

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ BİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ

**GENTAMİSİNİN NEDEN OLDUĞU BÖBREK  
KORTEKS HASARINA KARŞI CURCUMİNİN  
KORUYUCU ETKİSİNİN MORFOLOJİK OLARAK  
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Duygu UZUN GÖREN**

EDİRNE – 2011

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ BİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi  
Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ

**GENTAMİSİNİN NEDEN OLDUĞU BÖBREK  
KORTEKS HASARINA KARŞI CURCUMİNİN  
KORUYUCU ETKİSİNİN MORFOLOJİK OLARAK  
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Duygu UZUN GÖREN**

**Destekleyen Kurum : TÜBAP-2009/113**

**Tez No :**

EDİRNE – 2011

**T.C.**  
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**  
**Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü**

**ONAY**

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Duygu UZUN GÖREN tarafından tez başlığı “Gentamisinin Neden Olduğu Böbrek Korteks Hasarına Karşı Curcuminin Koruyucu Etkisinin Morfolojik Olarak İncelenmesi” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 08/07/2011 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

İmza  
Unvanı Adı Soyadı  
JÜRİ BAŞKANI  
Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN

İmza  
Unvanı Adı Soyadı  
ÜYE  
Doç. Dr. Ali YILMAZ

İmza  
Unvanı Adı Soyadı  
ÜYE  
Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK  
Enstitü Müdürü

## TEŐEKKÜR

Eğitimim süresince, bugünlere ulaşmamda büyük emeği olan ve hiçbir fedakarlığı esirgemeyen aileme ve sevgili eşime minnettarım. Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ'a, çalışmam sırasında bilimsel katkıları ile desteğini esirgemeyen, sayın hocalarım Prof. Dr. Mehmet KANTER, Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. İstatistik konusunda yardım aldığım Doç. Dr. Necdet SÜT'e ve çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm arkadaşlarıma, maddi olarak sağlayan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
<b>BÖBREK MORFOLOJİSİ .....</b>	<b>3</b>
<b>GENTAMİSİN .....</b>	<b>15</b>
<b>CURCUMİN .....</b>	<b>20</b>
<b>MİTOJENLER TARAFINDAN AKTİVE EDİLEN PROTEİN KİNAZLAR....</b>	<b>21</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER .....</b>	<b>26</b>
<b>BULGULAR.....</b>	<b>29</b>
<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>53</b>
<b>SONUÇ.....</b>	<b>59</b>
<b>ÖZET .....</b>	<b>60</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>62</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>64</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ.....</b>	<b>72</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>74</b>
<b>EKLER</b>	

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b><math>\alpha</math></b>	: Alfa
<b><math>\beta</math></b>	: Beta
<b><math>\gamma</math></b>	: Gamma
<b><math>\delta</math></b>	: Delta
<b>CMN</b>	: Curcumin
<b>dk</b>	: Dakika
<b>DMSO</b>	: Dimetilsülfoksit
<b>ER</b>	: Endoplazmik retikulum
<b>ERK</b>	: Extracellular signal regulated kinase
<b>GM</b>	: Gentamisin
<b>H+E</b>	: Hematoksilen+eozin
<b>ig.</b>	: İntragastrik
<b>im</b>	: İntramuskuler
<b>ip.</b>	: İntraperitoneal
<b>JNK</b>	: Jun N-terminal kinase
<b>MAPK</b>	: Mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz
<b>MAPKK</b>	: Mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz kinaz
<b>MAPKKK</b>	: Mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz kinaz kinaz
<b>PAS+HL</b>	: Periyodik Asit Schiff + Hemalen
<b>SAPK</b>	: Stresle aktive olan protein kinaz
<b>sc.</b>	: Subkutan
<b>TBS</b>	: Tris tampon solüsyonu

## GİRİŞ VE AMAÇ

Gentamisin (GM), genellikle hayatı tehdit edici Gram-negatif bakterilerin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılan aminoglikozid bir antibiyotiktir (1). Özellikle Gram negatif bakterilere karşı geniş bakterisid spektruma sahip olması, beta-laktamlara dirençli mikroorganizmalara karşı etkinliği ve maliyetinin düşük olması nedeni ile kullanım alanı oldukça geniştir (2). En önemli yan etkisi nefrotoksisitedir ve akut böbrek yetmezlikli olguların %10-20'sinden sorumludur (3,4). GM ile 7 günden fazla tedavi edilen hastaların %30'u nefrotoksisite belirtileri göstermeye başlamaktadır (5).

Oral yol ile alındığında, gastrointestinal kanaldan absorbe olmazlar fakat intramuskuler (im.) ya da subkutan (sc.) olarak verildiğinde hızlı bir şekilde absorbe olurlar. GM, aynı zamanda intravenöz veya intratekal olarak ta verilebilir. Renal korteks dışındaki dokularda birikmesi oldukça zayıftır. Eliminasyonu hemen hemen tamamen böbrekte glomerüler filtrasyon yolu ile olmaktadır (1). GM glomerülden filtre olduktan sonra proksimal tübül hücrelerindeki lizozomlarda birikir (1,6,7). Ortaya çıkan hasarlar ise; bazal membran erozyonları, proksimal tübül hücre şişkinliği ve fırçamsı kenar kayıpları, tübüler atrofi veya dilatasyon, interstisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonları (8) ve bazolateral membran katlantılarının azalmasıdır (9). GM nefrotoksisitesinin mekanizması hala kesinlik kazanmamış olup, multifaktöriyel nedenler ileri sürülmektedir (10,11). Bu mekanizmalar arasında serbest oksijen radikallerinin artması major faktör olarak sayılmaktadır (12-14)

Ayrıca son zamanlarda GM nefrotoksisitesinde mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz (MAPK) aktivasyonunun rol aldığı bildirilmiştir (8). MAPK'lar; hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve hücre ölümü ile ilgili çeşitli sinyallerin

düzenlenmesinde büyük rol oynarlar (15). Çok hücreli organizmalarda p38 MAPK, oksidatif stresi de içeren çeşitli hücrel stresler ile aktive olabilen ve sonuçta hücrede serbest oksijen radikallerinin artmasına yol açan bir kinazdır. Buna ek olarak, çoğunlukla inflamasyon ve apoptozis ile de ilgilidir (15-17). GM ile akut renal hasar oluşturulan bir çalışmada, renal kortekste p38 MAPK ekspresyonunun arttığı gösterilmiş ve patogeneizde rol alabileceği ileri sürülmüştür (8).

Curcumin (CMN), Zingiberaceae (Zencefilgiller) familyasına ait *Curcuma longa* bitkisinin yumrusundan elde edilir. Çin ve Hindistanda yaygın bir şekilde; gıda, kozmetik ve tıbbi ilaç olarak kullanılmaktadır (11,18,19). CMN'nin antioksidan aktivitesi çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (11,20-22). Bu antioksidan aktivite yanında, antitümöral (23), antiinflamatuvar (24) ve antidiyabetik/hipoglisemik (25), antibakteriyel (26), yara iyileştirici (27) etkileri de rapor edilmiştir. Renal hücre serilerinde CMN'nin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi, in vitro olarak gösterilmiştir (28,29). Yapılan bir çalışmada, CMN 10 gün boyunca oral olarak 200 mg/kg verilmiş ve GM'nin neden olduğu böbrek hasarını morfolojik ve biyokimyasal olarak koruduğu gösterilmiştir (11). Ayrıca, CMN'nin; cisplatinin neden olduğu sıçan testisindeki oksidatif hasarda, insan keratinosit hücre serisinde (30) ve streptozotosin ile oluşturulan diyabetik nefropatide (31) p38 MAPK aktivasyonunu azalttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalar, CMN'nin hem antioksidan özelliği (32) hem de p38 MAPK sinyal yolu üzerinden GM'nin neden olduğu böbrek hasarının önlenmesine yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, yapılan literatür araştırmasında, GM'nin neden olduğu böbrek hasarı üzerine CMN'nin etkisi ile ilgili yapılan bir iki çalışma mevcut olup, bu çalışmalarda daha çok biyokimyasal ve sınırlı olarak ta histolojisinin incelenmiş olduğu tespit edildi. Ancak, immünohistokimyasal düzeyde araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmadı.

GM'nin neden olduğu böbrek korteks hasarı üzerine curcumin etkisinin incelendiği bu çalışmada, histolojik ve özellikle immünohistokimyasal düzeyde araştırma yapılarak bu hasarın önlenmesine yönelik katkı sağlanması amaçlandı.



## GENEL BİLGİLER

### BÖBREK MORFOLOJİSİ

#### Böbreğin Gelişimi

Üriner ve genital (üreme) sistem embriyoda yakın ilişki içinde gelişirler. Bu yüzden ürogenital sistem olarak adlandırılırlar (33). Ürogenital sistem, embriyonun dorsal vücut duvarı boyunca yerleşen, intermediyer mezoderm'den gelişir. Embriyonun horizontal planda katlanması sırasında, bu mezoderm ventrale doğru çekilir (33,34). Bu sırada sölom boşluğuyla olan ilişkisini ve segmentasyonunu kaybeder, orijinal segment başına iki, üç ve hatta daha fazla boşaltım tübülü oluşturur. Sonuçta, segmente olmayan mezodermden, nefrojenik doku kordonlarını meydana getirir. Bunlar da boşaltım tübüllerini ve sölom boşluğunun arka duvarında her iki tarafta uzunlamasına yer alan ürogenital kabarıklıkları meydana getirir (35). Bu doku daha sonra üriner ve genital sistemleri oluşturacaktır (34,35). Üriner sistemi oluşturacak olan ürogenital kabartı kısmı “nefrojenik kordon” veya kabartı adını alırken, genital sistemi oluşturacak kısmı, “genital (gonadal) kabartı” olarak adlandırılır (34).

Dördüncü haftanın başında servikal bölgedeki intermediyer mezoderm, somitle olan bağlantısını kaybederek nefrotom adı verilen segmental hücre topluluklarını oluşturur (33,35). Bu ilkel boşaltım birimleri sadece rudimenter boşaltım tübüllerini meydana getirirler ve fonksiyon görmezler (35).

İnsanlarda intrauterin yaşam boyunca, kranialden kaudale doğru, birbirinden farklı üç böbrek sistemi peşpeşe ve kısmen de üst üste binecek şekilde oluşur (35). İlk olarak oluşan böbrek sistemi olan, pronefroz rudimenterdir ve fonksiyonel bir özelliğe sahip değildir.

İkinci oluşan böbrek sistemi mezonefroz daha iyi gelişmiş haldedir, Üçüncü olarak oluşan böbrek sistemi metanefroz, kalıcı, esas böbrekleri oluşturan sistemdir (34).

**Pronenfoz böbrek:** Pronefrozu, 7 çift pronefrik tübül ve kloakaya erişmek üzere embriyonun kaudal bölümüne doğru uzanan bir pronefrik kanal oluşturur (33). Bu geçici, fonksiyonel olmayan yapılar insan embriyosunda ilk olarak dördüncü haftanın başlangıcında ortaya çıkarlar. Pronefrozlara, servikal bölgedeki 7-10 adet solid hücre topluluğu tarafından temsil edilirler (35). Pronefrik duktus, kaudal olarak uzandıktan sonra kloaka'ya açılır. Rudimenter olan pronefrozlara ait yapılar, kısa bir süre içinde dejenerasyona uğrarlar ancak, pronefrik duktuslardan çoğu, belirli bir süre kalır ve bir sonraki böbrek sisteminde bunlardan yararlanır (34).

**Mezonefroz böbrek:** Mezonefroz ve mezonefrik kanallar, üst torasik ile üst lumbar (L3) segmentlerin intermediyer mezoderminden gelişirler (35). Oldukça genişlemiş ve uzamış boşaltıcı organlar olan mezonefrozlara, dördüncü haftanın sonuna doğru, rudimenter yapılar olan pronefrozlara kaudalinde ortaya çıkarlar. Bu yapılar daha iyi gelişmiştir ve kalıcı böbrekler oluşuncaya kadar ara böbrekler olarak, embriyoda fonksiyon görürler (34). Bu tübüller boyca hızla uzarlar, S şeklinde bir halka halini alırlar ve medial uzantılarının ucunda bir glomerulus oluştururlar. Burada tübüller, Bowman kapsülünü oluştururlar. Kapsül ve glomerül birlikte renal korpuskülü meydana getirirler. Tübülüs lateralden, mezonefrik veya Wolff kanalı olarak bilinen longitudinal toplayıcı kanala girer. İkinci ayın ortasında mezonefroz, orta hattın her iki yanında büyük ve oval şekilli bir organ haline gelir (35). Mezonefrik böbrekler glomerüller ve mezonefrik tübüllerden oluşmuşlardır. Mezonefrik tübüller, pronefrik duktustan köken alan mezonefrik duktusa açılırlar. Mezonefrik duktus da kloakaya açılır. Mezonefrozlara, birinci trimesterin sonuna doğru dejenerer olurlar (34).

