

Deneyssel Glomerülonefritis*

Dr. Melda Çağlar**

Değişik yöntemler uygulayarak, deneyssel düzeyde glomerülonefritis meydana getirmek mümkün olmaktadır.⁹ Böylece saptanan bulgular, deneyssel olarak oluşturulan glomerülonefrit ile insanlarda görülen glomerülonefrit arasında büyük bir benzerlik olduğu gerçeğini ortaya çıkarmıştır. Hastalığın daha iyi tanınması, böbrekte meydana gelen fonksiyonel ve yapısal değişikliklerin aydınlığa çıkmasında, deneyssel düzeydeki uğraşların büyük katkısı olmuştur.

Araştırmacılar deneyssel glomerülonefriti meydana getirmek için iki yol izlemişlerdir. Bunlardan birincisinde antikidney-antibadiler kullanılarak nefrotoksik nefritis oluşturulmuş, ikincisinde sirkülasyondaki solübl antijen-antibadi kompleksleri kullanılmıştır. Son zamanlarda, homolog ve heterolog böbrek antijenleri kullanılarak bir üçüncü türde deneyssel glomerülonefrit meydana getirilmiş ve buna Heymann nefritisi adı verilmiştir.

Nefrotoksik Nefritis

Tarihsel gelişim bakımından, deneyssel düzeyde oluşturulan ilk glomerülonefrit nefrotoksik nefrit olmuştur. 1900 senesinde Lindeman, tavşan böbreği ekstresi vererek domuzlardan elde ettiği antiserumu, tavşana enjekte ederek üremi oluşturmuştur.⁹ Geniş kapsamlı benzer çalışmalar, 1929 yılında Masugi tarafından başlatılmış, nitekim daha sonraki yıllarda nefrotoksik nefrit, Masugi nefriti adı ile anılmaya başlanmıştır.^{10,11,12} Masugi nefritindeki histolojik görüntü, hücresel proliferasyon, yarım ay görünümüleri ile insandaki progresif glomerülonefrite benziyordu.⁷ Çalışmalar sonunda, böbreğe karşı oluşan antibadilerin glomerülde çöktüğü ve yerel olarak hasar meydana getirdiği saptandı. Dixon'un ileri düzeydeki çalışmaları ile glomerüler hasarın, birbirinden ayrı iki farklı safhada meydana geldiği anlaşılmıştır.¹⁴ Heterolog faz adı verilen devrede, glomerüler antijenler, antiglomerüler bazal memb-

* Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatri Bölümü çalışmalarından

** Aynı Fakülte Pediatri Öğretim Üyesi ve Patolog.

ran antibadileri ile direkt reaksiyona girer. Otolog fazda ise alıcı glomerülünde depolanan heterolog gamma globülinlere karşı alıcıda 5-7 gün sonra oluşan antibadilerle reaksiyona girmesi sonucu hasar meydana gelmektedir. Böylece glomerülde meydana gelen hasarın, alınan nefrotoksik serumun miktarı ve mevcut antibadinin glomerülde çöken miktarı ile yakından ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Bu tür uygulama ile Ortega ve Mellor¹⁴, Hammer ve Dixon⁵ immunofluoresan teknikle sıçan glomerülünde 5-9 gün sonra gamma globülin presipitasyonu olduğunu göstermişlerdir.

İmmün Kompleks Glomerülonefriti:

Nefrotoksik nefritte, antiglomerüler bazal membran antibadilerinin etkinliği glomerüler hasarla yakından ilişkilidir. İmmün kompleks türdeki hastalıkta, sirkülasyonda bulunan antijen-antibadi kompleksinin glomerülde meydana getirdiği immün hasar söz konusudur. Antiglomerüler bazal membran hastalığı meydana getirmek için verilen antijenler glomerül yolu ile atılırlar. İdrardan ekstrakte edilerek verilen antijenle otoimmün hastalık oluşturmak mümkün olmaktadır.⁵ Deneysel düzeydeki bu sonuç, tüm vücuddaki bazal membranların metabolizması sonucu yıkım ürünlerinin sirkülasyona girdiği ve idrarla atıldığı gerçeğine kuvvet kazandırmaktadır. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda bu tür antijenlerin bir kısmının böbrek dışından menşelendiğini göstermiştir.¹⁶ Nitekim daha sonraki yıllarda serumun transferi ile nefritin oluşturulabileceği gösterilmiş ve buna Heyman nefriti adı verilmiştir.⁶ Ancak bu çalışmaların tümü deney hayvanları üzerinde uygulanmıştır. Biz bu çalışmamızda, insanda kompleman seviyesinin düşük olarak seyrettiği akut glomerülonefrit döneminde, serumunun sıçanda glomerüler hasar meydana getirip getirmediğine baktık.

