

TAVŞANLARDA TEKRARLANAN SEVOFLURAN UYGULAMALARININ RENAL TÜBÜLER ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Hülya BAŞAR, Ünase BÜYÜKKOÇAK, Çetin KAYMAK,
Şaziye ÖZCAN, Filiz TÜZÜNER

Kırkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı (HB, ÜB, ŞÖ), Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği (ÇK), Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı (FT)

ÖZET

Yeni inhalasyon ajanlarından birisi olan sevofluran, organik ve inorganik florür metabolitlerine metabolize olmaktadır. Açığa çıkan serbest florid iyonu, nefrotoksisiteden sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışmada; deneysel olarak tekrarlayan uygulamalarda farklı konsantrasyonlarda sevofluran kullanımının renal etkileri, önemli üriner indikatörlerden n-asetil-d- glukozaminidaz (NAG), alkalin fosfataz (ALP), ve gamma glutamil transferaz (GGT) atılımı incelenerek araştırıldı.

Çalışmada 14 adet Yeni Zellanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar rastgele 2 gruba ayrıldı (n=7). Grup I'deki tavşanlara % 1, Grup II'deki tavşanlara % 3 sevofluran, 4 Ldk¹ O₂+N₂O karışımı içinde 3 gün ardarda, 3 saat süreyle uygulandı. Her iki grubun 24 saatlik idrarları özel bir düzenek ile preoperatif dönemde ve her anestezi uygulamasından sonra toplandı. Son anesteziden 5 gün sonra 24 saatlik idrarları toplandı. İdrar örneklerinden NAG, ALP ve GGT çalışıldı. Ayrıca, preoperatif dönemde ve anestezi uygulamalarını takiben tavşanların kulak venlerinden kan örnekleri alınarak, kan üre azotu (BUN) ve kreatinin (Kr) çalışıldı.

Sonuçlarda, üriner NAG seviyesinde Grup II de 3. günde preoperatif değerlere göre belirgin artış, üriner GGT seviyesinde de, 2. ve 3. günlerde anlamlı artış izlendi. Her iki grupta da, BUN, kreatinin ve idrar ALP değerlerinde fark saptanmadı. NAG ve GGT düzeyleri 9. günde preoperatif değerlere döndü.

Sonuç olarak, tekrarlayan sevofluran uygulamalarının, renal sistem üzerinde oluşturduğu değişikliklerin geçici olduğu kanaatine varıldı.

ANAHTAR KELİMELELER: Sevofluran, renal toksisite, NAG

SUMMARY

THE EFFECTS OF REPEATED SEVOFLURANE ANESTHESIA ON RENAL TUBULAR ENZYMES IN RABBITS

Sevoflurane, one of new inhalation agents, is metabolized to organic and inorganic fluoride metabolites. Nephrotoxicity is due to free fluoride. In this study; we investigated the renal effects of repeated and different concentrations of sevoflurane anesthesia, experimentally. Sensitive urinary indicators n-asetil-d- glukozaminidaz (NAG), alkalin fosfatase (ALP), and gamma glutamil transferase (GGT) were assessed.

This study was performed in 14, male New Zeland rabbits. Rabbits were divided into two groups (n=7). Group I (n=7) received sevoflurane 1 % and Group II (n=7) 3 % sevoflurane with O₂+N₂O (4 Lmin⁻¹) 3 hours a day for 3 days Urine samples were collected via a special apparatus for 24 hours preoperative and after anesthesia. Urine samples were taken five days after the last administration of anesthesia and NAG, ALP and GGT levels in urine were determined. Blood samples taken from ear veins were obtained to determine BUN and Creatine .

In Group II, urinary NAG levels increased significantly on the third day and a significant increase in GGT was observed on second and third days. There was no significant change in BUN, Cre and urinary ALP. NAG and GGT levels returned to normal on the 9th day.

We concluded that, the effects of repeated sevoflurane administration on renal system are temporary.