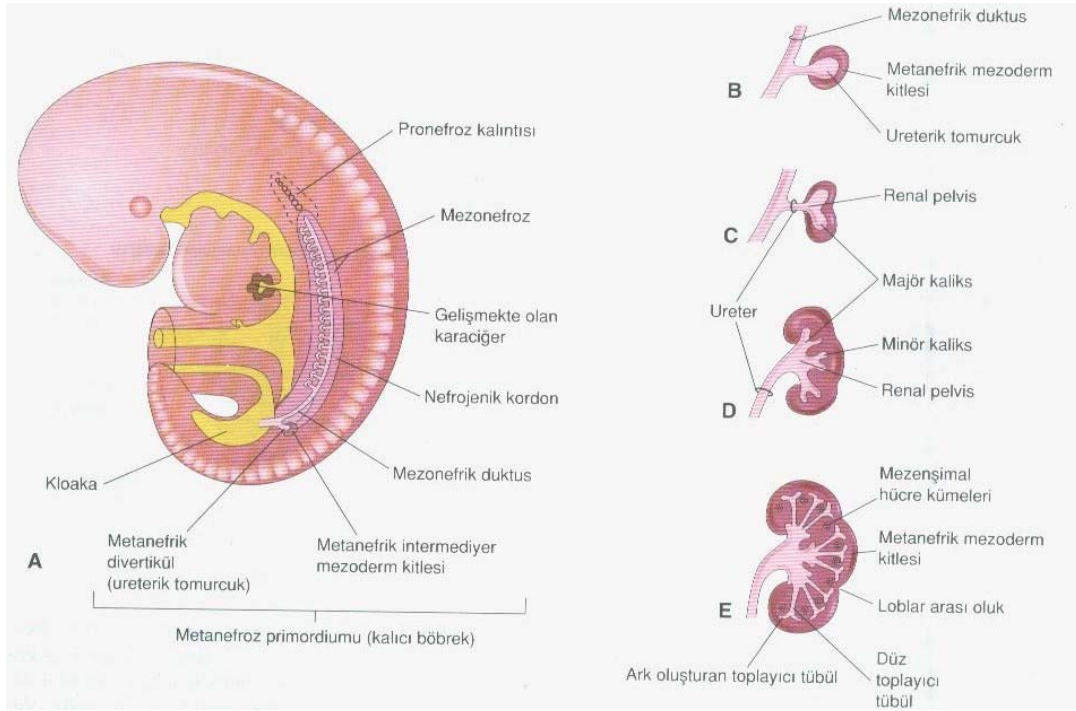
**Metanefroz böbrek:** Metanefroz veya kalıcı böbrekler, 5. haftada belirirler ve yaklaşık 4 hafta sonra da fonksiyonel hale gelirler (34,35). Mezonefrik sistemde olduğu gibi bu sistemin boşaltım birimi de metanefrik mezodermden gelişir. Ancak, kanal sisteminin gelişimi diğer böbrek sistemlerinden farklıdır (35).

Kalıcı böbrekler, mezoderm kaynaklı iki parçadan oluşur: Metanefrik divertikül (üreterik tomurcuk) ve intermediyer mezodermin metanefrik kitlesi (metanefrojenik blastem). Mezonefrik kanalın bir çıkıntısı olan tomurcuk; üreterler, renal pelvis, renal

kaliksler, toplayıcı kanallar ve toplayıcı tübüleri oluşturur (33-35) (Şekil 1. A). Bu tomurcuk, metanefrik doku içine penetre olur. Penetrasyonun ardından üreter tomurcuğu genişleyerek primitif renal pelvisi oluşturur ve gelecekteki ana kaliksleri oluşturmak üzere kranial ve kaudal parçalara ayrılır. Kalikslerin her biri, metanefrik dokuya penetre olurken iki yeni tomurcuk oluşturur. Bu tomurcuklar 12 ve daha fazla sayıda tübül oluşturana kadar bölünmeye devam ederler. Bu sırada, periferde de 5. ayın sonuna kadar bir miktar tübül daha oluşur. İkinci generasyondaki tübüller genişleyerek, üç ve dördüncü generasyona ait tübüleri absorbe ederek renal pelvisin minör kalikslerini oluştururlar. Gelişimin daha sonraki evrelerinde, 5. ve takibeden generasyonun toplayıcı tübüleri hatırı sayılır şekilde boyca uzarlar ve minör kaliksler içine doğru toplanarak renal piramidleri meydana getirirler (35) (Şekil 1. B-E).

Oluşan kollektör tübüller, distal uçtan bir metanefrik doku şapkası ile örtülüdür. Bu metanefrik doku içindeki hücreler, tübüllerin indükleyici etkisiyle renal vezikül olarak bilinen küçük kesecikleri oluştururlar ve daha sonra bunlardan küçük tübüller meydana gelir. Bu tübüller, glomerül adı verilen kapiller yumaklarıyla birlikte nefronları oluşturur (35). Ara mezodermin kaudal parçasındaki metanefrojenik doku; nefronların geri kalan proksimal ve distal tübüleri, Henle kulbu ve böbrek cisimciğinin Bowman kapsülü kısımlarını oluşturur (33). Bowman kapsülü, her nefrona ait proksimal ucun glomerül tarafından derin şekilde yaylandırılmasıyla sağlanır. Tübülün distal ucu ise, Bowman kapsülünden toplayıcı kanallara geçişi sağlayacak şekilde, toplayıcı kanallardan biriyle ilişki kurar. Boşaltıcı tübüllerin uzamaya devam etmesi sonucu proksimal kıvrımlı tübüller, Henle halkası ve distal kıvrımlı tübüller meydana gelir (35). Toplayıcı tübüllerin son dallarının distal uçları başlangıçta metanefrojenik dokunun hücre kümeleri ile sarılmıştır. Bu hücre kümeleri, merkezi bir lümene sahip olan ilkel tübüllere dönüşerek, daha sonra nefronları yapacak olan içi boş veziküller oluştururlar. Tek katlı epitel ile döşeli tübüller, dıştan devamlı bazal membran ile sarılır, uzar ve sonunda kıvrımlı erişkin yapısına ulaşır. Tübüllerin distal (serbest) uçlarını örten epitel, böbrek cisimciğini oluşturmak üzere yassılaştır ve glomerüler kapiller kümesi tarafından doldurulur. İlkel nefron ve toplayıcı tübül ile yan yana sıralanır ve iki yapı bir idrar yolu oluşturmak üzere kaynaşır (33). Doğumda böbrekler, lobüle bir görünümdeydir. Süt çocukluğu döneminde nefronların büyümeye devam etmesi ile bu lobüle görünüm kaybolur. Ancak nefronların sayısında bir artış olmaz (35).

Metanefroz veya kalıcı böbrek, birinci trimesterin sonunda fonksiyonel hale gelir. İdrar amnion boşluğuna geçer ve amnion sıvısıyla karışır. Bu karışım, fetus tarafından yutulur ve bebeğin sindirim sistemine girer. Burada emilerek kan dolaşımına geçer ve tekrar böbrekler tarafından amnion sıvısına atılır. Fetal yaşam süresince yıkım ürünlerinin atılımından plaseenta sorumlu olup, böbreklerin bu görevde fonksiyonu bulunmamaktadır. (34,35).



**Şekil 1. Metanefroz (kalıcı böbrek)'un gelişimi: A, 5 haftalık embriyonun lateral görünümünde metanefroz primordiumu izlenmektedir. B' den E'ye kadar, metanefrik divertikülün (üreterik tomurcuk) gelişme safhaları görülmektedir. (5.-8. haftalar arası) (34)**

### **Böbreğin Histolojisi**

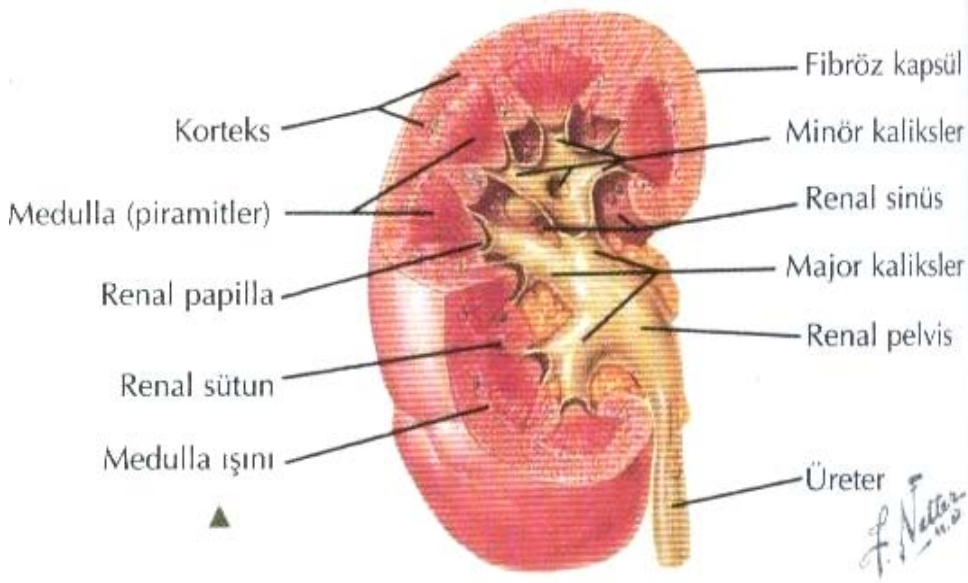
Böbrekler columna vertebralis'in iki yanında, peritonun arkasında, karın arka duvarına yaslanmış olarak bulunurlar. Fasülyeye benzer bir görünümüne sahiptir. Her bir böbreğin ön ve arka iki yüzü, konveks bir dış kenarı ile konkav bir iç kenarı vardır (36,37). İç kısmında; üreterler, kan damarları, lenfatikler ve sinirlerin geçtiği böbreğe giriş ve çıkışların yapıldığı dik bir yarık olan hilum bulunur (33,36-38). Ortalama ağırlıkları erkeklerde 150 g ve kadınlarda 135 g'dır. Karaciğer nedeniyle sağ böbrek sol böbrekten yaklaşık 2 cm daha aşağıda yer almaktadır (39).

Böbrekler sıkı bağ dokusundan yapılmış ince bir kapsül ile sarılmıştır. Parankima; dışta koyu kırmızı korteks, iç kısımda daha açık çizgili medulla ve sığ bir boşluk olan renal sinüs içinde yer alan huni şekilli pelvis olarak ayrılır (33).

**Kapsül:** Böbreğin yüzeyi bağ doku karakterinde bir kapsülle örtülmüş durumdadır. Bu kapsül iki farklı katmandan oluşur: dışta bulunan katman fibroblastlar ve kollajen liflerce zengindir, iç kısımda ise miyofibroblast hücre bileşenleri yer alır. Miyofibroblastların kasılma yeteneği, böbreğin fonksiyon görmesi esnasındaki basınç ve hacim varyasyonlarına karşı böbreğin korunmasında yardımcı olmaktadır. Fakat spesifik özellikleri henüz tam olarak bilinmemektedir. Böbreği saran kapsül hilumdan içeri doğru giriş yapar. Burada sinüs bir bağ doku tabakası ile örtülmüş, kalikslerin ve renal pelvisin duvarları da sürekli bir bağ dokusu formuyla astarlanmıştır (40). Böbrek ve böbreküstü bezini en dıştan saran bağ doku karakterindeki örtü ise renal fasya adını alır. Bu yaprak, hilumda renal damarların tunika adventisya'sı ile kaynaşmış durumdadır (36).

**Parankima:** Çıplak gözle taze bir böbrek incelendiğinde, farklı iki bölüm görülür. Kanın %90-95'inin geçtiği koyu renkli "korteks" kısmı ve %5-10'unun geçtiği soluk renkli "medulla"dır (40).

Medulla 12-15 konik renal piramitlerden oluşur. Bu piramitlerin her birinin korteksi sınırlayan geniş bir tabanı ve sinüse uzanan ve bir çıkıntı oluşturan tepesi (papilla) bulunur. Korteks parçaları renal sütunları oluşturmak üzere piramitler arası alanlara sokulurlar (Bertin kolonları). Üreterin yelpaze şeklindeki genişlemesi olan renal pelvis, en geniş yerinde iki ya da üç çanak benzeri majör kaliksleri oluşturur. Bunlar, her birine bir piramidin papillasının boşaldığı minör kalikslere ayrılır. Bir papilla ve onunla ilişkili parankima bölgesi böbrek lobu adını alır; her insan böbreği 12-15 lobdan oluşur. İdrar, piramitlerden ve kalikslerin içinden geçerek renal pelvise, oradan da böbreklerin dışına üreterlere akar (33). Bir medulla piramiti, onu kaplayan korteks bölgesi ile birlikte bir böbrek lobunu oluşturur. Bu lobların kaynaşma bölgelerinden arta kalan yapılar halinde bulunan böbrek sütunları (Bertin sütunları) lablararası sınırı oluşturur (41). İfade edilen yapılar Şekil 2'de gösterilmiştir (33). Henle kulplarının ve toplayıcı kanalların paralel grupları, daha derindeki medulladan kortekse uzanan medulla ışınlarını oluşturur. Her medulla ışını ve onun kortikal parankiması bir böbrek lobülünü oluşturur (33).



**Şekil 2. Çeşitli düzlemlerde kesilmiş, parankima ve renal pelvisi gösteren sağ böbrek (33)**

Böbreğin işlevsel birimi olan ünifer tübül 30-40 mm uzunluğunda olup, idrarın üretimine katılan fazlaca kıvrımlı bir yapıya sahip olan ve sekretuar görevi de bulunan nefron; ve idrarı taşıyan yaklaşık 20 mm uzunluğunda kanalcıkların oluşturduğu ekskretuar toplayıcı kanallardan oluşmuştur (33).

Her bir böbrek 1 ile 4 milyon arasında nefron (Yun. *nephros*) içerir. Her nefron genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcik (veya böbrek cisimciği=Malpighi cisimciği), proksimal kıvrımlı tübül, Henle kulbunun ince ve kalın uzantıları ve distal kıvrımlı tübülden ve toplayıcı tübül ve kanallardan oluşmaktadır. Nefron, böbreğin işlevsel birimidir (38).

Nefronlar, kortekste Malpighi cisimciklerinin yerleştiği yere göre; kortikal nefronlar ve jukstameduller nefronlar olarak ayrılırlar (33).

