



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2017; 31 (1): 39 - 42
<http://www.fusabil.org>

Remzi GÖNÜL
Lora KOENHEMSİ
Kutay YILDIZ
Onur İSKEFLİ
Erman OR

İstanbul Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
İstanbul, TÜRKİYE

Dispneli Köpeklerin Ayırıcı Tanısında Kullanılan Troponin I ve NT-proBNP Düzeylerinin Immuno Assay Rotatorik Test Kitleri ve Cihazı ile Belirlenebilirliğinin İncelenmesi

B-tip natriüretik peptid (BNP) testlerinin insanlardaki en yaygın kullanımı kardiyak orjinal dispneyi diğer non-kardiyak sebeplerinden ayırt edebilmek olup, son zamanlarda veteriner alanda da konuyla ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Bununla birlikte hastalığa işaret kesin değerlerin henüz saptanamamış olması sebebiyle güvenilir verilere ulaşabilmek için yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla planlanan çalışmada yapılan rutin fiziksel muayene, hematolojik, biyokimyasal, radyografik, elektrokardiyografik ve ekokardiyografik analizler sonucunda kliniğimize gelen 20 dispneli köpeğin 10'u kardiyak, 10'u non-kardiyak (respiratorik) dispneli köpek olarak çalışma grubunu oluştururken 10 sağlıklı köpek kontrol grubunu oluşturdu. Yapılan analizler sonucunda kardiyak dispneli köpeklerin elektrokardiyografisinde (EKG) görülen ST segmentindeki çökmenin (0.2 ± 0.005) istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($P < 0.05$), ekokardiyografide ise ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve fraksiyonel kısalma (FS) değerlerinde istatistiki bakımdan anlamlı olmayan bir azalma olduğu (sırasıyla 66.62 ± 13.35 , 31.53 ± 9.76) saptandı. Yapılan biyokimyasal analizlerde ise sadece plazma troponin I düzeyinin kardiyak dispneli grupta artmış olduğu belirlenirken (0.13 ± 0.03 ng/mL) bu değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Çalışma sonucunda köpeklerde troponin I / NT-proBNP düzeylerini belirlemek için beşeri amaçlı üretilmiş olan immuno assay rotatorik test kitleri ve cihazının kullanımının uygun olmadığı saptandı.

Anahtar Kelimeler: Köpek, dispne, NT-proBNP, troponin I

Investigation of the Clinical Usage of Immuno Assay Rotatoric Test Kits and Machine to detect the Troponin I and NT-proBNP in Differential Diagnosis of the Dispnea in Dogs

The common usage of B-type natriuretic peptide (BNP) tests in humans is to differentiate cardiac dyspnea from non-cardiac and more studies have been performed on veterinary field based on this in recent times. However, there is still a need for new studies to reach reliable data because the exact values for the disease have not yet been established. In this study; clinical, blood tests, radiographic, electrocardiographic and echocardiographic analysis has been applied. Study group consist of 20 dogs with dyspnea (10 dogs with cardiac dyspnea and 10 dogs with non-cardiac (respiratoric) dyspnea and control group consist of 10 healthy dogs. As a result, ST depression was observed (0.2 ± 0.005) on electrocardiography of the dogs with cardiac dyspnea and was statistically significant $P < 0.05$. In addition, a decrease in ejection fraction (EF) and fractional shortening (FS) values (respectively $66.62 \pm 13.35\%$, $31.53 \pm 9.76\%$) on echocardiography, which were not statistically significant were detected. Plasma troponin I was increased in the cardiac dyspnea group (0.13 ± 0.03 ng/mL), but these changes were not statistically significant. In conclusion, expected results could not be obtained due to the use of Immuno Assay Rotatoric test kits and device which is manufactured for human use to determine troponin I / NT-proBNP levels.