KEY WORDS: Sevoflurane, renal toxicity, NAG

GİRİŞ

Inhalasyon anesteziikleri vücutta karaciğer ve böbrek üzerinden değişik derecelerde metabolize olmakta ve metabolizmaları sonucu ortaya çıkan metabolik ürünleri aracılığıyla da toksik etki gösterebilmektedirler (1,2).

Sevofluran alternatif bir inhalasyon anestezisi bulma konusundaki çalışmalar sonucu elde edilen bir halojenli metil-eterdir. Sevofluranın biyotransformasyonu sonucu

organik (hexafluoroisopropranolol-HFIP) ve inorganik florür metabolitlerine metabolize olduğu bilinmektedir (3). Ek olarak sodalaym veya baralaym ile direkt teması sonucunda açığa çıkan Bileşik A'nın toksik bir metabolit olduğu bilinmektedir (4). Altı florid atomundan oluşan Bileşik A, sevoflurana benzer şekilde sitokrom P450 ile deflorinize olmakta ve sonuçta serum florid se-

viyesinin artışına katkıda bulunmaktadır. Sağlıklı insanlarda plazma florür seviyesi, 1-3 μmolL^{-1} olarak tespit edilmiş ve serum flor düzeylerinin 50-80 μmolL^{-1} 'ye ulaştığı vakalarda subklinik flor toksisitesinin gözlemlendiği bildirilmiştir (5,6). Toksik florür düzeylerinin renal diyabetes insipidus benzeri tablo gelişiminde rol oynadığını ve histopatolojik olarak böbrekte proksimal tübüler şişme ve nekroz oluşturduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır (7).

Son 20 yılda renal toksisite bulgusu açısından, üriner sensitif enzimlerin idrarda artış gösterip göstermediklerinin tespiti özellikle non invaziv olması nedeniyle ve erken tanı için önemli göstergeler olarak tanımlanmıştır. Proksimal tübüler lezyonun biyokimyasal göstergeleri olarak, serum BUN ve kreatinin artışı, glukozüri, proteinüriye ek olarak, önemli üriner indikatörlerden N-asetil- β -glukozaminidaz (NAG), alanin amino peptidaz (AAP), glutamil transferaz (GGT), β_2 -mikroglobulin ve alkalen fosfataz (ALP), globulinler, albumin, transferrin, retinol bağlayıcı protein ve lizozim bulunmaktadır (8,9).

Bu çalışmada, tavşanlarda renal fonksiyon değişikliklerini saptamak amacıyla farklı konsantrasyonlarda, tekrar edilen sevofluran anestezisinin üriner enzimler üzerine etkisi araştırıldı.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışma hastane etik komite izni alındıktan sonra Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada Yeni Zellanda tipi, ortalama 1450-1950 gr ağırlığında, 14 adet erkek tavşan kullanıldı. Denekler rastgele 2 gruba ayrıldı. Grup I'deki deneklere (n=7) %1 sevofluran ile 4 Ldk⁻¹, O₂+N₂O (% 50- % 50) uygulandı. Grup II (n=7) deki deneklerde %3 konsantrasyonda sevofluran anestezisi + 4 Ldk⁻¹, O₂+N₂O (% 50- % 50), günde 3 saat olmak üzere 3 gün boyunca uygulandı. Anestezi uygulamasında Drager-Chirana marka anestezi makinası ve sevotec (temperature-compensate vaporizör) vaporizatör kullanıldı. Tavşanlardan preoperatif dönemde 24 saatlik idrarları toplandı ve kulak venlerinden kan örnekleri alındı. Daha sonra her anestezi uygulamasını takiben kan örnekleri alındı ve 24 saatlik idrarları toplandı. 3.gün sonrasında herhangi bir uygulama yapılmadan 5 gün boyunca gözlenen deneklerden 9. günde kan örnekleri ve 24 saatlik idrarları toplandı.