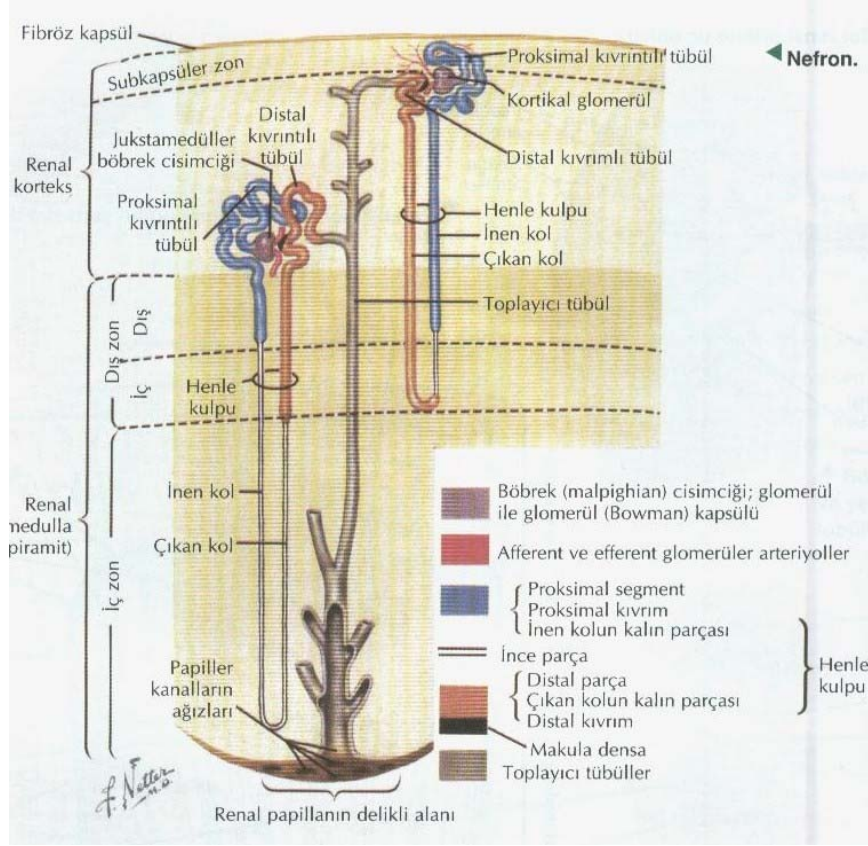
Kortikal nefronlar; Malpighi cisimcikleri korteksin dış kısmına yerleşmiş olan nefronlardır. Piramitlerin dış bölgelerine doğru uzayan kısa bir Henle kulbuna sahiptirler. Jukstameduller nefronlarda; Malpighi cisimcikleri meduller piramitlere yakındır. Bunlar piramitlerin iç bölgelerine doğru uzayan uzun Henle kulbuna sahiptir. İdrar konsantrasyon mekanizmasında özellikle rol oynarlar (33,41,42). Bir de buna ek olarak intermediyer nefronların varlığından bahsedilmektedir. İntermediyer nefronlarda ise Malpighi cisimcikleri korteksin orta bölgesindedir. Orta uzunlukta bir Henle kulbuna sahiptirler.

Nefron iki bileşenden oluşur: 1- Böbrek cisimciği (Malpighi cisimciği)

2- Böbrek tübülü

Böbrek tübülü birçok bölümden oluşur: Bunlar proksimal kıvrımlı tübül, Henle kulbu ve toplayıcı tübüle boşalan distal kıvrımlı tübüllerdir.

Toplayıcı tübül, kortikal bölüm ile dış meduller ve iç meduller toplayıcı tübüller olmak üzere üç bölüme sahiptir: Henle kulbunun kalın inen ve kalın çıkan kolları sırasıyla proksimal ve distal kıvrımlı tübüleri, Henle kulbunun ince koluna bağlar (38,41) (Şekil 3).



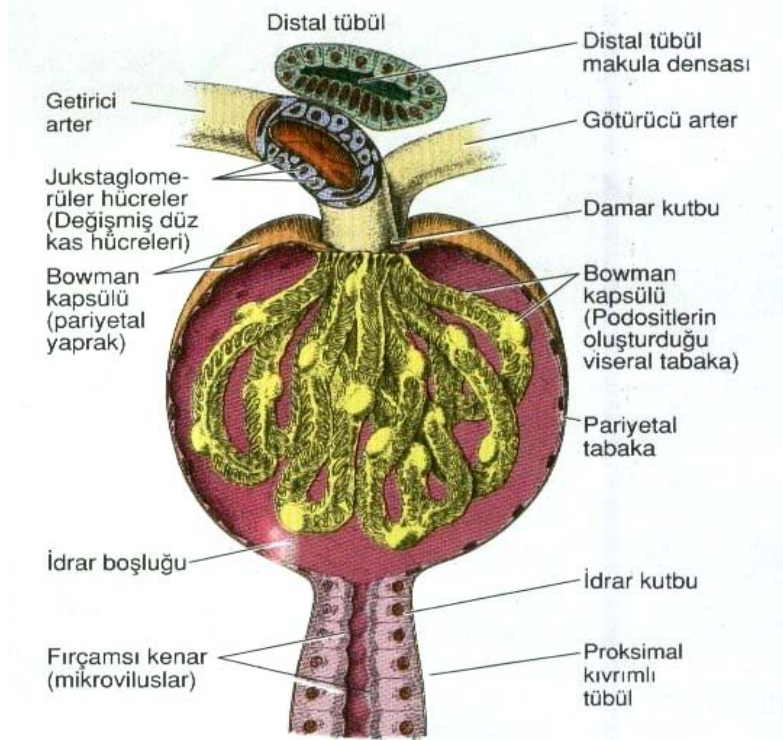
**Şekil 3. Ürinifer tübülün yapısal elemanları ve nefron tipleri (33)**

**Malpigi Cisimciği:** Böbrek cisimciği, Bowman kapsülü denilen, epitelden oluşan çift duvarlı kese benzeri yapıdan ve glomerüler kapiller kümesinden oluşur. Her renal cisimciğin çapı yaklaşık 200 µm'dir (38). Bowman kapsülü glomerül kapillerindeki kandan süzülen filtratı alır. Bu kapsül iki tabakaya sahiptir. Bunlar, kapiller glomerüle tutunan viseral tabaka ve dış kısımda bulunan pariyetal tabakadır. Visseral tabaka, podositler olarak adlandırılan ve bir bazal lamina ile desteklenen epitel hücreleri ile döşelidir. Pariyetal tabaka, basit yassı epiteli destekleyen bir bazal lamina ile kuşatılır ve proksimal tübülün basit kübik (prizmatik) epiteli ile devam eder. Plazma ultrafiltratı (primer idrar) içeren idrar boşluğu (üriner boşluk-Bowman boşluğu), kapsülün visseral ve pariyetal tabakaları arasında bulunur. İdrar boşluğu plazma ultrafiltratının içinden aktığı idrar kutbunda proksimal kıvrımlı tübülün lümeni ile

devam eder. Afferent ve efferent glomerüler arteriyollerin giriş ve çıkış bölgesi olan zıt kutup ise damar kutbu olarak adlandırılır (41).

Glomerül üç bileşenden oluşur.

- 1- Pencereci endotel hücreleri ile döşenen glomerüler kapillerler,
- 2- Mezzngiyal matrikse gömülü mezengiyal hücrelerce oluşturulan mezangiyum,
- 3- Bowman kapsülünün viseral tabakasını oluşturan podositler (41) (Şekil 4).



**Şekil 4. Böbrek cisimciğini oluşturan yapılar ve jugstaglomerüler aygıt (38)**

Embriyonik gelişim sırasında pariyetal tabakanın epiteli nispeten değişmeksizin kalırken içteki viseral tabaka büyük ölçüde değişir. Bu iç tabakadaki hücrelerin gövdelerinden birkaç birincil uzantı şekillenir ve bu hücreler ayaklı hücreler (podositler) adını alır. Her bir primer uzantı ayakçık (pedisel) denen glomerülün kapillerlerini saran çok sayıda ikincil uzantı oluşturur. İkincil uzantılar, 25 nm'lik sabit bir mesafede, bazal lamina ile doğrudan temas halindedirler. Ancak podositlerin hücre gövdeleri ve birincil uzantıları bazal laminaya değmez (38).

Podositlerin sekonder uzantıları birbirleriyle aralarında 25 nm'lik boşluklar oluşturacak şekilde kenetlenirler; bu aralıklar süzülme ya da filtrasyon yarıkları adı verilen yapıları oluşturur. Podositlerin sitoplazmasında bunların kasılabilmesini sağlayan aktin mikrofilaman demetleri vardır (38).



Glomerül kapillerlerindeki endotel hücreleriyle, bunların dış yüzeyini örten podositler arasında kalın bir bazal membran bulunur. Podositler ve pencereci endotel hücrelerinin her ikisi ve bunların ilişkili olduğu bazal lamina, glomerüler süzme bariyerini (glomerüler filtrasyon bariyeri) oluşturur (41). Bu tabaka, kapillerlerdeki kanla idrar boşluğunu birbirinden ayıran bir süzülme engeli oluşturmaktadır. Bu bazal membran kapillerin ve podositin oluşturduğu bazal laminaların kaynaşmasından meydana gelmiştir. Elektron mikroskopik düzeyde bakıldığında, ortada elektron yoğun bir tabaka (lamina densa) ve her iki yanda daha fazla elektron geçirgen bir tabaka (lamina rara) yer alır (33,38). Her iki elektron geçirgen lamina rara, hücrelerin tutunmasına yarayabilecek olan fibronektin içerir. Lamina densa ise negatif yüklü bir proteoglikan olan ve katyonik moleküllerin geçişini engelleyen heparan sülfat içeren bir matriks içinde tip IV kollajen ve lamininin oluşturduğu ağ şeklinde bir yapıdır. Yani glomerül bazal laminası, lamina densanın fiziksel bir filtre olarak iş gördüğü, lamina raradaki anyonik bölgelerin ise elektriksel bir engel oluşturduğu seçici bir makromoleküler filtredir. 10 nm'den daha büyük partiküller bazal laminadan geçemez; molekül ağırlığı albuminin molekül ağırlığından fazla olan negatif yüklü proteinler ise membrandan eser miktarda geçmektedir (38).

Aynı podositten veya komşu podositlerden hücre uzantılarının sonlanmaları olan pediseller, bazal laminayı kaplamak için birbirlerinin içine geçerler ve süzme yarıkları (filtrasyon yarıkları) olan boşluklar ile ayrılırlar (33,41).

Glomerüler kapillerleri oluşturan endotel hücreleri arasında, 70-90 nm çapta bir fenestrata (pencere) bulunur. Ama burada, diğer fenestratalı kapillerlerde bulunan diyafram yapısı yer almaz. 3-4 kapiller birleşip “glomerüler kangal” denen grupçuklar oluştururlar. Bunların eksenlerini “mezangium” meydana getirir. Mezangium, kendi salgıladığı matriks içine yerleşmiş “mezangial hücreler”den oluşur. Bu hücrelerin sitoplazmik uzantıları, kapiller lümenine ulaşacak şekilde endotel hücrelerinin arasına sokulur. Ayrıca mezangial hücreler, kapillerleri saran ve destekleyen amorf yapıda bir madde salgırlar (33,41). Mezangial hücreler; kasılabilir, fagositik, çoğalabilme yeteneğinde, matriks ve kollajen sentezleyen ve biyolojik olarak aktif maddeleri (prostaglandinler ve endotelinler) salgılayan hücrelerdir. Endotelinler, afferent ve efferent glomerüler arteriyollerin kasılmasını uyarırlar (41).

Malpighi cisimciğinin vasküler kutbunda yer alan Jukstaglomerüler aygıt, çeşitli yapılardan oluşan ve küçük bir endokrin fonksiyonu gören bileşendir (Şekil 4). Bunlar; distal kıvrımlı tübülün başlangıç kısmının ayrı bir bölgesi olan makula densa, ekstraglomerüler

mezangial hücreler ve afferent glomerüler arteriyolün, daha az oranda da efferent glomerular arteriyolün renin üreten hücreleri (juktastglomerüler hücreler) dir (33,38).

Maküla densa, NaCl derişimindeki değişikliklere duyarlıdır ve juktastglomerüler hücrelerden renin salınımını etkiler. Renin, NaCl derişimi veya kan basıncı düştüğünde salgılanır. Ekstrastglomerüler mezangial hücreler (lacis hücreleri olarak da adlandırılır), birbirlerine ve juktastglomerüler hücelere gap-junction'larla bağlanırlar (41).

**Böbrek tübülü:** Böbrek cisimciğinin idrar kutbunda, Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli; proksimal kıvrımlı tübüllerin kübik ya da alçak prizmatik epiteli ile devam eder. Bu kısım distal kıvrımlı tübüllerden daha uzundur ve bu yüzden korteks içindeki böbrek cisimciklerinin yanında daha sık görülür. Proksimal kıvrımlı tübüllerin hücreleri çok sayıdaki uzamış mitokondrisi nedeniyle asidofilik sitoplazmaya sahiptir (33,38). Hücrenin tepesinde fırçamsı kenarı oluşturan yaklaşık 1 µm uzunluğunda, çok sayıda mikrovillus bulunur. Bu yüzden tübüllerin lümeni büyük oranda küçülmüş ve daralmıştır (38).

Proksimal tübüller kortekste fazlaca kıvrımlıdır ve medullaya doğru düzleşir. Nefronun en uzun parçasıdır, kortikal parankimanın büyük bölümünü oluştururlar. Proksimal tübüller enine kesitlerde yuvarlak ya da ovaldir. Genellikle dörtten sekize kadar değişen sayıdaki yuvarlak nukleus, her hücrenin merkezinde ya da tabanına doğru yerleşir. Tek katlı kübik ya da alçak prizmatik epitelden oluşan duvarları, merkezdeki düzensiz şekilli lümeni çevreler. Proksimal tübüllerin apikal hücre zarlarında belirgin bir fırçamsı kenar oluşturan çok sayıda mikrovillus bulunması nedeniyle iç sınırları pürüzlüdür. Lateral hücre sınırları kısmen interdijitasyonların yaygın olması nedeniyle ışık mikroskobu ile genellikle belirgin değildir (33).