Key Words: Dog, dyspnea, NT-proBNP, troponin I

Geliş Tarihi : 02.03.2017
Kabul Tarihi : 31.03.2017

Yazışma Adresi Correspondence

Lora KOENHEMSİ
İstanbul Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
İstanbul - TÜRKİYE

lomekoh@istanbul.edu.tr

Giriş

Köpeklerde kardiyak hasarın saptanması veya fonksiyonunun takibinde yeni biyomarkırların kullanılmaya başlanması sayesinde tanı imkânlarının artmasıyla birlikte günümüzde özellikle yaşlı köpeklerde kardiyak hastalıklar kolaylıkla saptanabilmektedir (1-3). Bunun dışında çeşitli sekonder sebeplerden de kaynaklanabilen miyokardiyal lezyonların takibi için kardiyak fonksiyonun izlenmesi önem kazanmaktadır (2). Bu amaçla atriyal natriüretik peptid (ANP), B-tip natriüretik peptid (BNP), N-terminal pro-BNP (NT-proBNP) ve kardiyak troponin gibi çeşitli hormonlar ve peptidler kalp yetmezliğinin tanısında kullanılmaktadır (2, 4). Miyokardiyal yaralanmalar kardiyak troponin I (cTnI) ya da kardiyak troponin T (cTnT) konsantrasyonlarının ölçülmesi ile tespit edilebilmektedir (2, 3). Kardiyomyopati, mitral kapak hastalığı ya da subvalvular aortik stenosis gibi kardiyak hastalıklı köpeklerde plazma cTnI konsantrasyonunda artış belirlenmiştir (2). Klinik olarak sağlıklı, ekokardiyografik ve holter-elektrokardiyografi (EKG) bulgularının normal olduğu dönemde bile erken faz miyokardiyal lezyonlardan köpeklerde cTnI konsantrasyonunda artış saptanabilmektedir (2). Bu artışın akut miyokardiyal yaralanmalardan sonraki 10-16. saatte pik yaptığı ve 5-10 gün içinde azaldığı bildirilmektedir (2).

BNP, kardiyovasküler bir hormon olup, kardiyak miyositlerde sentezlenir ve depolanırlar. Kardiyak hacim ya da basınç yüklemelerinde artan ventriküler duvar stresi proBNP'nin dolaşıma salınımına neden olur. Bu aşamadan sonra proBNP biyolojik olarak aktif cBNP ve inaktif NT-proBNP şeklinde ikiye ayrılır. Damar ve böbreklerde bulunan cBNP bağlayan reseptörler vazodilatasyon ve diürece neden olur (1, 7, 8). cBNP dolaşımdan reseptörlere bağlanmasından sonra intraselüler degredasyon ile dolaşımdan temizlenir. NT-proBNP temel olarak renal ekskresyon ile temizlenmektedir. cBNP'nin yarılanma ömrü köpeklerde yaklaşık 90 saniyedir. NT-proBNP ise cBNP'ye göre daha stabil bir molekül olup yarılanma ömrü daha uzundur. Kanin NT-proBNP dahil natriüretik peptidlerin ölçülmesi de non-kardiyak respiratorik stresten kardiyak kaynaklı olanların ayrılmasına, kalp hastalığının şiddetinin değerlendirilmesine, konjestif kalp yetmezliğinin başlangıcının tahmin edilmesine, dilate kardiyomyopati ve miksomatöz mitral kapak hasatlıklarında prognostik bilgilerin sağlanmasında ve tedavi kararının verilmesinde yardımcı olmaktadır (1,3-7).

Son zamanlarda gizli kalp yetmezliği bulunan hastalarda NT-proBNP tarama testlerinin de klinik kullanımı araştırılmakta olup, sol ventriküler sistolik fonksiyon bozukluğu olan köpeklerde %90 sensitiv ve %75 spesifik olduğu bulunurken, sadece ventriküler ektopli köpeklerde güvenilir olmadığı saptanmıştır. Bu nedenle NT-proBNP testi hasta sahiplerinin ekokardiyografi ya da holter kullanımı gibi testleri yaptırmak istemediği durumlarda tarama amacıyla da kullanılabilir (8).

İnsan hekimliğinde bu testlerin ölçümü için çeşitli cihaz ve kitler üretilip kullanılırken, veteriner hekimliğinde bu sınırlı sayıdadır. Bu durumda maliyetleri artırırken, kullanım zorlukları da yaratabilmektedir (8). Planlanan bu çalışma ile insanlarda plazma troponin I ve NT-proBNP düzeylerinin saptanması amacıyla kullanılan immunoassay analizör cihazı ve rotatorik test kitleri köpeklerde ilk olarak denendi.