Toplanan idrar örneklerinden n-asetil-d-glukozamin (NAG), alkalen fosfataz (ALP) ve GGT ölçümleri, ticari kitler kullanılarak Olympus AU 800 otoanalizörde yapıldı. Kan örneklerinden ise BUN ve kreatinin ölçümü gerçekleştirildi. İdrardan elde edilen enzim sonuçları aşağıdaki formül kullanılarak standardize edildi:

Enzim değeri (UL⁻¹)/Kr (mg dL⁻¹)x0.0884:(U Mmol Kr⁻¹)

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Verilerin istatistiksel incelenmesinde, iki grubun karşılaştırılmasında tekrarlanan ölçümlerde Varyans Analizi ve Mann Whitney-U testi, grup içi karşılaştırmada Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. p<0.05, p< 0.001 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmada ağırlıkları 1450-1950 gr arasında olan erkek tavşanlar kullanıldı.

Çalışma süresince deneklerin kulak venlerinden alınan kan örneklerinden elde edilen BUN, Kr ve 24 saatlik idrar örneklerinden ölçülen üriner enzim değerleri Tablo I ve Tablo II de gösterilmiştir.

Grup içi ve gruplar arası karşılaştırmada, üriner ALP düzeyleri, serum BUN ve Kr düzeyleri arasında anlamlı bir değişiklik saptanmadı (Tablo I, II).

	ALP		GGT	
	Grup I	Grup II	Grup I	Grup II
Preoperatif	6.0 \pm 0.5	6.28 \pm 1.7	22 \pm 4.2	21.57 \pm 3.5
1. gün	6.8 \pm 1.3	7 \pm 3.74	22.5 \pm 3.8	22.66 \pm 10.57
2. gün	8.2 \pm 2.41	8.62 \pm 3.66	29.3 \pm 4.8	38.25 \pm 8.2*#
3. gün	7.6 \pm 3.0	10.14 \pm 5.55	30.5 \pm 5.1	37.5 \pm 26.63*#
9. gün	7.8 \pm 2.72	6.12 \pm 3.2	25 \pm 5.3	23.62 \pm 6.54

* p<0.05; Grup I ile karşılaştırıldığında.

p<0.05; Preoperatif değer ile karşılaştırıldığında.

	BUN		Kreatinin	
	Grup I	Grup II	Grup I	Grup II
Preoperatif	26 \pm 2.4	25 \pm 0.7	0.85 \pm 0.15	1 \pm 0.25
1. gün	28 \pm 2.4	29 \pm 1.2	0.9 \pm 0.2	1 \pm 0.24
2. gün	29 \pm 3.2	27 \pm 1.6	1.2 \pm 0.21	0.84 \pm 0.17
3. gün	28 \pm 1.5	25 \pm 1.9	1 \pm 0.22	0.9 \pm 0.24
9. gün	24 \pm 1.8	26 \pm 1.8	1 \pm 0.18	0.9 \pm 0.23

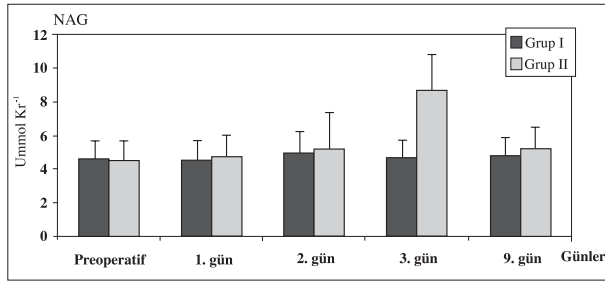
* p<0.05; Preoperatif değer ile karşılaştırıldığında

Grup I deki deneklerin GGT düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu. Grup II'deki GGT düzeylerinde ise 1. gün değerleri, kontrol değerlerinden farksız iken; 2. ve 3. gün değerlerinde, kontrol değerlerine göre anlamlı artış tespit edildi (p: 0.001) (Tablo I). İki grup karşılaştırıldığında GGT değerlerinde, grup II de 2. ve 3. günlerde artış I. Gruba göre anşamlı bulundu (p<0.01).

Grup içi karşılaştırmada, Grup I deki deneklerin NAG düzeylerinde yine anlamlı bir fark yoktu. Grup II'deki deneklerin üriner NAG düzeyleri incelendiğinde,

1.ve 2. günler ile kontrol değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken; 3. günde, kontrol değerine göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi (p:0.007) (Şekil 1). Gruplar arası karşılaştırmada, Grup II de 3. günde NAG değerlerinde bir artış izlenmesine karşın, bu artış istatistiksel olarak farklı bulunmadı (p: 0.068).