Materyel ve Metod

Çalışmada 70 adet, 200-250 gm. ağırlığında 4-6 aylık, Hacettepe tipi beyaz sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 6 grupta toplandı.

1. Grupta 15 sıçan vardı. Bunlara 3 hafta süre ile hergün intravenöz (İ. V.) 1 cc. akut glomerülonefritli hasta kanı verildi.
2. Grupta 15 sıçan vardı. Bunlara aynı süre içinde kan intraperitoneal (İ. P.) yolla verildi.
3. Grupta 10 sıçan vardı. Bunlara aynı süre içinde, hergün 1 cc. normal insan kanı İ. V. yolla verildi.
4. Gruptaki 10 sıçana 3. gruptaki kan örneği İ. P. yolla verildi.

5. Gruptaki 10 sıçana 3 hafta süre ile İ. V. yolla 1 cc. serum fizyolojik verildi.

6. Grubu oluşturan 10 sıçana serum fizyolojik İ. P. yolla verildi.

2. ve 3. haftaların sonunda idrar değerlendirilmeleri yapılarak 4. haftada sıçanlar öldürüldü. Her gruptaki sıçanların böbreklerinin makroskopik incelemeleri yapıldıktan sonra ayrı ayrı % 10 luk formalin içinde 24 saat süre ile tesbit edildi. Sonra oto-teknikondan geçirilerek parafin içine yerleştirildi. Her bir bloktan 4-6 µ kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin-Eosin (H+E) ve PAS (periodic asit-schift) ile boyandı. Bu şekilde hazırlanan doku örnekleri incelendi.

Bulgular

İntravenöz hasta kanı enjekte edilen sıçanların 2. ve 3. hafta sonunda yapılan idrar muayenelerinde Tablo I de görüldüğü gibi belirli proteinüri saptandı. Böbrek ağırlıkları Tablo I de görüldüğü gibi kontrol grubuna nisbetle biraz ağır bulundu. (0.750 gr. ile 1.100 gr. arasında) Hacimcede kontrol gruptan büyüktü.