Gereç ve Yöntem

Çalışma kapsamında kliniğimize gelen yaşları 6 ay ile 13 yıl arasında, ağırlıkları 12-35 kg arasında değişen, değişik ırktan köpekler kullanıldı. Yapılan klinik, laboratuvar, radyografik, EKG ve ekokardiyografik incelemeler sonucunda solunum güçlüğü ile birlikte kalp yetmezliği bulunan 10 köpek kardiyak dispneli grubu oluştururken, sadece solunum yetmezliği bulguları

gözlenen 10 köpek respiratorik dispne grubunu oluşturdu. Ayrıca klinik olarak ve yapılan tahlil ve görüntüleme metodları sonucunda sağlıklı olduğu tespit edilen 10 köpek kontrol grubunu oluşturdu.

Köpeklerde fiziksel muayene yapıldı, hematolojik (tam kan sayımı), biyokimyasal (glukoz, üre, kreatinin, AST, ALT, ALP, GGT, kolesterol), troponin I / NT-proBNP düzeyleri belirlendi, radyografik (toraks latero-lateral ve ventro-dorsal grafisi), EKG ve ekokardiyografi kontrolleri gerçekleştirildi. Çalışmada troponin I / NT-proBNP düzeylerini belirlemek için beşeri amaçlı üretilmiş olan Immuno Assay rotatorik test kitleri ve cihazı (Samsung LABGEO IB10) kullanıldı. Ekokardiyografik incelemeler sağ parasternal uzun ve kısa eksen ile sol apikal 4 ve 5 odacık akustik pencerelelerinden yapıldı. Bu uygulama için için SIUI 3000 doppler ultrasonografi cihazı ve 1.7-2.5 MHz kardiyak prob ile 2.0-5.0 MHz mikro-konveks prob kullanıldı.

Çalışma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS paket istatistik programı aracılığı ile tek yönlü varyans analiz yöntemiyle gruplar arası karşılaştırmalar ise post hoc Tukey testi ile gerçekleştirildi.

Bulgular

Yapılan incelemeler sonucunda dispneli köpeklerde; solunum güçlüğü, ağızdan nefes alma, mukozalarda renk değişimleri, kapillar zamanda uzama, akciğer oskültasyonunda hırıltılar, kardiyak oskültasyonda üfürümler, radyografide kalpte büyüme akciğer sahasında dumanlanma gibi bulguların bir ya da bir kaçını gösterdikleri saptandı. Dispneli köpeklerde EKG ve ekokardiyografi kontrolleri sonucunda 10 tanesinde kalp yetmezliği teşhis edildi. Kalp yetmezliği saptanan köpeklerde EKG de ST segmentinde çökme ($P<0.05$), T dalgası amplitüdünde artış, atriyal ve ventriküler dilatasyon bulguları saptanırken, ekokardiyografik olarak da mitral kapak yetersizliği, atriyal ve ventriküler dilatasyonlar ile kalp çıkış gücünde azalma olduğu saptandı (Tablo 1).

Hematolojik ve biyokimyasal analiz sonuçları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Kardiyak dispneli grupta sadece troponin-I düzeyinde bir artış olduğu görülürken bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi (Tablo 2).

Tablo 1. Sağlıklı ve kardiyak/kardiyak olmayan (respiratorik) dispneli köpeklerde saptanan elektrokardiyografik ve ekokardiyografik bulgular (n= 10)

EKG / Ekokardiyografi	Sağlıklı (Ort ± SD)	Kardiyak Dispne (Ort ± SD)	Respiratorik Dispne (Ort ± SD)	P
P amplitüd (mV)	0.22±0.05	0.34±0.08	0.17±0.05	-
P zamanı (mm/sn)	0.06±0.01	0.06±0.01	0.04±0.01	-
PR aralığı (mm/sn)	0.10±0.01	0.08±0.02	0.10±0.01	-
Q amplitüd (mV)	0.30±0.10	0.20±0.08	0.20±0.10	-
R amplitüd (mV)	1.44±0.40	2±0.40	1.40±0.40	-
T amplitüd (mV)	0.20±0.05	0.40±0.10	0.18±0.05	-
T zamanı (mm/sn)	0.06±0.01	0.07±0.02	0.06±0.01	-
QT aralığı (mm/sn)	0.18±0.02	0.16±0.02	0.18±0.02	-
QRS zamanı (mm/sn)	0.04±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	-
ST çökme (mV)	0.02±0.01 ^b	0.20±0.01 ^a	0.02±0.01 ^b	*
IVSd (cm)	9.58±1.05	11.80±0.02	9.40±1.07	-
LVIDd (cm)	34.90±1.50	51.20±1.50	35.70±1.50	-
LVPWd (cm)	7.71±0.80	9.60±0.22	7.65±0.80	-
IVSs (cm)	22.09±1.30	13.60±0.03	23.85±0.06	-
LVIDs (cm)	22.20±1.20	35.80±1.50	21.50±1.08	-
LVPWs (cm)	11.47±0.30	14.20±0.18	11.35±0.30	-
EF (%)	70±5.22	66.62±13.35	72±3.92	-
FS (%)	39±6.26	31.53±9.76	37±3.11	-