Tüm gruplarda 5 gün anestezi almadan bekletilen tavşanların 9. gün NAG ve GGT düzeylerinde düşme saptandı ve kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında fark bulunmadı (Tablo I, Şekil 1).



Şekil 1: Olguların üriner NAG değerleri

TARTIŞMA

N-asetil-d- glukozaminidaz (NAG), proksimal renal tübüler orjinli lizozomal bir enzim olup , proksimal renal tübüler hücre hasarından sonra lümene salınır ve hasarın bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (9). Üriner NAG atılımının cerrahi stres ile orantılı olduğu, minör cerrahilerde en fazla üst limitin 2 katı kadar arttığı bilinmektedir (10). Bununla birlikte üriner NAG ölçümü, ilaçla indüklenmiş nefrotoksitelerde, ağır metal maruziyetine bağlı renal bozukluklarında ve renal transplant sonrası greft takibinde kullanılmaktadır (11,12).

Fukiura ve ark.'ları (13) uzun süreli cerrahi geçiren hastalar (ortalama 9.6 saat 1 MAC sevofluran ve 7.6 saat 1 MAC enfluran anestezisi) üzerinde yaptıkları çalışmalarında, renal hasarın belirleyicisi olarak renal tübüler enzimlerin üriner atılımını ölçülmüştür. Bu çalışmada anestezi sonrasındaki 7 gün boyunca NAG ve ALP atılımı ölçülmüş ve her iki anestezide de serum pik florür konsantrasyonlarının belirgin bir farklılık göstermesine rağmen, enfluran grubunda her iki enziminde atılımında artış olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın sevofluran anestezisinde, her iki enzim atılımının değişmemiş olması sevofluranın daha az renal tübüler hasar oluşturmasına bağlanmıştır. Benzer bir çalışmada da, sevofluran anestezisi sonrası pik flor konsantrasyonları 50 μmolL^{-1} üstü ve altı olmak üzere iki gruba ayrılmış ve her iki sevofluran grubunda da üriner NAG atılımı anestezi sonrası 2. ve 3. günlerde, anestezi öncesine göre yüksek bulunmuş ve artışın serum florür konsantrasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (5).

Bizim çalışmamızda üriner NAG konsantrasyonu, %1 sevofluran alan Grup I'deki deneklerde 3 gün boyunca değişiklik göstermezken; % 3 sevofluran uygulanan deneklerde 3. günde, kontrol değerine göre anlamlı bir artış göstermiştir. Ancak 5 gün anestezi almadan gözlenen deneklerin NAG değerlerinin kontrol değerlerine döndüğü izlendi.

Keller ve ark.'ları (14) bileşik A aracılıklı nefrotoksititeyi sıçanlarda reversibl olarak tanımlamışlardır. Üriner analizde NAG ve biyokimyasal analizde BUN, Kr artışlarının anestezi 14 gün sonra normal seviyelere indiğini rapor etmişlerdir. Bileşik A' nın renal tübüler hasar oluşturabilmesi için ratlarda 25-50 ppm düzeyinde olması gerekmektedir (15). 9.5 saat 1MAC uygulamalarda yarı kapalı sistemde, 5Ldk⁻¹ akım hızında bu değer 7.6 \pm 1.0 ppm olduğu bildirilmektedir (16). Bizim çalışmamızda Bileşik A ölçülememesine karşın, uygulama süremizin daha kısa ve konsantrasyonun düşük olması nedeniyle, bu düzeye erişmediğini düşünmekteyiz.