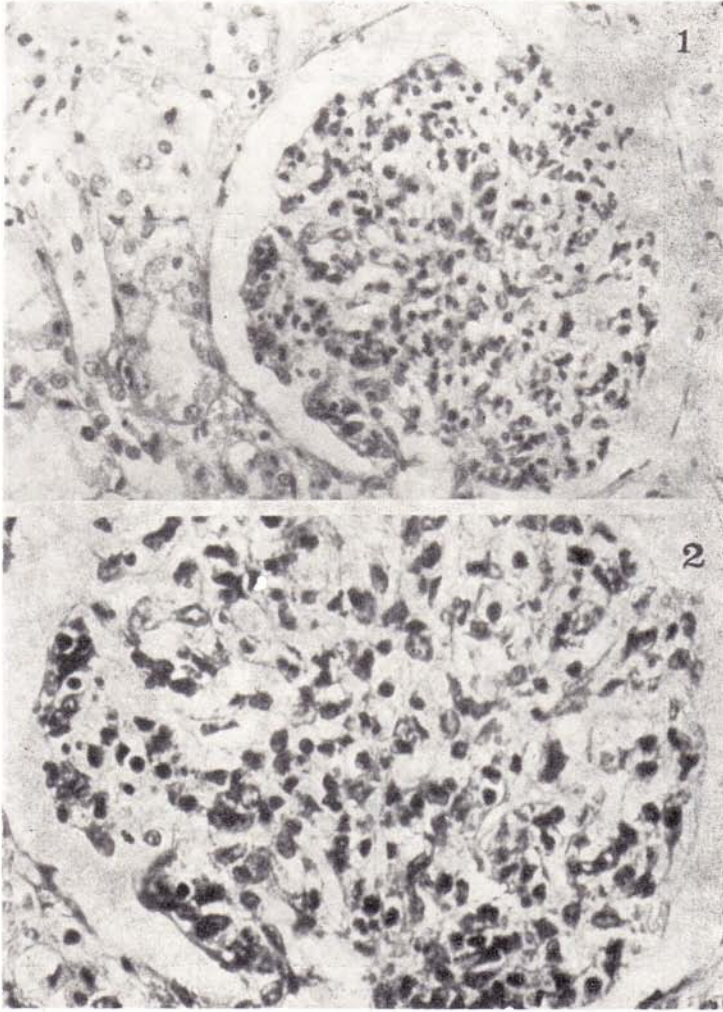
Böbreklerin dış yüzü ödemli ve şiş görünümde idi. Belirli peteşi görülmedi. Kapsül kolay soyuluyordu. Kesit yüzünde korteks-medulla hududu belirgindi. H-E ile boyanan kesitlerin mikroskopik muayenesinde glomerüllerin kapiller endotel hücrelerinde belirgin proliferasyon vardı. Bu proliferasyon bazı kapiller lümeni oblitere etmekteydi. Ayrıca glomerül içinde lökosit akümülasyonu çok sayıda idi. (Şekil 1 ve 2) Bazal membranda PAS boyası ve H-E ile herhangi bir kalınlaşma saptanmadı.

İntraperitoneal yolla hasta kanı enjekte edilen 15 sıçanın 2. ve 3. hafta sonunda yapılan idrar muayenelerinde proteinüri görüldü. Böbreklerinin ağırlıkları Tablo I de görüldüğü gibi 0.750 gr. ile 1.000 gr. arasında ölçüldü. Böbreklerin dış yüzü parlak ve düzgün, kırmızı-kahverenkli idi. Kapsül kolay soyuluyordu. Kesit yüzünde korteks medulla hududu belirgindi. H-E ile boyanan kesitlerin ışık mikroskobunda incelenmesinde glomerüler kapiller endotel hücrelerinde az sayıda proliferasyon ve lökosit akümülasyonu saptandı. (Şekil 3)

İntravenöz ve İntraperitoneal normal insan kanı enjekte edilen sıçanların 2. ve 3. hafta sonunda yapılan idrar muayenelerinde Tablo II de görüldüğü gibi bir kısmında minimal proteinüri saptandı. Bu sıçanların böbrek ağırlıkları yine Tablo II de özetlendiği gibi 0.600 gr. ile 0.750 gr. arasında tespit edildi. Böbreklerin dış yüzleri kırmızı-kahverenkli idi. Kapsül kolay soyuluyordu. Kesit yüzlerinde korteks-medulla hududu belirgindi. H-E ile boyanan kesitlerin mikroskobik muayenesin-

TABLO I
İntravenöz ve İntraperitoneal Hasta Kanı Enjekte Edilen Sıçanların İdrar Proteinleri ve Böbrek Ağırlıkları

İ. V. Hasta kanı verilen grup Sıçan No:	Proteinüri		Böbrek Ağır.	İ. P. Hasta kanı verilen grup Sıçan No:	Proteinüri		Böbrek Ağır.
	II. Hafta	III. Hafta			II. Hafta	III. Hafta	
1	E	++	0,850	1	E	E	0,770
2	+	+	0,760	2	-	+	0,750
3	+	++	0,900	3	E	+	0,800
4	E	E	0,750	4	+	E	0,950
5	+	++	0,950	5	-	-	0,850
6	++	++	0,870	6	E	E	0,750
7	+	+	0,850	7	-	E	0,800
8	E	+	0,750	8	+	+	0,930
9	+	+	1,000	9	+	++	0,900
10	-	++	1,050	10	E	++	1,000
11	+	++	0,800	11	+	+	0,750
12	E	+	0,950	12	-	++	0,900
13	E	++	1,100	13	E	-	0,750
14	+	+	0,790	14	+	+	0,800
15	+	+	0,950	15	+	++	0,900