Proksimal tübül hücrelerinin apikal sitoplazmalarında, mikrovillusların tabanları arasında çok sayıda kanalcık bulunur. Bu kanalcıklar proksimal tübül hücrelerinin makromolekülleri emme yeteneğinde etkin rol oynarlar. Apikal zarların içe doğru yaptığı girintiler pinositotik vezikülleri oluşturur ve bu veziküller içinde glomerül süzgecinden geçen makromoleküller (esas olarak molekül ağırlığı 70 kDa'dan düşük olan proteinler) bulunur. Bu hücrelerin taban bölümlerinde yoğun iç girintiler ve komşu hücreler arasında yan kenetlenmeler bulunmaktadır. Mitokondrionlar hücrenin tabanında yoğunlaşmıştır ve hücrenin uzun eksenine paralel dizilim gösterirler. Mitokondrionların bu şekilde yerleşimi ve hücrenin tabanında zarın yüzey alanını arttıran bu düzenlenme, aktif iyon taşınmasında rol alan hücelere özgüdür. Lateral membran kenetlenmelerinin yaygınlığı nedeniyle (ışık mikroskobunda) incelenen proksimal tübül hücreleri arasındaki hücre sınırları belirgin olarak

seçilemez. Proksimal kıvrımlı tübüller süzüntüdeki glikoz ve aminoasitlerin tümünü, suyun ve sodyum klorürün %85'ini ve ayrıca fosfat ve kalsiyumu emer. Bütün bu fonksiyonlara ek olarak proksimal kıvrımlı tübüller kreatinin gibi maddeleri ve paraaminohippurik asit ve penisilin gibi vücuda yabancı olan maddeleri idrara geçirirler. Bu olay tübüller salgılama olarak tanımlanan aktif bir işlemdir (38).

Henle kulbu, proksimal kıvrımlı tübüllere yapıca çok benzeyen bir kalın inen kol; bir ince inen kol; bir ince çıkan kol ve bir kalın çıkan koldan oluşan U şeklinde bir yapıdır. Kalın çıkan kol yapıca distal kıvrımlı tübüllere çok benzer (38,41). Kalın inen parça, proksimal kıvrımlı tübülün devamıdır. Kalın çıkan parça ise distal kıvrımlı tübül ile devam eder. İnce parçaların uzunluğu kortikal ve jukstameduller nefronlarda farklıdır. Çıkan kol suya geçirgen olmadığından, süzülen suyun geri emilimi, çoğunlukla inen kolda, tübüller ve interstisyel sıvı arasındaki osmotik gradyanla gerçekleştirilir. Henle kulbu, süzölmüş suyun %15 kadarını ve NaCl, K<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup>, ve HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>'ün %25 kadarını geri emer. Kolların kalın parçaları, proksimal tübüllerin epitelyum örtüsü ile değişen alçak kübik epitelyum ile döşeli iken, ince parçalar ise basit yassı epitel ile döşelidir (41).

Jukstamedüller nefronların henle kulbu çok uzundur ve medullanın derinliklerine dek inerler. Bu kulplar kısa bir kalın inen kol, uzun ince inen ve çıkan kollar ile kalın çıkan koldan oluşmuştur. Öte yandan kortikal nefronlarda inen ince kollar çok kısadır ve çıkan ince kol bulunmaz (38).

Henle kulbunun çıkan kalın kolu kortekse girer; belli bir yolu katettikten sonra, büklümelenir ve distal kıvrımlı tübülleri oluşturur. Bu tübül çıkan kol gibi tek katlı kübik epitelle döşelidir. Distal kıvrımlı tübüller proksimal kıvrımlı tübüllerden (her ikisi de kortekste bulunur) fırçamsı kenarlarının ve apikal kanallarının olmaması ve hücrelerinin daha küçük olması ile ayrılır. Fakat, hücrelerde nadiren kısa ve kalın mikrovillus bulunabilir. Bir diğer fark da distal tübül hücreleri proksimal tübül hücrelerine göre daha düz ve daha küçük olduğu için distal tübülde, proksimal tübülde olduğundan daha fazla sayıda nukleus görülür (33,38).

Distal kıvrımlı tübüldeki hücreler iyon geçişinde işlev gösteren daha incelikli bazal membran içe kıvrımlarına ve bunlara eşlik eden mitokondrionlara sahiptirler. Tübüller kortekste izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait böbrek cisimciğinin damar kutbu ile temas halindedirler. Bu yakın temas noktasında distal tübül, aferent arteriyol gibi farklılaşır. Distal kıvrımlı tübül hücreleri bu jukstaglomerüler bölgede genellikle prizmatik hale dönüşür ve nukleusları da biraraya toplanır. Çoğu hücrenin bazal bölümünde Golgi kompleksi bulunur.

Mikroskopik örneklerde nukleusların yakın yerleşimi yüzünden daha koyu renkli görünen bu distal tübül alanı maküla densa (Şekil 4) olarak adlandırılır. Maküla densa hücreleri tübül içi sıvıdaki klorür iyon içeriğine ve su hacmine duyarlıdır, dolaşıma renin salgısını başlatan moleküler sinyaller üretirler (38).

Distal kıvrımlı tübülün distal kısmı, ile toplayıcı kanallar antidiüretik hormon ve vazopressin varlığında suya geçirgendir (41). Distal kıvrımlı tübüllerde aldosteron yoğunluğu yeterince yüksek olduğunda iyon değişimi gerçekleşir: sodyum emilir, potasyum iyonları dışarı verilir. Bu düzenek vücudun toplam su ve tuz içeriğini etkiler (38).

Distal kıvrımlı tübüllerden geçen idrar, birbirlerine bağlanarak daha büyük, düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır (38). Distal kıvrımlı tübülleri toplayıcı kanallara bağlayan toplayıcı tübüllerin çapları, proksimal parçalarda 40 µm'den, renal pelvis'teki toplayıcı kanallara yaklaştıkça 200 µm'ye kadar değişir. Bu kanallar, idrarı iletmek için kortekste, medüller ışınların içinde medullaya doğru uzanan kavisli toplayıcı tübüller olarak başlarlar. Bunlar daha sonra, medullada seyreden düz toplayıcı tübülleri oluşturmak üzere diğer kavisli tübüllerle birleşirler. Medullanın iç kısmında altı ya da yedi düz tübül uç papiller Bellini kanallarını oluşturmak üzere keskin açılarla birleşirler. Medulla piramitlerinin tepe kısmında, papiller kanallar renal papillayı delerek area cribrosa'yı (delikli alan) yaparlar (33).

Küçük toplayıcı tübüller kübik epitelle döşelidir ve çapları ortalama 40 µm'dir. Bu tübüller medullanın derinliklerine doğru indikçe hücrelerin boyu prizmatik olana kadar uzar. Piramitlerin ucuna yakın bölümlerde toplayıcı kanalın çapı 200 µm'ye ulaşır. Toplayıcı tübülleri oluşturan hücreler rutin boyalarla zayıf boyanırlar. Sitoplazmaları az sayıda organel içerir ve elektron geçirgendir. Toplayıcı tübüllerde ve korteksteki toplayıcı kanallarda koyu boyanan ara bir hücre tipi de görülmektedir; bu hücrelerin önemi anlaşılammıştır. Işık mikroskobu ile bakıldığında toplayıcı tübül ve kanal hücrelerinin hücrelerarası sınırları net olarak seçilebilir (38).

Tabanları ince bir bazal membran üzerine oturur ve apikal yüzeyleri geniş bir merkezi lümen ile temas eder. Bunların lateral hücre sınırları, hücrelerarası çıkıntıların ya da invajinasyonların olmayışı nedeniyle, ürinifer tübüllerin diğer parçalarında olduğundan daha belirgindir. Her bir hücre yuvarlak, merkezi bir çekirdeğe, soluk sitoplazmaya ve ürinifer tübüllerin diğer parçalarıyla karşılaştırıldığında nispeten daha az sayıda organelle sahiptir. Nukleusun çevresinde çoğu kez bir hale vardır. Bu hale, çoğunlukla glikojenden dolaydır ki ışık mikroskobu ile genellikle solmuş olarak görülür (33).

Toplayıcı kanallar, farklı işlevsel evreleri gösteren ince yapı farkları olan açık (esas) hücreler ve koyu (interkale) hücreler denilen iki tip epitel hücrelerine sahiptir. Koyu hücreler idrarın asitleştirilmesinde daha aktif rol oynarken, açık hücreler daha çok organeller, apikal veziküller ve bazal katlantılar içerir. Koyu hücrelerin apikal yüzeylerinde de daha çok sayıda, kısa ve kalın mikrovilluslar bulunur; açık hücreler tek bir silyum taşıyabilir. Her iki hücre tipi de sıkı bağlantılar içerir; bazal plazma zarları ince bir bazal membran üzerinde yerleşmiştir. Toplayıcı tübüller arka hipofizden salgılanan antidiüretik hormon tarafından kontrol edilen bir miktar su absorpsiyonu yaparak, idrarı nefrondan renal pelvise taşır. Ayrıca, aktif olarak  $H^+$  ve  $HCO_3^-$  salgılar ve  $K^+$ 'u geri emerler. Toplayıcı kanallar yalnızca taşıma işlevi yapan kanalcıklar olmayıp, ayrıca idrarı yoğunlaştırmada ve asit-baz dengesini düzenlemede rol oynar (33).

### **Böbreğin Kan Dolaşımı**

Böbrek renal arter vasıtasıyla kanı alır. Arter organa girmeden önce iki dala ayrılır. Dallardan birisi böbreğin ön bölümüne, diğeri arka kısmına gider. Arterler hilumda tekrar dallanarak böbrek piramitleri arasında yer alan interlobüler arterleri oluşturacak olan dalları yaparlar. İnterlobüler arterler kortikomedüller alan hizasında arkuat arterleri oluştururlar. Arkuat arterlerden dik açılarla interlobüler arterler kapsüle dik şekilde kortekse giriş yaparlar. Bu arterler, bir medüller ışın ve bitişiğindeki kortikal labirentten oluşan böbrek lobüllerinin sınırını çizerler. İnterlobüler arterden Malpigi cisimciğine giriş yapacak olan getirici (aférent) arteriyoller oluşur. Kan buradan götürücü (eferent) arteriyollere aktarılarak devamında böbrek tübüllerini geri emilim için saran peritübüler kapiler ağına geçer. Medullada düz bir yol izleyen ve sonra yeniden korteks- medulla sınırına doğru kıvrılan kapiler damarlara vaza rekta adı verilir. İnen kapilerler aralıksız tip özelliği gösterirler. Çıkanları ise pencerelidir. Dış kortekste ve böbrek kapsülündeki kapilerler interlobüler venlere boşalan yıldızsı (stellat) venleri oluşturmak üzere birleşirler. Venler arterlerle aynı yolu izleyerek önce arkuat venleri daha sonra ise loblararası venleri oluştururlar. Loblararası venler böbrek venini oluşturmak üzere birleşir, buradan kan böbreği terk eder (33,38).

### **GENTAMİSİN**

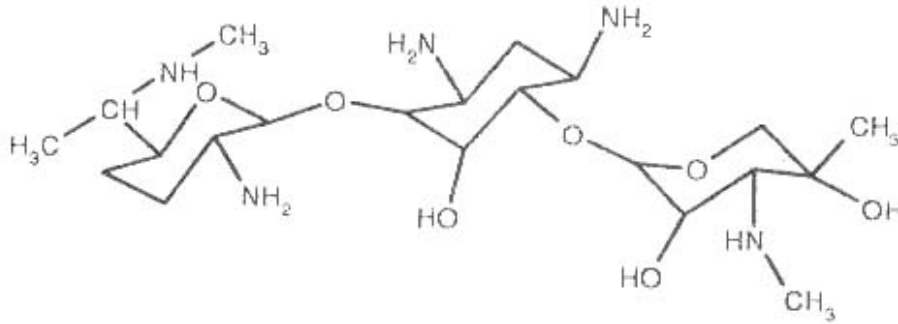
GM, Micromonospora purpurea'dan elde edilen aminoglikozid bir antibiyotiktir. Gerçekte yapıca birbirine çok benzeyen üç GM türünün (GM C<sub>1</sub>, C<sub>1a</sub> ve C<sub>2</sub>) karışımından ibarettir. Aminoglikozid ilaçlar içinde, amikasinden sonra spektrumu en geniş ve antibakteriyel etki gücü en yüksek olanıdır. Plazma proteinlerine hemen hemen hiç

bağlanmaz. Toksisitesinin fazlalığı ve terapötik indeksinin düşük olması nedeniyle böbrek yetmezliği olan hastalarda dozunun ayarlanması ve mümkünse serumdaki düzeyinin izlenmesi gerekir (43).

GM genellikle hayatı tehdit edici Gram-negatif bakterilerin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılan geniş spekturumlu bir aminoglikozid antibiyotiktir. Kimyasal stabilite ve hızlı bakterisidal etkilerinden ötürü çeşitli klinik durumlarda ilk basamak ilaç olarak sıklıkla kullanılırlar (1-3,5). Bununla birlikte, bu antibiyotiklerin yüksek konsantrasyonları nefrotoksiktir ve akut böbrek yetmezlikli olguların %10-20'sinden sorumludur (1,3,4,6). Bazı durumlarda, bu yan etki çok şiddetli olursa ilacın kullanımının bırakılması gerekebilir. Nefrotoksisitenin bu etkileri aminoglikozidlerle 7 günden daha fazla tedavi edilen hastaların %30 unda ortaya çıkmaktadır (1,5).

Daha yeni ajanlar olan üçüncü jenerasyon sefalosporinler ve azitronam, aminoglikozidler gibi terapötik ve ucuz olmasına, nefrotoksisiteyle çok bağlantılı olmamasına rağmen aminoglikozidler hala geniş çapta kullanılan antimikrobiyal ajanların arasında yer almaya devam etmektedir. Bu, onların hızlı sonuç vericiliği, farmakolojik, toksik ve terapötik özelliklerinin diğer yeni ajanların özelliklerine göre çok daha iyi bilinmesinden dolayıdır (1).

Kimyasal yapıları yönünden ortak özellikleri, moleküllerinin, bir heksoz (aminosiklitol) kısmına bağlı aminoşekerlerden oluşmasıdır. GM'nin kimyasal yapısı Şekil 5' de gösterilmiştir (44).