GGT ve ALP tüm vücut dokularında özellikle renal dokuda yüksek seviyelerde bulunan enzimlerdir. Bu enzimlerin üriner atılımı, renal proksimal hasarın erken değerlendirilmesinde önemlidir (17,18). Üriner GGT ve ALP aktiviteleri daha çok ilaçların (aminoglikozit antibiyotikler gibi) toksik etkilerinin araştırılması amacıyla deneysel olarak çalışılmıştır (19). Renal yetmezliği olan hastalarda yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada, izofluran ve sevofluran karşılaştırılarak, idrar NAG ve GGT atımlarının her iki ajan ile de arttığı ve bu artışların birbirinden farklı olmadığı bildirilmiştir (20). Frink ve ark'ları (16) uzamış sevofluran anestezisi uyguladıkları gönüllülerde (1-1.2 MAC ve 9 saat sevofluran uygulaması), üriner NAG atılımı ve renal konsantrasyonu incelemişlerdir. Hastaların hiçbirinde renal konsantrasyon defekti tespit edilmemiş ve anestezi sonrası 1.,2. ve 5. günlerde üriner NAG atılımı ve üriner kreatinin normal sınırlarda kaldığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada serum kreatinin, BUN, sodyum, serum ozmolarite ve kreatinin klirensi değişmemiştir.

Sevofluran sonrası renal fonksiyonların incelendiği çalışmaların çoğunda sevofluran uzun süreli (9-13.5-15 saat, 1 MAC) kullanılmıştır. Bu çalışmalarda renal konsantrasyon fonksiyonlarının, BUN, Kr değerlerinin ve NAG Kr⁻¹ oranlarının herhangi bir nefrotoksititeyi göstermediği bildirilmiştir (16,21,22) . Ancak Higuchi ve ark.'ları (5) tarafından yapılan bir çalışmada, 5 saat 1MAC sevofluran uygulaması sonrasında üriner NAG atılımının geçici olarak artış gösterdiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da, uzun süreli değil ancak tekrarlanan uygulamalar sonrası üriner NAG ve GGT atılımında geçici artışla birlikte 5 gün sonra kontrol değerlerine gerilediğini gözlemledik.

Uzamış sevofluran anestezisinin (13.5 saat) uygulandığı Kobayashi ve ark.'larının (22) çalışmasında, florür iyonunun sevofluran anestezisi altında 58 saatlik bir eliminasyon yarı ömrü tespit edildiği ve hastaların yarısının inorganik florür düzeylerinin de 50 µmol/L'nin üzerinde olduğu vurgulanmıştır. Ancak BUN ve kreatinin ölçümleriyle ortaya konan renal hasara rastlanmadığı tespit edilmiştir. Bir diğer çalışmada uzamış sevofluran anestezisi altında da (5 saat) serum kreatinin değerlerinde anlamlı değişiklikler gözlenmemiştir (23). Biz de çalışmamızda, serum BUN ve Kr düzeyleri arasında anlamlı bir değişiklik saptamadık.

Sevofluranın metabolizması sonucu toksik seviyelere ulaşabildiği bilinen flor iyonu, konsantrasyona bağlı olarak böbrekte önemli etkiler oluşturmaya rağmen sevofluran anestezisine bağlı flor toksisitesi bildirilmemiştir. Çalışmamızda deneysel olarak iki farklı konsantrasyonda tekrarlanan sevoflurana maruz bırakılan tavşanlarda renal üriner hasarın önemli belirleyicisi olan enzimlerde görülen artışın, yüksek konsantrasyon uygulanmasında izlendiği, bu artışın günler içerisinde gerileyerek ve normal düzeye döndüğü tespit edilmiş olup, tekrarlanan sevofluran uygulamalarında renal etkilenmenin geçici olduğu kanısına varılmıştır.

Yazışma Adresi: Doç. Dr. Hülya BAŞAR

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon
Anabilim Dalı- KIRIKKALE
Tel İş: 0318-2252485/263
Ev: 4681021
E-posta: gozde@ada.net.tr