-: P>0.05* : P<0.05

^{a,b} Aynı satırda farklı harf ile belirtilen parametre değeri, diğer parametrelerden istatistiki açıdan önemli derecede farklılık göstermektedir**Tablo 2.** Sağlıklı ve kardiyak/kardiyak olmayan (respiratorik) dispneli köpeklerde saptanan hematolojik ve biyokimyasal değişiklikler (n= 10)

Parametre	Sağlıklı (Ort ± SD)	Kardiyak Dispne (Ort ± SD)	Respiratorik Dispne (Ort ± SD)	P
RBC (x10 ⁶ /mm ³)	7.52±1.41	6.05±1.18	6.40±1.11	-
HGB (g/dL)	13.12±2.42	12.66±2.80	11.66±2.60	-
HCT (%)	42.34±7.24	40.61±6.17	38.61±8.17	-
WBC (x10 ³ /mm ³)	9.33±4.54	11.96±4.15	13.96±7.15	-
PLT (x10 ³ /mm ³)	242.44±120.20	217.62±137.12	257.62±157.33	-
MCV (fl)	67.48±14.24	62.17±16.02	64.57±18.02	-
MCH (pg)	24.26±2.17	21.42±0.17	22.42±0.77	-
MCHC (g/dL)	31.24±3.24	28.32±4.18	29.12±3.18	-
Glukoz (mg/dL)	87.60±22.16	94.25±17.05	88.50±9.14	-
Ure (mg/dL)	23.80±4.49	29.75±5.25	24.25±5.67	-
Kreatinin (mg/dL)	0.72±0.19	0.82±0.28	0.85±0.26	-
AST (IU/L)	39.60±12.34	31.50±6.02	29.25±7.80	-
ALT (IU/L)	47±8.27	40.25±9.56	44±8.75	-
ALP (IU/L)	69.40±22.90	58.75±16.23	64.25±20.96	-
GGT (IU/L)	4.60±2.88	4.75±2.75	4.25±1.25	-
Kolesterol (mg/dl)	217±57.68	209.75±106.90	237.50±83.01	-
Troponin-I (ng/mL)	0.09±0.03	0.13±0.03	0.08±0.06	-
nT-proBNP (pmol/L)	26±5.47	26.60±5.16	25±4.47	-

-: P>0.05

Tartışma

Köpeklerde dispneye neden olan kardiyak ve respiratorik hastalıklar, anamnez ve fiziksel muayene, radyografik, elektrokardiyografik ve ekokardiyografik bulgulara göre ayırt edilebilmektedir (1, 8). Son yıllarda kardiyak biyomarkırların kullanılmaya başlamasıyla, bu ayrımı yapabilmek daha kolaylaşmıştır. Dispneli bir köpekte plazma NT-proBNP konsantrasyonunun <800pmol/L olması hastalığın nonkardiyak sebepli, plazma NT-proBNP konsantrasyonunun >1.400 pmol/L olması kuvvetli bir şekilde konjestif kalp yetmezliğine işaret etmektedir. Bir başka çalışmada ise serum NT-proBNP konsantrasyonunun >445 pmol/L olması kardiyak hastalıklı köpekleri normal köpeklerden ayrılmasında %83.2 sensitiv ve %90 spesifik olduğu bildirilmiştir (9). Kellihan ve ark. (5) yaptığı çalışmada ise NT-proBNP değerinin >1725 pmol/L ise hastalığın şiddetli etkilendiğini ve konjestif kalp yetmezliğine sahip olma ihtimalinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Fox ve ark. (1) ise sınır değeri olarak >2.447 pmol/L'yi vermişlerdir.