**Şekil 5. Gentamisinin kimyasal yapısı (44)**

GM ve diğer aminoglikozidler, çok katyonlu ve polardırlar. Gastrointestinal sistemde emilmezler fakat im. veya sc. enjeksiyondan sonra hızlıca emilim gösterirler. Ayrıca intravenöz veya intratekal olarak da verilebilirler. Plazma proteinlerine bağlanma minimaldir (1,43). GM plasentanın diğer tarafına geçebilir fakat kan-beyin bariyerinden içeri merkezi sinir sistemine geçmez veya göze penetre olmaz. Doku düzeyleri renal korteks dışında küçüktür. Plazmanın yarı ömrü 2-3 saattir. Atılımı hemen hemen bütünüyle böbrekteki

glomerüler filtrasyonla olur (1). Nefrotoksik bir ilaç olan cisplatin, GM ile eş zamanlı tedavi edildiğinde, GM atılımı bir hafta içinde azalır. Sonuç olarak antibiyotik seviyeleri, plazma ve doku içinde artar (45). Aminoglikozidlerin toksisitesinin metabolitleri aracılığı ile olduğu ileri sürülmüş ancak Sanders ve ark. (46)'nın yaptığı çalışmada GM öncesi ilacın metabolizma inhibitörünü kullanmış ve GM nefrotoksitesini etkilemediğini göstermişlerdir. Bu, toksisitenin bir metabolitin değil ilacın kendisine bağlı bir belirti olduğunu gösterir.

### **Patoloji ve patofizyolojisi**

GM verildikten sonra glomerülden süzülür ve süzülen ilacın %2-5 gibi küçük bir oranı sadece bağlanır ve aktif olarak proksimal tübül hücrelerine taşınır. İlaç, proksimal tübül hücrelerine apikal fırçamsı yüz ve bazolateral yüzlerden endositoz yolu ile alınarak lizozomlarda birikir. Fırçamsı kenar transportu nefrotoksitesite için daha önemlidir çünkü mitokondri ve mikrozomlar gibi anahtar organellerdeki kritik bölgelere ilacın maruz kalmasını sağlar (47). Ancak tübüldeki antibiyotik konsantrasyonu her zaman nefrotoksitesite ile paralellik göstermez. GM, glomerülden filtre olduktan sonra, proksimal tübül hücrelerine bu hücrelerde bulunan megalin reseptörüne bağlanarak geçer ve özellikle proksimal tübülün daha çok kıvrımlı bölümünü içeren S1 ve S2 kısımlarında birikerek toksik etkisini gösterir. (1,6,7). İlacın proksimal tübülde geri emilim mekanizmasının L-lizin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir Bu yüzden GM ve L-lizin böbrek proksimal tübül hücrelerinin apikal membranında lokalize olmuş özel bir geri emilim mekanizmasını paylaşırlar (48).

GM verildikten sonra lizozomlarda oluşan birikim lizozomal fosfolipidozise neden olup morfolojik olarak sıkıca yapışmış iki tabakadan organize olmuş ozmiofilik bir materyal şeklinde “myeloid cisim” olarak isimlendirilir. Bazolateral membran katlantılarında azalma, fırçamsı kenarda mikrovillus kaybı ortaya çıkan ultrastrüktürel değişikliklerdir (9). Diğer görülen değişiklikler de bazal membran erozyonları, proksimal tübül hücre şişkinliği ve fırçamsı kenar kayıpları, tübül atrofisi veya dilatasyon, interstisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonlarıdır (8). GM'nin genellikle proksimal tübül işlevine olumsuz etkileri olduğu kabul edilmesine rağmen Henle kulbunun kalın çıkan kolunda kısmen transportun azalmasına bağlı olarak idrar ve elektrolit atılımının arttığına dair veriler bulunmaktadır. Yine GM verilmesi ile kortikal distal tübüllerde de hasar, rejenerasyon ve apoptozis ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (1).

### **Etki Mekanizması**

Aminoglikozidler çok sayıda mikroorganizmaların protein sentezini irreverzibl bir şekilde inhibe ederek bakterisid bir etki oluşturlar. Bakteri hücresinin periplazmik aralığında porlu kanallara kadar girerler (43,44). Sitoplazmik membrana penetrasyonları aktif olup enerji ve oksijen varlığı gerektirir (44).

Aminoglikozidler, ribozomdaki hedeflerine ulaşmak için bakterilerin önce dış membranlarını sonra da sitoplazmik membranlarını aşmak zorundadırlar. Bu geçiş genellikle oldukça hızlı bir şekilde olmaktadır. Dış membrana bağlandıktan sonra, aminoglikozidler gram pozitif bakterilerin dış membranlarının peptidoglikan aralıklarına, ya da gram negatif bakterilerin dış membranlarındaki porlarına sızarak pasif transportla geçiş yaparlar. Ribozomlara aktif transportla bir enerjiye dayalı olarak taşınabilmek için sitoplazmik membrana bağlanırlar (44). Ribozomların 30 S alt birimlerine bağlanarak ribozomlarda protein sentezini inhibe ederler (43).

### **Yan Etkileri**

Aminoglikozidlerin nefrotoksik, ototoksik ve nörotoksik olmak üzere üç önemli ortak toksik etkileri vardır. Bunlar doz-bağımlı toksik etkilerdir (43). Bu toksik etkilere parenteral uygulamalarda daha sık rastlanılmaktadır. Aminoglikozidlerin neden olduğu böbrek bozuklukları (nefrotoksisite) genellikle reverzibldir. Buna karşın, işitme ya da denge organı (cochleovestibuler sistem) üzerine olan toksik etkileri (ototoksisite) irreverzibldir. Ayrıca, Aminoglikozidlerin alerjik etkilerinin yanı sıra (44), ağız çevresinde ve ekstremitelerde parestezi de yapabilmektedir (43).

### **Gentamisin Nefrotoksisitesinin Mekanizmaları**

GM nefrotoksisitesinin olası mekanizması(lar)ını aydınlatmak için çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür. Bazı ileri sürülen mekanizmaları şunlardır:

1. Hidroksiradikaller. Hydroxyradikaller doku hasarında güçlü mediatörlerdir. bunlar Fenton reaksiyonu yolu ile metal şelatörlerle reaksiyona girebilirler ve çoklu doymamış yağ asitleri içeren geniş çeşitlilikte organik bileşikleri oksitleyebilirler, hücre membran hasarı ve protein dejenerasyonuna neden olurlar.

2. Böbrek korteksinde fosfolipid üretimi artışı,

3. Na<sup>+</sup>- K<sup>+</sup>-ATPaz inhibisyonu,



4. Tromboksan A<sub>2</sub> ve prostoglandinler,
5. Mikrozomal protein sentezi etkisi,
6. Lizozomal hasar,
7. Mitokondriyal hasar ve
8. Vasküler faktörlerdir (1).

### **Kullanım Dozu**

Aminoglikozid antibiyotikler eskiden genellikle, günlük dozlarını üçe bölmek suretiyle 8 saat ara ile bazen de ikiye bölünerek verilmekteydi. Ancak, günde tek doz uygulaması giderek yerleşmeye başlamıştır. Bu uygulama en azından, günde 3 dozda yapılan standart uygulama kadar etkili, daha az toksik ve daha düşük maliyetlidir (43).

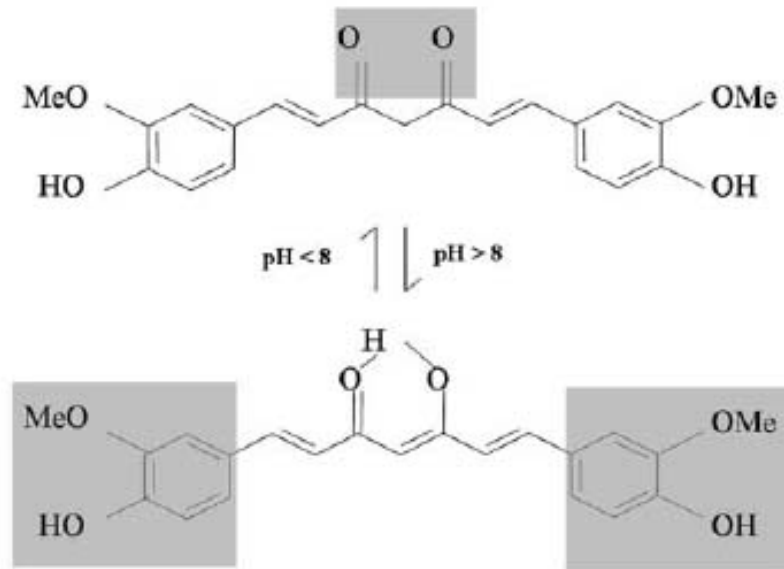
Günde tek dozluk uygulamanın gerekçe ve yararları vardır. Bunlardan bir tanesi, aminoglikozidlerin bakterisid etkisinin, doz bağımlı olmasıdır. Bir seferde daha yüksek dozda verilmeleri daha yüksek konsantrasyon ve daha hızlı gelişen bakterisid etki yapar. Plazmadaki konsantrasyonun MİK'in üstünde kalması, bu durumda, günde 3 seferlik uygulamadaki toplam süreye göre daha uzun olur. Ayrıca postantibiyotik etkileri uzundur. Bu nedenle konsantrasyonları MİK'in altına düştüğü sırada bile etkileri, göreceli olarak uzun sürer. Günde tek doz verilmeleri halinde plazma konsantrasyonu günün büyük kısmı boyunca göreceli olarak düşük kalır; böylece böbrek korteksi ve iç kulakta birikmeleri daha az olur. Sonuçta bu yerlerle ciddi toksik etkileri azalır, daha güvenli olurlar. Verilişi ve serum düzeylerinin izlenmesi daha seyrek yapıldığı için tedavi maliyeti düşer, hasta daha az rahatsız edilir ve ayaktan tedavi kolaylaşır (43).

Bazı ajanlar (poliaspartik asit gibi) GM nefrotoksitesine karşı koruyucu olmasına rağmen, GM'nin böbrekteki konsantrasyonunun aslında kontrollerden 10 kat daha fazla olduğu görülmüştür veya farklı olmadığı rapor edilmiştir. Öte yandan GM'nin böbrekteki birikiminin azaltılması her zaman koruma göstergesi olmayabilir (1). Örneğin, GM ve 5-piridoksal-fosfat birlikte verilen sıçanlarda böbrek GM düzeyi tek başına GM ile tedavi edilen ratlarla karşılaştırıldığında %40 civarında azaltılmıştır. Ancak bu nefrotoksitesine karşı koruma ile ilişkili olmamıştır (49). Fosfolipitlerin verilmesi, böbrek korteksindeki GM konsantrasyonu önemli derecede etkilemeden GM nefrotoksitesini azaltmıştır (50). Yine süperoksit dismutazın ve dimethylthiourea'nın GM nefrotoksitesine karşı böbrekteki

kortikal GM içeriğini etkilemeden koruduğu rapor edilmiştir (51). Bu sonuçlar, nefrotoksisitenin değerlendirilmesi için ilacın böbrekte konsantrasyon ölçümünün önemsiz olduğunu göstermez, sadece ilacın böbrekte varlığı her zaman nefrotoksisiteye yol açmayacağını ileri sürer.

## CURCUMİN

CMN, Zingiberaceae (Zencefilgiller) familyasına ait *Curcuma longa* bitkisinin yumrusundan elde edilir. Köri gibi baharatlar, tatlandırıcı ve renklendirici gereçler ve besinlerin bozulmasını önleyici maddeler olarak dünyanın her yerinde çok eski zamandan beri kullanılırlar. Ayrıca, Çin Hindistan, ve diğer Asya ülkelerinde inflamasyon ve burkulmaların tedavisinde etkilidirler (11,18,19,22,29). Bunların yanında sindirim güçlüğü, hepatit türleri, sarılık, diyabet türleri, ateroskleroz ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde de kullanım alanları vardır. İlk kez 1870 yılında elde edilmiştir fakat kimyasal yapısı 1910' lara kadar aydınlatılamamıştır. *Curcuma longa*, 100 cm uzunluğa erişebilen kısa gövdeli çokyıllık bir bitkidir (52). Çoğu doğal antioksidan; ya fenolik ya  $\beta$ -diketon grubu içerirken, CMN aynı molekülde hem fenolik hem de  $\beta$ -diketon grubu içeren birkaç doğal antioksidandan biridir. Ayrıca, suda hemen hemen hiç çözünmeyip, vitamin E gibi yağda çözünebilen bir özelliğe sahiptir (18,19,20). CMN, oral yolla alındıktan sonra barsaklardan emilerek, kana ve böylece dokulara dağılır, daha sonra safra yolu ile atılır (53). Kimyasal yapısı Şekil 6'da gösterilmiştir (52).



Şekil 6. Curcuminin kimyasal formülü (52)

CMN'nin güçlü bir antioksidan olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (11,20-22). Antioksidan etkinliği, reaktif serbest radikallerin tutulumu yada hidrojen peroksit gibi oksijen içeren bileşenlerin tutulumu veya metallerin şelasyonu şeklinde olduğu düşünülmektedir. Curcumin ve analoglarının peroksidatif hasara karşı biyolojik membranları koruyucu olduğu bilinmektedir (20). Bu antioksidan aktivite yanında, antitümöral (23), antiinflamatuvar (24) ve antidiyabetik/hipoglisemik (25), antibakteriyel (26), yara iyileştirici (27) etkileri de rapor edilmiştir. Renal hücre serilerinde CMN'nin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi, in vitro olarak gösterilmiştir (28,29). Bu özelliklere ek olarak; CMN'nin kandaki kolesterol seviyesini düşürme, platelet agregasyonunu inhibe etme, kan pıhtılaşması ve miyokardial enfarktüsü baskılama, insandaki immünyetersizlik virüsü (HIV) çoğalmasını inhibe etme, safra salgısını artırma, karaciğer hasarı, katarakt oluşumu, pulmonar toksisite ve fibrozisten koruma, anti-leishmanian ve anti-atherosklerotik özellik gösterme gibi etkileri de bulunmaktadır. CMN yüksek dozlarda toksik etki göstermez ve "National Cancer Institute" tarafından genel olarak güvenilir olduğu tanımlanmıştır (19).

CMN'nin antioksidan etki göstermesinin yanında, p38 MAPK aktivitesini azaltıcı etkisi olduğu da düşünülmektedir. Yapılan bazı çalışmalara göre CMN ile tedavi edilen çeşitli hücre ya da dokularda MAPK sinyal yolları üzerinden CMN'nin inhibe edici etki gösterdiği ileri sürülmüştür (30-32).