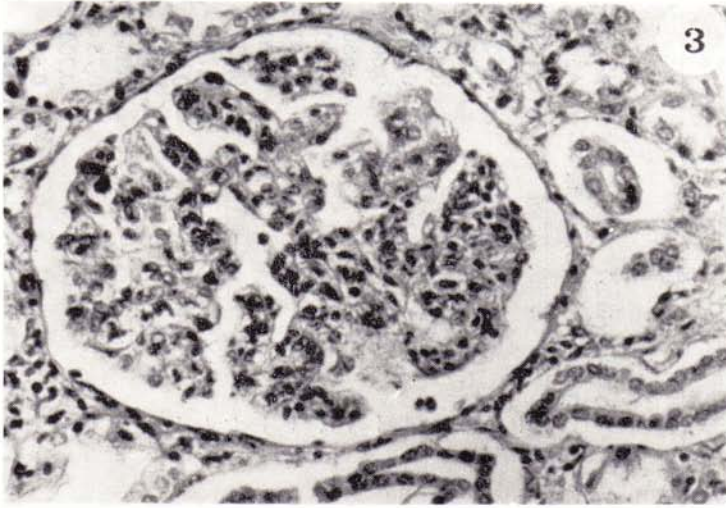
Şekil 1

İntravenöz hasta kanı enjekte edilen sıçan grubunda görülen belirgin endotel proliferasyonu ve lökosit akümü-lasyonu

Şekil 2

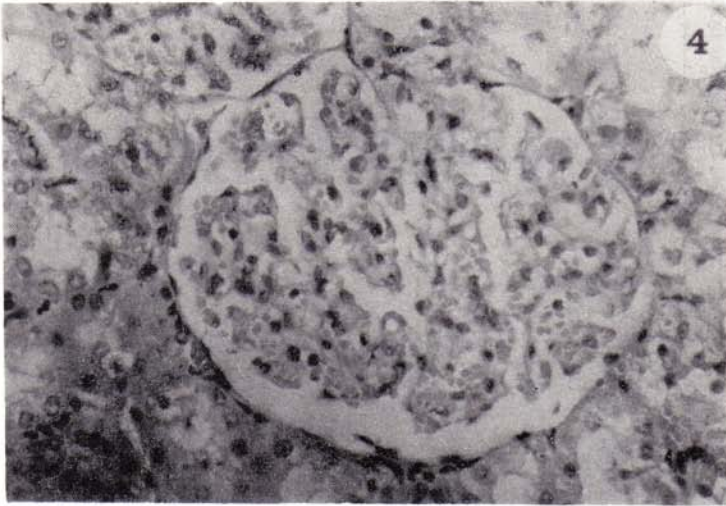
Şekil 1'deki glomerülün daha yakından görünüşü

de glomerüller, 8 ve 10 numaralı sıçanın dışında, doğal görünümde idi. 8 ve 10 numaralı sıçanların glomerüler kapiller endotel hücrelerinde minimal proliferasyon vardı. Bu proliferasyon kapiller lümenleri oblitere edecek nitelikte değildi. Ayrıca glomerül içinde az sayıda lökosit akümü-lasyonu görüldü. Bununla ilgili görünüm Şekil 4 de gösterilmiştir.



