; 185, 9: 961–965.
36. Hardy, M.L., Hsu, R-C. and Sort, C.R.: The nephrotoxic potential of gentamicin in the cat: enzymuria and alterations in urine concentrating capability. *J. Vet. Pharmacol. Therapy.* 1985; 8: 382–392.
37. Berty, R.M. and Sheldon, A.: In vivo and in vitro rat model for cyclosporine-induced proximal tubular toxicity. *J. Lab. Clin. Med.* 1991; 17–25.
38. Schepper, J. De, Cock, I. De and Capiou, E.: Urinary γ -glutamyl transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. *Research in Veterinary Science.* 1989; 46: 396–400.
39. White, J.V., Olivier, N.B., Reimann, K. and Johnson, C.: Use of protein-to-creatinine ratio in a single urine specimen for quantitative estimation of canine proteinuria. *JAVMA.* 1984; 185, 8: 882–885.
40. Fettmann, M.S.: Comparison of urinary protein concentration and protein/creatinine ratio us routine microscopy in urinalysis of dogs: 500 cases (1987–1988). *JAVMA.* 1989; 195, 7: 972–976.
41. Lulich, J.P. and Osborne, C.A.: Interpretation of urine protein-creatinine ratios in dogs with glomerular and nonglomerular disorders. *Continuing Education Article.* 1990; 12, 1: 59–72.

42. Cojocel, C., Dociu, N., Maita, K., Sleight, S.D. and Hook, J.B.: Effects of aminoglycosides on glomerular permeability, tubular reabsorption, and intracellular catabolism of the cationic low-molecular-weight protein lysozyme. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1983; 68: 96-109.
43. Van Den Berg, J.S.: Die Aktiviteit van den gammaglutamiel transferase in skaap-urien. *Jl. S. Afr. Vet. Ass.* 1990; 61, 2: 46-49.