## **MİTOJENLER TARAFINDAN AKTİVE EDİLEN PROTEİN KİNAZ (MAPK)'LAR**

MAPK'lar; insan, bitki, hayvan, böcek, tek hücreli ve mayalarda yer alan sinyal iletim yollarında görev alan bir dizi protein kinazlardır (54). MAPK'lar; hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve hücre ölümü ile ilgili çeşitli sinyallerin düzenlenmesinde büyük rol oynarlar (15).

MAPK'ların da aralarında bulunduğu protein kinazlar sinyal iletimi sırasında protein fosforilasyonunu (aktivasyonunu) sağlarlar. Membran yerleşimli olanlar ve sitoplazmik tirozin kinazlar olarak iki kısma ayrılan bu proteinler fosforilasyona uğrayan aminoasit türüne göre ise tirozin ve serin/ treonin kinazlar olarak sınıflandırılırlar (55). Bu sınıflandırmada MAPK'lar serin/ treonin kinazlar arasında yer almaktadır (32,54,56).

MAPK yolu reseptörler vasıtasıyla gelen sinyalin hücre içerisine iletiminden sorumludur (57,58) ve hücre içi sinyal iletiminde başlıca bileşen olarak görev alırlar (16). Gelen uyarılar nükleusa iletilir (17). MAPK enzimleri, Mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz kinaz kinaz (MAPKKK)- Mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz kinaz

(MAPKK)- MAPK olarak yukarıdan aşağıya reseptör-hedef şeklinde bağlantılıdır (59). Bu iletim G-proteininin aktivasyonu ile başlar (Ras aktivasyonu). MAPKKK'ın aktive olmasıyla sırasıyla MAPKK ve MAPK aktivasyona uğrarlar (57,58). Sonuç olarak MAP kaskatı oluşur (16,58).

MAPKKK'lar dışarıdan gelen sinyallerle aktif hale geldikten sonra MAPKK'ı serin/treonin motifinden fosforile eder. Aktif hale gelen MAPKK, substratı olan MAPK'ın treonin ve tirozin aminoasitlerini fosforile ederek MAPK'ı aktif hale getirir. Bu özelliklerinden dolayı MAPKK enzim ailesi treonin ve tirozini fosforile edebilen çift-spesifiteye sahip kinazlar olarak adlandırılırlar (54). Aktive olan MAPK ise sitoplazmik substratlarını veya nukleusta transkripsiyon faktörlerini fosforilasyon yoluyla aktive eder. Sonuç olarak hücrenin gelen sinyale karşı vereceği biyolojik cevap oluşur (57,58).

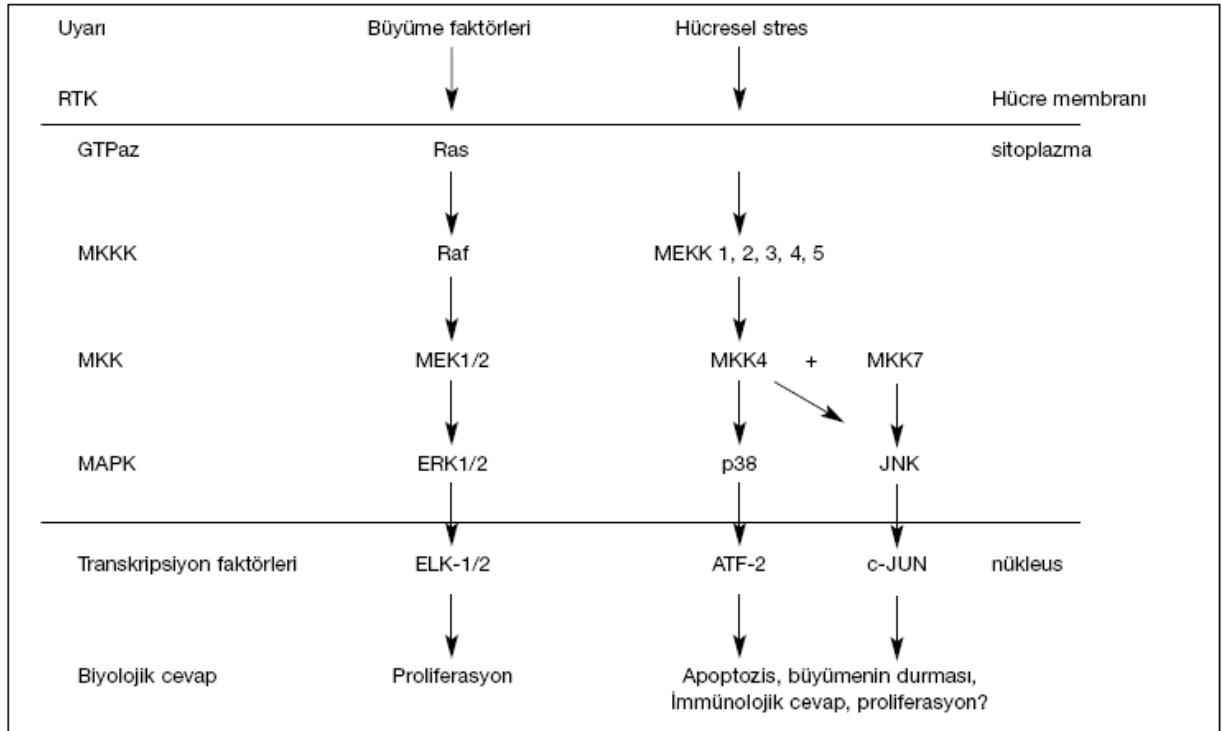
Genel olarak MAPK' lar nukleusta özgül genlerin transkripsiyonu ve/veya ribozomlarda gerçekleşen translasyonu stimüle edebilirler. Ayrıca bazı yapısal faktörlerin aktivasyonunu sağlayabildikleride görülmüştür. Bu etkileriyle hedef hücrelerde proliferasyon, farklılaşma, hipertrofi, morfolojik değişimler, apoptozla hücre ölümünün engellenmesi, glikojen ve küçük ısı şok proteinlerinin sentezinin artırılması ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi gibi olaylara aracılık ederler (60).

MAPK'lar kendi içlerinde üç alt birime ayrılır;

- 1- p38 MAPK
- 2- JNK (Jun N-terminal kinase) MAPK
- 3- ERK (Extracellular signal regulated kinase) MAPK (16,30,54,55,57,60,61).

Sayılan MAPK alt grupları sırasıyla G proteine bağlı reseptörler, iskemiye de içeren hücrel stres oluşturan faktörler ve fosfolipaz C tarafından aktive edilirler (62).

Şekil 7'de MAPK'lara ait sinyal iletim şeması ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



**Şekil 7. MAPK ailesi ve sinyal iletimi (58)**

### **p38 Sinyal İleti Yolu**

p38 MAPK her yerde bulunabilen, inflamatuvar cevap oluşturulmasında önemli bir rol oynayan ve yüksek derecede koruma sağlayan bir protein kinazdır (15). p38 MAPK'ların tanınması, sinyal yollarının aktivasyon ve regülasyonlarının öğrenilmesi yaklaşık 10 yıl öncesine dayanmaktadır (16). Çevresel strese karşı cevap oluşturan önemli bir düzenleyicidir ve hedefleri; transkripsiyon faktörleri, translayon mekanizmasının komponentleri ve serin-treonin kinazlardır (57).

p38 ailesinin iki üyesine ait inhibitörlerin prelinik hastalık modellerindeki anti-inflamatuvar etkileri gösterilmiştir. Öncelikle inflamatuvar arabulucuların ekspresyonlarının inhibe edilmesi bunlardan birini oluşturmaktadır (16).

p38 MAPK'ların 4 izoformu bulunur. Bunlar p38 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  şeklindedirler. Hepsi türdeş özellikler gösterirler ve MAPK'larla işlenen Thr-X-Tyr deki Thr ve Tyr nin fosforilasyonu ile aktive edilirler (15). p38 $\alpha$  SAPK2a, p38 $\beta$  SAPK2b, p38 $\gamma$  SAPK3 ve p38 $\delta$  ise SAPK4 olarak da isimlendirilirler ve bu enzimlerin hepsi MAPKK 6 tarafından fosforile ve aktive edilir (57).

p38; UV ışınları, sodyum arsenat, ısı şoku, bakteriyel lipopolisakkarit, proinflamatuvar sitokinler gibi birçok çevresel faktöre bağlı olarak aktive olur. Hücre döngüsünün ilerleyişi,

diferansiyasyon, apopitozis ve inflamatuvar cevap gibi fizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadırlar (57).

İnsan p38 $\alpha$  MAPK öncelikle interlökin-1 gibi inflamatuvar sitokinlerin biyosentezini durduran piridinil imidazol sınıfı bileşenlerin ve insan monositinde uyarılmış lipopolisakkaritlerdeki tümör nekroz faktörlerin moleküler hedefleri olarak tanımlanmışlardır. Murin p38 $\alpha$  MAPK inflamatuvar sitokinler ve LPS tarafından aktive edilmiş önemli bir fosfolipit olarak değerlendirilir. Şimdiye kadar 4 değişik bağlantısı tanımlanmış olup, bunların içerisinde p38 $\alpha$  MAPK, en iyi karakterize edilen ve belki en çok fizyolojik olarak inflamatuvar cevap veren kinazdır. Gen veritabanı araştırmalarına göre tanımlanan ek izoformları p38 $\beta$  ve p38 $\beta$ 2 %70 oranında p38 $\alpha$  den çoktur. Hem p38 $\alpha$  hem de p38 $\beta$ 2 nin çeşitli doku türlerinde yer aldığı ancak, fakat farklı fonksiyonlar gösterdikleri ileri sürülür. Örneğin, p38 $\alpha$  ve p38 $\beta$ 2 aktivitelerinin farelerde oluşturulan ventriküler hipertrofi modelinde artış gösterdiği ayrıca p38 $\beta$ 2 aktivitesinin kardiyomiyosit hipertrofisine neden olduğu gösterilmiştir. Bu modelde p38 $\alpha$  aktivitesinin artışı ise kardiyomiyositlerdeki apopitoziste azalmayı sonuç vermiştir. Ayrıca başka araştırmalarda da SAPK3 ve MAPK12 olarak bilinen p38 $\gamma$  ve SAPK4 ve MAPK13 olarak adlandırılan p38 $\delta$  tespit edilmiştir. Fonksiyonları tam olarak kesinlik kazanmamıştır. p38 $\gamma$  varlığı iskelet kasında ifade edilirken, p38 $\delta$  ise daha çok çeşitli dokuların gelişimleri sırasında karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda, p38 $\gamma$ 'in hem normal hem de hasta insan kalbine ait myositlerde ve ratlardan elde edilen normal ve hipertropik kültürlerde de gösterildiği ifade edilmektedir. p38 $\gamma$ , kalp patolojisinde önemli bir role sahip olabilir (16).

İnsanlarda p38 MAPK enzim aktivasyonunun apopitozise neden olduğu (63,64) ve bu durumun kanser terapisi çalışmalarında tümör hücrelerinin programlı olarak yok edilmesinde kullanılabilecekleri ileri sürülmüştür (54,63,65).

### **JNK Sinyal İleti Yolu**

JNK sinyal iletim yolu stresle aktive olan protein kinaz (SAPK) ailesinde yer alır. Hücre, hücre dışından gelen strese karşı, JNK'nın sağladığı bağlantı sayesinde cevap oluşturur. Hücrelerin maruz kaldığı endotoksin, reaktif oksijen türleri, proinflamatuvar sitokinler, kemositokinler, seramidler, büyüme faktörleri, ışınlama ve ozmotik stresler gibi etkenler, fosforilasyon reaksiyonlarında yer alan JNK gibi özel sitoplazmik kinazların aktivasyonuna neden olurlar (66).

JNK'lar kendi içerisinde 3 tip izoforma sahiptir. Bunlar JNK-1, JNK-2 ve JNK-3 olarak adlandırılırlar (67). JNK sinyal ileti yolu (JNK1-2-3), MKK4 ve MKK7 tarafından aktif hale

getirilirlir. Ayrıca hücre içerisinde zıt fonksiyonlara sahiptirler fakat en iyi bilineni, gerek hücrel ve gerekse çevresel birtakım stres faktörlerine maruz kaldığında, apoptozisi tetiklemeleridir. Bu yolda sinyal, c-Jun'u fosforile ederek transkripsiyon faktörlerini aktive eden protein AP-1 (Aktivatör protein-1/Activator protein-1)'i etkin hale getirir. Sonuç olarak hücre proliferasyonu artar (68).

### **ERK Sinyal İleti Yolu**

ERK, MAPK süper ailesine ait bir sitoplazmik sinyal iletim yolağıdır. Hücre membran reseptörleri ve düzenleyici fonksiyon gösterdikleri hedefleriyle ilişkili enzimlerin yüksek derecede korunduğı bir ailedirler ve bu yönleriyle büyük öneme sahiptirler (69). ERK memeli hücrelerinde ilk olarak tanımlanan MAPK üyesidir (70). Hücre tipine bağılı olarak uyarı, aktivasyon süresi belirlenmesi ve biyolojik yanıt oluşumu (hücre proliferasyonu, göç, diferansiyasyon ve apoptoz gibi) ERK ile ilgilidir (71). Büyüme faktörleri ile ve hormonlarla aktive olurlar (57). ERK aktivasyonu; protein-treonin kinazlar veya G proteinleri-eşlikli reseptörler aracılı büyüme faktörü ile uyarılıp, hücre proliferasyonunda santral rol oynarlar (70).

ERK grubu kendi içinde sekiz alt grup bulundurur. Bunlar ERK1-2-3-4-5-6-7 ve 8'dir (71). Tüm sinyal yolağlarının içerdiği ardı ardına gerçekleşen MAPKKK- MAPKK- MAPK aktivasyonlarının yanı sıra ERK 1/2 sinyal yolağı dikkate alındığında, primer olarak giren aktivatör Ras ve küçük bir GTPaz dır. Yolağın aktivasyonu ile öncelikle Ras'ın aktivasyonu daha sonra bir serin-treonin protein kinaz olan Raf'ın Ras tarafından fosforillenerek aktivasyonu gerçekleştirilir. Daha sonra Raf MEK-1 ve MEK-2'yi aktive eder ve bu basamaktan sonra ERK-1 ve ERK-2'nin aktivasyonu meydana gelir (68).