Şekil 3

İntraperitoneal hasta kanı enjekte edilen sıçanlardan birine ait glomerül. Endotelial proliferasyon ve lökosit akümülayonu



Şekil 4

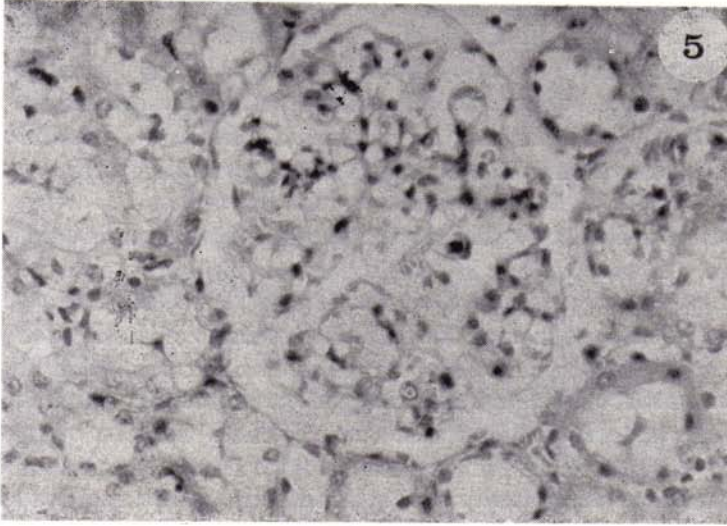
İntravenöz normal insan kanı enjekte edilen 10 numaralı sıçanın glomerüllerinden bir örnek

İntravenöz ve intraperitoneal serum fizyolojik enjekte edilen sıçanların 2. ve 3. hafta sonunda yapılan idrar muayenelerinde Tablo II de görüldüğü gibi proteinüri tespit edilmedi. Bu sıçanların böbreklerinin ağırlıkları yine Tablo II de görüldüğü gibi 0.600-0.750 gr. arasında bulun-

TABLO II
İntravenöz ve İntraperitoneal Normal İnsan Kanı ve Serum Fizyolojik Enjekte Edilen Sıçanların İdrar Proteinleri ve Böbrek Ağırlıkları

I. V. ve I. P. Normal İnsan kanı. Sıçan No:	Proteinüri		Böbrek Ağr.	I. V. ve I. P. Serum Fiz. Sıçan No.		Proteinüri		Böbrek Ağr.
	II. Hafta	III. Hafta				II. Hafta	III. Hafta	
1 (I.V.)	—	—	0,600	1 (I.V.)	—	—	—	0,700
2 "	E	E	0,650	2 "	—	—	—	0,750
3 "	—	—	0,600	3 "	—	—	—	0,600
4 "	—	—	0,700	4 "	—	—	—	0,650
5 "	—	—	0,750	5 "	—	—	—	0,650
6 "	—	E	0,700	6 "	—	—	—	0,600
7 "	—	—	0,650	7 "	—	—	—	0,650
8 "	—	E	0,750	8 "	—	—	—	0,750
9 "	—	—	0,600	9 "	—	—	—	0,700
10 "	E	+	0,700	10 "	—	—	—	0,600
1 (I. P.)	—	—	0,700	1 (I. P.)	—	—	—	0,650
2 "	—	—	0,650	2 "	—	—	—	0,700
3 "	—	—	0,650	3 "	—	—	—	0,650
4 "	—	E	0,600	4 "	—	—	—	0,600
5 "	—	—	0,700	5 "	—	—	—	0,650
6 "	—	—	0,750	6 "	—	—	—	0,75
7 "	—	—	0,650	7 "	—	—	—	0,700
8 "	—	—	0,650	8 "	—	—	—	0,600
9 "	—	E	0,700	9 "	—	—	—	0,650
10 "	—	—	0,700	10 "	—	—	—	0,650

du. Böbreklerin dış yüzleri parlak ve kırmızı-kahverenkli idi. Kapsül kolay soyuluyordu. Kesit yüzünde korteks-medülla hududu belirgindi. H-E ile boyanan kesitlerin mikroskopik muayenelerinde glomerüller (Şekil 5) doğal görünümde idi.



Şekil 5

Serum fizyolojik enjekte edilen bir sıçanın normal glomerülü

Tartışma

Deneyssel olarak oluşturulan glomerülonefrit ile böbreğin yapısal ve fonksiyonel değişiklikleri hakkında önemli bilgiler sağlanmıştır. Böylece glomerülonefritlerin meydana gelmesinde immünolojik olayları ve böbrekteki anatomik değişiklikleri günümüzde daha iyi değerlendirmekteyiz.