KAYNAKLAR

1. Kenna JG, Jones RM. The organ toxicity of inhaled anesthetics. *Anesth Analg*. 1995; 81:51-66.
2. Brown BJ. Sevoflurane introduction and overview. *Anesth Analg* 1995;81:1-3.
3. Kharasch ED. Biotransformation of sevoflurane. *Anesth Analg* 1995;81:27-38.
4. Kandel L, Laster MJ, Eger EII, Kerschmann RI, Martin J: Nephrotoxicity in Rats Undergoing A One Hour Exposure to Compound A. *Anesth Analg* 1995; 81(3): 559-63.
5. Higuchi H, Sumikura S, Sumita S. Renal function in patients with high serum fluoride concentrations after prolonged sevoflurane anesthesia. *Anesthesiology* 1995;83:149-58.
6. Mazze RI. Fluorinated anaesthetic nephrotoxicity and update. *Can Anesth Soc J*. 1984;31:16-22.
7. Kharasch ED, Hankins DC, Thummel KE. Human kidney methoxyflurane and sevoflurane metabolism intrarenal fluoride production as a possible mechanism of methoxyflurane nephrotoxicity. *Anesthesiology*, 1995;82:689-99.
8. Bernard A, Lauwerys R. Proteinuria: Changes and mechanisms in toxic nephropathies. *Toxicology*. 1991; 21(5): 373-405.
9. Wellwood JM, Ellis BG, Price RG, Hammond K. Urinary N-acetyl-D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. *Br Med J* 1975;3:408-11.
10. Price REG. Urinary enzymes, nephrotoxicity and renal disease. *Toxicology* 1982; 23:99-134.
11. Burbure C, Buchet JP, Bernard A et al. Biomarkers of renal effects in children and adults with low environmental to heavy metals (abstract). *J Toxicol Environ Health A* 2003; 66(9): 783-98.
12. Matteucci E, Carmellini M, Berttoni C, Boldrini E, Mosca F, Giampietro O. Urinary excretion rates of multiple renal indicators after kidney transplantation: clinical significance for early graft outcome. *Ren Fail* 1998; 20(2): 325-30.
13. Fukiura K, Ikeda K. Effects of prolonged sevoflurane anesthesia on the renal tubule: Comparison with enflurane. *Anesthesiology* 1992;77: A 386.
14. Keller KA, Callan C, Prokocimer P et al. Inhalation toxicity study of a haloalkene degradation of sevoflurane . Compound A (PIFE), in Sprague-Dawley rats. *Anesthesiology* 1995; 83; 1220-32.
15. Higuchi H, Sumita S, Wada H et al. Effects of sevoflurane and isoflurane on renal function and on possible markers of nephrotoxicity. *Anesthesiology* 1998; 89:307-22.
16. Frink EJ, Malan TP, Isner J. Renal concentrating function with prolonged sevoflurane and enflurane anesthesia in volunteers. *Anesthesiology* 1994;80:1019-25.
17. Donadio C, Tramonti G, Lucchesi A, Giordani R, Bianchi C. Gamma-Glutamyltransferase is a reliable marker for tubular effects of contrast media. *Ren Fail* 1998; 20(2): 319-24.
18. Clemo FA. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in dog. *Toxicol Pathol* 1998;26(1): 29-32.
19. Kocaoğlu S, Karan A, Berkan T, Başdemir G. Acute acetaminophen nephrotoxicity and urinary gamma-glutamyltransferase activity in rats. *Drug Metabol Drug Interact (abstract)*1997; 14(1):47-54.
20. Tsukamoto N, Hirabayashi Y, Shimizu R, Mitsuhato H. The effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia on renal tubular function in patients with moderately impaired renal function. *Anesth Analg* 1996; 82(5): 909-13.
21. Kazama T, Ikeda K. The effect of prolonged administration of sevoflurane on serum concentration of fluoride ion in patients. *Anesthesiology* 1991;75:53-6.
22. Kobayashi Y, Ochiai R, Takeda J, Sekiguchi H, Fukushima K. Serum and urinary fluoride concentrations after prolonged inhalation of sevoflurane in humans. *Anesth Analg* 1992; 74: 753-7.
23. Mazze RI, Callan CM, Galvez ST, et al. The effects of sevoflurane on serum creatinin and blood urea nitrogen concentrations: retrospective, twenty-two center, comparative evaluation of renal function in adult surgical patients. *Anesth Analg* 2000;90:683-8.