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Araştırma Birimi'nde üretilen, 3 aylık, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 40 adet erkek *Wistar albino* sıçan kullanıldı. Aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip erkek deneklerden, vücut ağırlıkları birbirine yakın olanlar aynı grupta olacak şekilde; biri kontrol, 3'ü deney grubu olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Tüm denekler, deney süresi boyunca optimum laboratuvar koşulları ( $22\pm 1$  °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve %21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina) beslendi.

CMN (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), içinde rahat çözünmediği ve stabilitesini koruduğu bir solüsyon olan Dimetilsülfoksit (DMSO) içinde çözülerek hazırlandı. Gruplar aşağıdaki şekilde düzenlendi:

**Grup 1 (Kontrol):** Dimetilsülfoksit (DMSO), intragastrik (ig.) yol ile 15 gün boyunca verildi (n=10).

**Grup 2 (Curcumin):** CMN (100 mg/kg, DMSO içinde çözülerek) ig. yol ile 15 gün boyunca verildi (n=10).

**Grup 3 (Gentamisin):** GM (Gentreks ampul, Bilim, İstanbul, Türkiye, 80 mg/kg), intraperitoneal (ip.) olarak 10 gün boyunca verildi (n=10).

**Grup 4 (Gentamisin+Curcumin):** CMN (100 mg/kg, DMSO içinde çözülerek) ig. yol ile 15 gün ve son 10 gün boyunca GM (80 mg/kg) ip. olarak verildi (n=10).

Kontrol grubuna ig. yol ile 15 gün boyunca DMSO (CMN ile eşit hacimde); 3. gruba ip. olarak 10 gün boyunca GM (80 mg/kg); 2. ve 4. gruba, ig. yol ile 15 gün boyunca CMN (100 mg/kg, DMSO içinde çözülerek) ve ek olarak yine 4. gruba ip. olarak son 10 gün boyunca



GM (80 mg/kg) verilerek, 15. günün sonunda im. yoldan 80 mg/kg ketamin (Alfamin, Alfasan International B.V., Woerden, Hollanda) ve 5 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer, İstanbul, Türkiye) anestezisi altında hayvanlar sakrifiye edilerek deney sonlandırıldı. Bütün grupların böbrek doku örnekleri alındı ve bu örnekler histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için rutin işlemlere tabi tutuldu. Yine sakrifiye edilen hayvanlardan kardiyak ponksiyon yolu ile kan örnekleri elde edilerek serum üre ve kreatinin değerleri Merkez Laboratuvarı'nda Biyokimya Otoanalizörü (Siemens Advia 1800 Otoanalizör, Almanya) ile spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Ayrıca deney başında ve deneyin sonunda ağırlık takibi yapılan deneklerin, deney sonunda böbrek ağırlıkları da ölçülerek, her bir denek için ortalama böbrek ağırlığı (g)/vücut ağırlığı (g) olarak hesaplandı.

Histolojik incelemeler için alınan böbrek dokuları, %10 formol ile fikse edildi. Parafin inklüzyonu yapıldıktan sonra elde edilen parafin bloklardan 5 µm kalınlığındaki kesitlere hematoksilin+eozin (H+E), Masson trikrom ve periyodik asit Schiff+hemalen (PAS+HL) boyaarı uygulanarak böbrek histolojik yapı değişiklikleri ışık mikroskopunda (Olympus BX-51, Japan) incelenerek fotoğraflandırıldı (72). Histolojik yapı değişiklikleri; yok (-), nadir (±), az (+), orta (++) , fazla (+++) , çok fazla (+++++) olarak değerlendirildi (73).

Ayrıca yine parafin bloklardan elde edilen 5 µm kalınlığındaki kesitler, bir gece 56 °C etüvde bekletildikten sonra deparafinizasyon işlemini takiben suya indirildi. Antijen geri kazanımı için kesitler, 15 dakika 10 mM'lık sitrik asit tamponunda (pH 6) mikrodalgada kaynatıldı. Oda sıcaklığında 15 dk soğumaya bırakıldıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için 15 dk süre ile metanolde hazırlanan %3 hidrojen peroksit ile muamele edildi. Tris tampon solüsyonu (TBS) ile yıkandıktan sonra, özgün olmayan antijenleri bloklamak amacı ile TBS içerisinde hazırlanmış % 5 normal keçi serumunda (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) 30 dk oda sıcaklığında nemli çember içerisinde bekletildi. Daha sonra yine aynı çember içerisinde kesitler, primer antikor (monoklonal tavşan fosfo (f)-p38 antikor 1:300 oranında dilüe edilerek, Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA) ile gece boyunca 4 °C'de inkübe edildi. Bunu takiben TBS ile 3 kez yıkamanın ardından 1/400 oranında dilüe edilmiş sekonder antitavşan antikor (Vector Laboratories) ile oda sıcaklığında 30 dk muamele edildi. Yine 3 kez TBS ile yıkama sonrasında, avidin-biotin-peroksidaz kiti 30 dk uygulanarak kromojen olarak 3-amino-9-ethylkarbazole (AEC, Life Science Division, Mukilteo, WA, USA) kullanıldı. Akar suda 5 dk. yıkanan kesitlere daha sonra hematoksilin zıt boyama uygulandı. Tekrar sudan geçirilen kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, ScyTek Laboratories, Logan, Utah, USA) ile kapatıldı (74,75).

Yapılan f-p38 immünoaktivitesi histolojik skorlama yöntemi ile semikantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirmeler, her bir preparatta böbrek korteksinde rastgele 5 alan seçilerek x40 büyütme kullanılarak ışık mikroskopunda (Olympus BX-51, Japan) yapıldı. Skorlama, kesitlerde immünoaktivite gösteren hücrelerin yüzdesi ve boyanma derecesi dikkate alınarak, negatif (-), çok zayıf pozitif ( $\pm$ ), zayıf pozitif (+), pozitif (++), kuvvetli pozitif (+++), çok kuvvetli pozitif (++++) olarak değerlendirildi (76).

Deneklere ait veriler, istatistiksel olarak Kruskal Wallis testi ile 4 grup arası karşılaştırmaları yapılarak değerlendirildi. Anlamlı fark bulunduğunda farklılığın hangi grup/gruplardan kaynaklandığını saptamada ortalama rank çoklu karşılaştırma testi kullanıldı.  $P < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı 7.0 lisanslı istatistiksel paket programı (Lis no: AXF003C775430FAN2) kullanıldı, değerler ortalama  $\pm$  standart deviasyon (SD) olarak alındı.

## BULGULAR

Çalışmanın 15. gününde, kontrol ve deney gruplarına ait deneklerden elde edilen kan örneklerinden serum üre ve kreatinin değerleri ölçülerek karşılaştırması yapıldı. Yine deney sonunda alınan böbrek doku örnekleri, histolojik ve immünohistokimyasal düzeyde karşılaştırılarak incelendi. Ek olarak, denek ağırlıkları deney başında ve sonunda ölçülerek ağırlık değişimi, böbrek ağırlıkları da deney sonunda ölçülerek böbrek ağırlığı/vücut ağırlığı oranı hesaplandı.

Gözlemlerimiz;

1. grup: 15 gün boyunca ig. yol ile DMSO verilen kontrol grubu,
2. grup: 15 gün boyunca ig. yol ile CMN (100 mg/kg, DMSO ile çözülerek) verilen grup,
3. grup: 10 gün boyunca ip. olarak GM (80 mg/kg) verilen grup
4. grup: 15 gün boyunca ig. yol ile CMN (100 mg/kg, DMSO içinde çözülerek) ve son 10 gün boyunca ip. olarak GM (80 mg/kg) verilen grup bulguları olarak değerlendirildi.

### HAYVAN AĞIRLIK BULGULARI

Deneyin başında ve sonunda deneklerin vücut ağırlıkları ölçülmesi sonucunda, kontrol ve CMN gruplarındaki deneklere kıyasla GM verilen deneklerin vücut ağırlıklarında anlamlı bir azalma ( $P < 0.001$ , Tablo 1) buna karşın böbrek ağırlığı/vücut ağırlığı oranında artış gözlemlendi ( $P < 0.05$ ). GM+CMN grubunda ise GM grubu ile karşılaştırıldığında deneklerin vücut ağırlıklarındaki düşüşte azalma olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine

GM+CMN grubu GM grubu ile karşılaştırıldığında, böbrek ağırlığı/vücut ağırlığı oranında anlamlı bir azalma gözlenmedi (Tablo 1).

**Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarının vücut ağırlıkları (VA) değişimi ve böbrek ağırlığı/vücut ağırlığı oranlarının (BA/VA\*1000) karşılaştırılması**

Parametre	Kontrol (n=10)	Curcumin (n=10)	Gentamisin (n=10)	Gentamisin+Curcumin (n=10)
VA değişimi (g)	15.4±7.9	15.8±13.9	-37.3±16.8*	-18.1±19.7 <sup>†</sup>
BA/VA*1000	4.1±0.27	4.1±0.33	5.8±0.52 <sup>†</sup>	5.7±0.53 <sup>†</sup>

\* $P < 0.001$  kontrol ve curcumin ile karşılaştırıldığında

<sup>†</sup> $P < 0.05$  kontrol ve curcumin ile karşılaştırıldığında

## BİYOKİMYASAL BULGULAR

Deney sonunda tüm deneklerden kardiyak ponksiyon sonucunda elde edilen kan örneklerinden serum üre ve kreatinin değerleri ölçülmüştür. Kontrol ve CMN grubu deneklerin serum üre ve kreatinin değerleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Kontrol ve CMN grubu ile GM grubu karşılaştırıldığında serum üre ve kreatinin değerlerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir ( $P < 0.001$ , Tablo 2). CMN verilerek tedavi edilen grupta ise serum üre ve kreatinin değerlerinin GM grubuna göre daha düşük olduğu tespit edilmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

**Tablo 2. Kontrol ve deney gruplarının serum üre ve kreatinin değerlerinin karşılaştırılması**

Parametre	Kontrol (n=10)	Curcumin (n=10)	Gentamisin (n=10)	Gentamisin+Curcumin (n=10)
Üre	38.31±2.93	37.45±5.89	254±114.84*	103.58±67.97 <sup>†</sup>
Kreatinin	0.27±0.04	0.28±0.04	4.55±1.51*	1.65±1.21 <sup>‡</sup>

\* $P < 0.001$  kontrol ve curcumin ile karşılaştırıldığında

<sup>†</sup> $P < 0.05$  curcumin ile karşılaştırıldığında

<sup>‡</sup> $P < 0.05$  kontrol ve curcumin ile karşılaştırıldığında

## **MORFOLOJİK BULGULAR**

### **Histolojik Bulgular**

**Kontrol grubuna ait bulgular:** Kontrol grubu deneklerinden alınan böbrek korteks materyalleri ışık mikroskopunda incelendiğinde, normal görünümlü Malpighi cisimcikleri, proksimal ve distal tübüller, toplayıcı borular ve damarlar gözlemlendi (Resim 1-3).

Malpighi cisimciklerinin korteksteeki sayısı normal düzeyde, çapları ise normal görünümlü idi (Resim 2). Bowman kapsülünün pariyetal yaprak hücreleri yassı görünümlü, periyodik yerleşimli olup nukleusları glomerüler odacığa doğru hafifçe çıkıntı oluşturuyordu (Resim 3). Yine pariyetal yaprak hücrelerine ait bazal membran normal kalınlık ve görünümdeydi (Resim 4). Ayrıca glomerülde bulunan mezengial hücreler ve endotel hücrelerinin yanı sıra podositler de normal büyüklük ve yerleşimliydi (Resim 5). Vasküler kutupta gözlenen jukstaglomerüler aygıt normal görünümlü idi. Jukstaglomerüler aygıtı oluşturan yapılardan biri olan maküla densa, koyu renkli, sık yerleşimli yüksek prizmatik hücrelerden oluşmaktaydı (Resim 3).

Proksimal tübüller, piramidal şekilli hücrelerle çevrelenmiş dar bir lümene sahipti. Tübül hücrelerinin apikal yüzey farklılaşmaları olarak bilinen fırçamsı kenar oluşumu düzenli bir görünüm sergilemekteydi. Geniş bir lümene sahip olan distal tübüller de izoprizmatik hücrelerle döşenmiş olup, normal çap ve görünümlü idi. Tübüllere ait olan hücreler ve endotel hücreleri ince bir bazal membranla çevrilmiş idi. Bu bazal membranlar ve proksimal tübül lümeninde gözlemlenen fırçamsı kenar oluşumu PAS boyamasında pozitif (+) reaksiyon göstermekteydi (Resim 4).

Damarlarda ve damarları oluşturan endotel hücreleri normal görünümlü olup, damar çevresi infiltrasyonu gözlenmedi. Medulladaki toplayıcı borular normal çap ve görünümlü idi (Resim 1).

**Curcumin grubuna ait bulgular:** CMN grubu deneklerinden elde edilen böbrek korteks materyalleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; normal görünümlü Malpighi cisimcikleri, proksimal ve distal tübüller, toplayıcı borular ve damarlar gözlemlendi. Kontrol grubundan farklı bir bulgu tespit edilmedi. (Resim 6-10).

**Gentamisin grubuna ait bulgular:** Sadece GM verilen 3. grup deneklerimizin böbrek korteksi incelendiğinde; kontrol ve CMN gruplarından farklı olarak, en belirgin değişiklik tübüler alanlarda gözlenmekteydi. İlk dikkati çeken histolojik değişikliği tübüler genişlemeler oluşturuyordu. Bu tübüller, daha çok korteksin dış kısmında yaygın olup, iç kısma doğru

uzanan ve medullada devam eden, lümenleri ileri derecede genişlemiş, oval ve spiral şekilli yapıları (Resim 11-13,15,16). Bu genişlemeler özellikle distal tübüllerde ortaya çıkmakta ve bu tübülleri, atrofiye uğrayarak yuvarlak görünümlerini yitirip yassılaştıran hücreler döşemekteydi (Resim 15,16). Ayrıca bu genişlemiş tübüllerin içerisinde yer yer deskuame olmuş hücrelere rastlanıyordu (Resim 12). Yine, özellikle genişlemiş tübüllerin lümeninde hyalin cast olarak adlandırılan eozinofilik boyanmış yapılar gözleniyordu (Resim 13).