Deneyssel glomerülonefritin ilki nefrotoksik yöntemle gerçekleştirilmiş,^{9,10,11} daha sonraki yıllarda hastalığın pasif olarak homolog ve heterolog serum nakli ile mümkün olduğuna dair bazı düşünceler belirmiştir.^{2,8,15} Nitekim Dixon, Lernuc, Heyman bu düşüncede çığır açan çalışmalar yapmışlardır.^{2,6,8,15} Germuth⁴, Benacerraf¹ protein ve solübl antijen-antibadi infüzyonu ile akut ve kronik türde glomerülonefrit oluşturmuşlardır.

Literatürün gözden geçirilmesinde, araştırmacıların bu tür çalışmalarını genellikle değişik ya da aynı türdeki hayvanlar arasında uyguladıkları dikkati çekmektedir. Bugüne deyin yapılan çalışmalarda akut post streptokoksik glomerülonefritlerin patogenezinde hasta serumlarında

dolaşan bazı antikor veya antikor-antijen komplekslerinin rolüne değinilmiştir. Bu nedenle biz de bu çalışmamızda akut post streptokoksik glomerülo nefritli hasta kanlarını bir grup sıçana verip sıçan böbreğinde yapacağı değişiklikleri değerlendirmek ve böylece akut post streptokoksik glomerulonefritli hastadan alınan kanın böbrek harabiyetindeki yerini saptamak istedik. Hasta insan kanının intrapertioneal ve intravenöz yolla sıçana verilmesi ile ortaya çıkan laboratuvar değişiklikler Tablo I de gösterilmiştir. Şekil 1 ve 2 de bunlarda meydana gelen böbrek değişikliklerinin ışık mikroskobundaki değerlendirilmesi görülmektedir. Bu verilerde de görüldüğü gibi deney hayvanlarının tümünde glomerülo nefritle uyumlu hem anatomik hemde laboratuvar bozukluklar ortaya çıkmıştır. İntravenöz yol uygulananlarda hasar daha belirgin olarak ortaya çıkmıştır. Uzun süreli infüzyon dikkate alındığında, değişikliklerin serum hastalığından çok immünolojik kökenli olduğunu düşündürmektedir. Normal insan kanı verilen 20 sıçana ait veriler Tablo II ve Şekil 4 de gösterilmiştir. Bu gruptaki sonuçların değerlendirilmesinde dikkati çeken özellik, çok az sayıdaki sıçanda laboratuvar değişikliklerinin ortaya çıktığı, bununla uyumlu olarak dokuların mikroskobik incelenmesinde minimal düzeyde kapiller endotel proliferasyonu ve parçalı infiltrasyonu olduğu görülmüştür. Böylece hasta kanı verilen grupla normal insan kanı verilen grup arasında laboratuvar ve mikroskopik incelenme bakımından önemli derecede fark olduğu görülmüştür.

Serum fizyolojik verilerek yapılan son grup çalışma sonuçları Tablo II ve Şekil 5 de gösterilmiştir. Sonuçlar ve resimden görüleceği gibi bu grupta herhangi bir özellik saptanmamıştır. Normal insan kanı verilen grupta elde edilen değişiklikler literatüre benzemektedir.^{3,13} Ancak bazı araştırmacılar bu yöntemle daha ağır hasar oluşturabilmişlerdir. Fark muhtemelen bu müelliflerin daha fazla miktarda protein vermeleri ya da pürifiye ederek vermelerine bağlıdır.

Çalışmamızın en önemli sonucu, hasta kanı verilen sıçanlarda, normal kan verilen gruba oranla gözlenen anatomo-patolojik değişikliklerin daha belirgin olmasıdır. Kanımızca bu ayrıcalık hasta insan kanında muhtemelen dolaşan antijen-antibadi kompleksinin pasif olarak sıçana verilmesi ile sıçanda kompleman aktivasyonunu sağlayıp böbrekteki hasarın oluşturulması ile ilişkilidir. Bununla beraber immün kompleksin glomerüllerde yerleşmesi veya antijenik etki göstererek harabiyeti geliştirmesinin kanıtlanması için bu konunun daha fazla çalışılması gerekmektedir.