Son zamanlarda mitral kapak hastalığı bulunan köpeklerdeki konjestif kalp yetmezliğinin başlangıcının tahmin edilmesinde NT-proBNP'nin kullanımı da rapor edilmiştir. Yapılan çalışmada vertebral kalp skoru >12 ya da sol ventriküler diastolik genişliği: aorta oranı >3.0 olan hastalarda NT-proBNP konsantrasyonu >1.500 pmol/L

saptandığında 3-6 ay içinde konjestif kalp yetmezliği gelişme riski olduğunu bildirmiştir. Ayrıca mitral kapak hastalığı bulunan köpeklerde kardiyomegalinin radyografik ve ekokardiyografik kanıtları bulunmadığında NT-proBNP'nin faydalı olmadığı bildirilmiştir (8). Başka bir çalışmada ise miksomatöz mitral kapak hastalığının erken dönemde tespiti için natriüretik peptidlerin faydasının şüpheli olduğu saptanmıştır (4). Bütün bunlara ek olarak NT-proBNP konsantrasyonunun azotemi, pulmoner hipertansiyon, sepsis, sistemik hipertansiyon ve hipertroidizm gibi hastalıklardan etkilenebildiği görülmüştür (1, 8).

Yaptığımız çalışmada ise kardiyak dispneli köpeklerde troponin I düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde bir artış olduğu saptanmakla birlikte, hem kardiyak hem nonkardiyak dispneli köpeklerde NT-proBNP konsantrasyonunun <800 pmol/L olmasının bu çalışmada test amacıyla kullanmış olduğumuz beşeri amaçlı üretilmiş olan Immuno Assay rotatorik test kiti (Troponin I / NT-proBNP) ve cihazı ile bu ölçümlerin yeterli hassasiyette yapılamadığından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu nedenle bu test cihaz ve kitlerinin veteriner amaçlı kullanımının uygun olmadığı, sağlıklı verilere ulaşabilmek için veteriner amaçlı ELISA kitlerinin kullanımının faydalı olacağı sonucuna varıldı.

Kaynaklar

1. Fox PR, Oyama MA, Hezzell MJ, et al. Relationship of plasma N-terminal Pro-brain natriuretic peptide concentrations to heart failure classification and cause of respiratory distress in dogs using a 2nd generation ELISA assay. J Vet Intern Med 2015; 29: 171-179.
2. Hamacher L, Dörfelt R, Müller M, Wess G. Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with systemic inflammatory response syndrome. J Vet Intern Med 2015; 29: 164-170.
3. Hori Y, Ohshima N, Chikazawa S, et al. Myocardial injury-related changes in plasma NT-proBNP and ANP concentrations in a canine model of ischemic myocardial injury. Vet J 2012; 191: 46-51.
4. Tarnow I, Olsen LH, Kvarn C, et al. Predictive value of natriuretic peptides in dogs with mitral valve disease. Vet J 2009; 180: 195-201.
5. Kellihan HB, Oyama MA, Reynolds CA, Stepien RL. Weekly variability of plasma and serum NT-proBNP measurements in normal dogs. J Vet Cardiology 2009; 11: 93-97.
6. Misbach C, Chetboul V, Concordet D, et al. Basal plasma concentration of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in clinically healthy adult small size dogs: Effect of body weight, age, gender and breed and reference intervals. Res Veterinary Sci 2013; 95: 879-885.
7. Miyagawa Y, Tominaga Y, Toda N, Takemura N. Relationship between glomerular filtration rate and plasma N-terminal pro-B-Type natriuretic peptide concentrations in dogs with chronic kidney disease. Vet J 2013; 197: 445-450.
8. Oyama MA, Boswood A, Connolly DJ, et al. Clinical usefulness of assay for measurement of circulating N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration in dogs and cats with heart disease. JAVMA 2013; 243: 71-82.
9. Oyama MA, Fox PR, Rush JE, Rozanski EA, Lesser M. Clinical utility of serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration for identifying cardiac disease in dogs and assessing disease severity. JAVMA 2008; 232: 1496-1503.