Özet

Çalışmada deney hayvanlarına akut glomerulonefrit (AGN)'li hasta kanı verilmek sureti ile deneysel düzeyde AGN oluşturularak literatür çalışmaları ile karşılaştırılması yapıldı.

Summary

Glomerulonephritis was produced in experimental animals by injection of sera from patients with acute glomerulonephritis (AGN). The results are discussed and the relevant literature is reviewed.

KAYNAKLAR

1. Benacerraf, B., Patter, J. L., Mc Cluskey, R. T., Miller, F.: The pathologic effects of intravenously administered soluble antigen antibody complexes. II. Acute glomerulonephritis in rats. *J. Exp. Med.* **111**: 195, 1960.
2. Dixon, F. J.: The pathogenesis of Glomerulonephritis. *The American Journal of Medicine* **44**: 493, 1968.
3. Feldman, J. D.: Electron microscopy of serum sickness nephritis, *J. Exp. Med.* **108**: 957, 1958.
4. Germuth, F. G., Mc Kinnon, G. E.: Studies, on the biological properties of antigen-antibody complexes. I. Anaphylactic shock induced by soluble antigen-antibody complexes in unsensitized normal guinea pigs. *Bull John Hopkins Hosp.*, **101**: 13, 1937.
5. Hammer, D. K., Dixon, F. J.: Experimental glomerulonephritis. II. Immunologic events in the pathogenesis of nephrotoxic serum nephritis in the rat. *Journal of Experimental Medicine* **117**, 1019, 1963.
6. Heyman, W., Hackel, D. B., Harwood, S., Wilson, S. F. G., Hunter, J. L. P.: Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's adjuvants and rat kidney suspensions. *Proc Soc Exp. Biol Med.* **100**: 660, 1959.
7. Kay, C. F.: Mechanism by which experimental nephritis is produced in rabbits injected with nephrotoxic duck serum. *Journal of Experimental Medicine* **72**: 559, 1940.
8. Lerner, R. A., Dixon, F. J.: Transfer of ovine experimental allergic glomerulonephritis (AEG) with serum. *J. Exper. Med.*, **124**: 431, 1966.
9. Lindemann W.: Sur le mode d'action de certains poisons rénaux. *Annales de L'Institut Pasteur*, **14**: 49, 1900.
10. Masugi, M.: Über die spezifisch zytotoxische Wirkung der Antinieren und Leberserums sowie über die sog. Umgekehrte Anaphylaxie. *Transactions of the Japanese Pathological Society.* **19**: 132, 1929.
11. Masugi, M.: Über das Wesen der spezifischen Veränderungen der Niere und der Leber durch das Nephrotoxin bzw. das Hepatotoxin. Zugleich ein Beitrag zur Pathogenese der glomerulonephritis und der eklamptischen Lebererkrankung. *Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie* **91**: 82, 1933.
12. Masugi, M.: Über die experimentelle Glomerulonephritis durch das spezifische Antinieren serum. Ein Beitrag zur Pathogenese der diffusen glomerulonephritis. *Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie*, **92**: 429, 1934.
13. Mc Lean, C. R., Fitzgerald, J. D. L., Younghusband, O. Z., Hamilton, J. D.: Diffuse glomerulonephritis induced in rabbits by small intravenous injections of horse serum. *Arch. Path.* **51**: 1, 1951.

14. Ortega, L. G., Mellors, R. C: Analytical pathology. IV. The role of Localized antibodies in the pathogenesis of nephrotoxic nephritis in the rat. *Journal of Experimental Medicine* **104**: 151, 1956.
15. Sugisaki, T., Klassen, J., Andres, G., A., Milgrom, F., Mc Cluskey, R. T.: Passive transfer of Heymann nephritis with serum. *Kidney International* **3**: 66, 1973.
16. Willoughby, W. W., Dixon, F. J.: Experimental hemorrhagic pneumonitis produce by heterologous anti-lung antibody. *J. Immunol.* **104**: 28, 1970.