Tübüler hasarın bir diğeri de proksimal tübülleri döşeyen epitelin ileri derecede dejeneratif değişiklikler göstermesiydi. Tübülleri döşeyen epitel hücrelerinin sitoplazmasında, nukleusların ayırdedilemediği, epitel hücrelerinin yer yer lümeneye döküldüğü (deskuamasyon), hücre içi vakuolleşmenin belirtisi olarak sitoplazmada köpüksü bir görünüm oluştuğu (sitoplazmik vakuolizasyon) tespit edildi (Resim 16). Hücrelerin apikal yüz farklılaşmaları olarak gözlemlenen fırçamsı kenar kopmaları ve kayıpları nedeni ile PAS (+) görünümünü yitirmişti. Bazı tübüllerde ise tübüler yapının tamamen dağılmış olduğu gözlenmekteydi (Resim 17-19). Gerek proksimal, gerekse distal tübülleri oluşturan tübül hücrelerinin oturmuş olduğu bazal membranlarda da bir kalınlaşma gözleniyordu. Ayrıca, kortekste yer alan bazı tübül hücrelerinde PAS (+) boyanan granüller izlendi (Resim 20).

Kortekste ve kortikomeduller sahada bazıları damar çevresinde olmak üzere çok sayıda lökositik infiltrasyon odaklarına rastlandı (Resim 13,14). Bu bölgeler bazen Malpighi cisimcikleri çevresinde gözlemlenmekteydi (Resim 17-19). Bu lökositik infiltrasyon alanlarının bulunduğu yerlerde yeni tübül oluşumları da dikkat çekmekteydi (Resim 17,18,22).

Malpighi cisimciklerinin bazıları, normal büyüklük ve şekillerini kaybetmişlerdi. Bu cisimciklerde glomerüler yapının küçülmesi sonucu Bowman boşluğunun düzensizleştiğini ve genişlediği gözlemlendi (Resim 15). Lökositik infiltrasyon alanları içerisinde kalan bazı Malpighi cisimciklerinde glomerüler yapının tamamına yakını dejenere olmuş ve parietal yaprağı çevreleyen bazal membranı kalınlaşma gösteriyordu (Resim 19).

Ayrıca genişlemiş tübüller ve dejenere olmuş Malpighi cisimcikleri çevresinde yer yer interstisyel alanda ödem ve bağ doku artışı da gözlenmekteydi (Resim 23).

**Gentamisin+curcumin grubuna ait bulgular:** GM verilmesinden 5 gün önce CMN başlayarak vermeye devam ettiğimiz 4. grup deneklerimizden elde edilen böbrek korteks materyalleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; GM grubuna göre, genel olarak yapının korunduğu, korteks bölgesinin çok daha düzgün bir histolojik görünüme sahip olduğu görüldü (Resim 24).

GM grubunda gözlenen, özellikle korteksin dış kısmında yaygın yerleşen ve medullada devam eden oval ve spiral görünümlü genişlemiş tübüllerin sayısı ve çapları belirgin olarak azalmıştı. Ayrıca, çoğu tübülleri çevreleyen hücrelerin nukleusları da yuvarlağa yakın görünümlüydü. Genişlemiş tübüllerin lümeninde yer alan hyalin cast'ler de sayıca azalmıştı (Resim 25-27,29-32).

GM grubundaki dejenerasyonun aksine, asidofilik hücrelerin döşediği normale yakın görünümlü proksimal tübüller, kortekste yer yer gözleniyordu (Resim 25). Yine proksimal tübül hücrelerinin apikal yüzlerinde yer alan fırçamsı kenarları PAS (+) boyanma gösteriyordu ve oldukça düzenliydi. Tübül hücrelerinin bazal membranlarında kalınlaşma az da olsa devam etmekteydi (Resim 26,27,29). Ayrıca tübül hücrelerindeki vakuolizasyon ve deskuamasyon da oldukça azdı (Resim 25).

Korteks ve kortikomeduller sahada damar çevresinde yerleşim gösteren lökositik infiltrasyon alanları sayı ve çap olarak oldukça azalmıştı (Resim 32). Bu bölgelerde yer yer kalın bazal membran ile çevrilmiş yeni oluşan tübül hücre topluluklarına rastlanıyordu (Resim 28). Yine Malpighi cisimciklerinin etrafında görülen bu infiltrasyon alanlarında azalma gözleniyordu (Resim 27).

Malpighi cisimciklerinin çoğu, şekil ve yapı bakımından normale yakın görünümlüydüler (Resim 25,27,29,31). Bowman kapsülünün pariyetal yaprak hücrelerinin bazal membranlarında kalınlaşma nadir gözleniyordu (Resim 28). Glomerüler küçülme azalmış ve buna bağlı olarak Bowman boşluğu da normale yakın görünümlüydü (Resim 29).

Tüm gruplara ait yukarıda açıklanan histolojik bulgular, Tablo 3'te özetlenmiştir.

**Tablo 3. Kontrol ve deney gruplarının histolojik yapı değişikliklerinin semikantitatif değerlendirilmesi**

Histolojik bulgu	Kontrol (n=10)	Curcumin (n=10)	Gentamisin (n=10)	Gentamisin+Curcumin (n=10)
Glomerüler küçülme	-	-	++	±
Tübüler genişleme	-	-	++++	+
Tübüler vakuolizasyon	-	-	+++	+
Fırçamsı kenar kaybı	-	-	+++	+
Hyalin cast	-	-	++++	++
Lökositik infiltrasyon	-	-	+++	+

Yok (-), nadir (±), az (+), orta (++), fazla (+++), çok fazla (++++)

## İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol ve deney gruplarına ait böbrek dokularında uygulanan f-p38 antikorunun immünoreaktivitesi semikantitatif olarak değerlendirilerek, Tablo 4'te özetlenmiştir.

Böbrek korteksinde f-p38 immünoreaktivitesi AEC kromojen ile kırmızı renkte çoğunlukla nükleer boyanma karakteri gösterdi. Kontrol ve CMN grubunda bu immünoreaktivite; böbrek cisimciği parietal yaprak hücreleri ile glomerüllerdeki podositler ile proksimal tübül hücrelerinin bazılarında çok zayıf pozitif olarak gözlemlendi. GM grubunda ise, f-p38 immünoreaktivitesi, böbrek cisimciği parietal yaprak hücreleri ile glomerüllerdeki podositler ile özellikle dilate olmuş böbrek tübüllerinde kuvvetli pozitif ya da çok kuvvetli pozitif olarak izlendi. Ayrıca interstisyel sahada artmış mononükleer hücreler de kuvvetli pozitif ya da çok kuvvetli pozitif olarak immünoreaktivite gösterdi. GM+CMN grubu incelendiğinde, f-p38 immünoreaktivitesi belirgin oranda azalmış ve zayıf pozitif ya da pozitif olarak gözlenmekteydi.

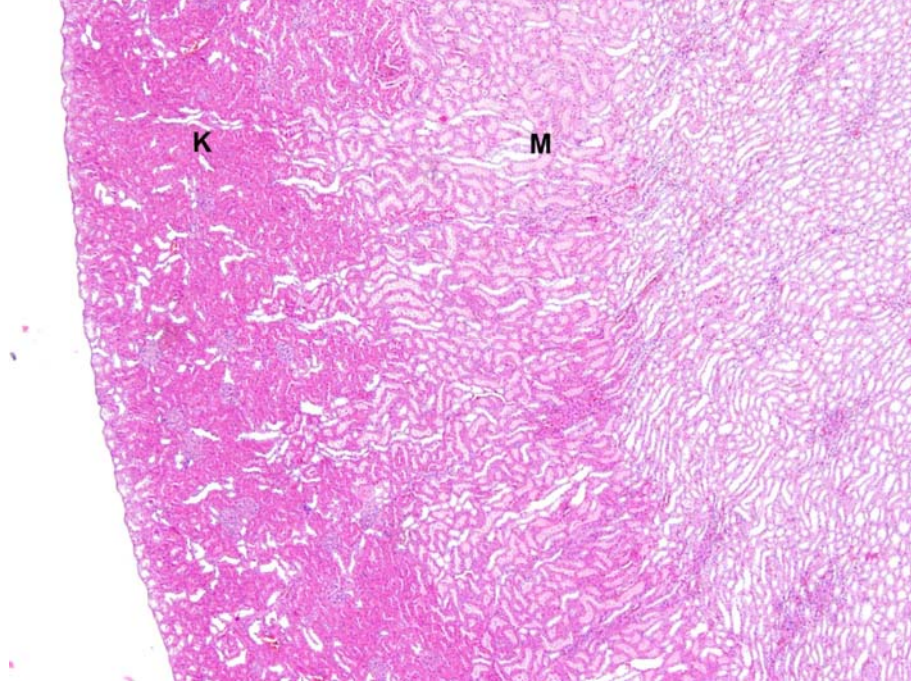
Tüm grupların immünoreaktivitesi incelendiğinde, GM grubundaki f-p38 immünoreaktivitesinin kontrol ve CMN grubuna göre arttığı (kuvvetli pozitif), GM+CMN grubunda ise GM grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı (zayıf pozitif) saptandı.

**Tablo 4. Kontrol ve deney gruplarının f-p38 immünoreaktivitesinin semikantitatif değerlendirilmesi**

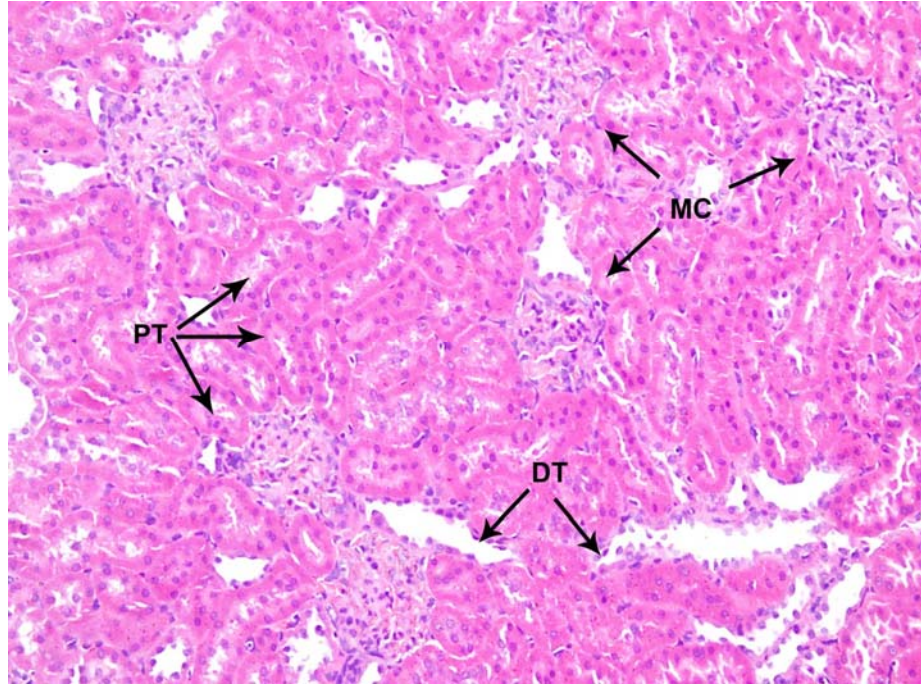
Denek no	Kontrol (n=10)	Curcumin (n=10)	Gentamisin (n=10)	Gentamisin+Curcumin (n=10)
1	±	±	+++	+
2	±	±	+++	+
3	±	+	++++	++
4	±	-	+++	+
5	±	-	++++	+
6	+	±	+++	++
7	±	±	+++	+
8	-	±	++++	+
9	±	±	+++	+
10	+	-	+++	++

Negatif (-), çok zayıf pozitif (±), zayıf pozitif (+), pozitif (++), kuvvetli pozitif (+++), çok kuvvetli pozitif (++++)

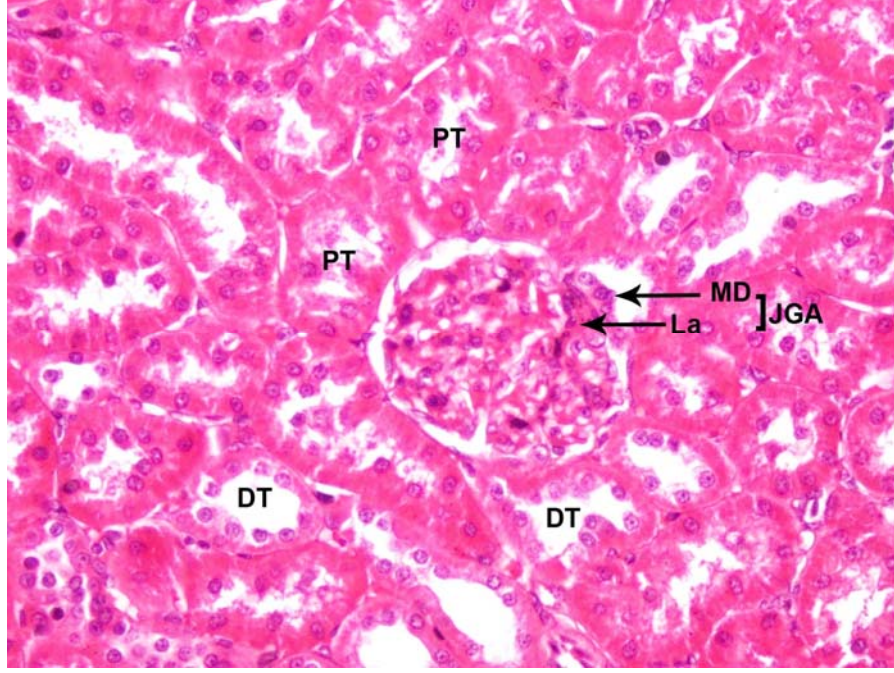




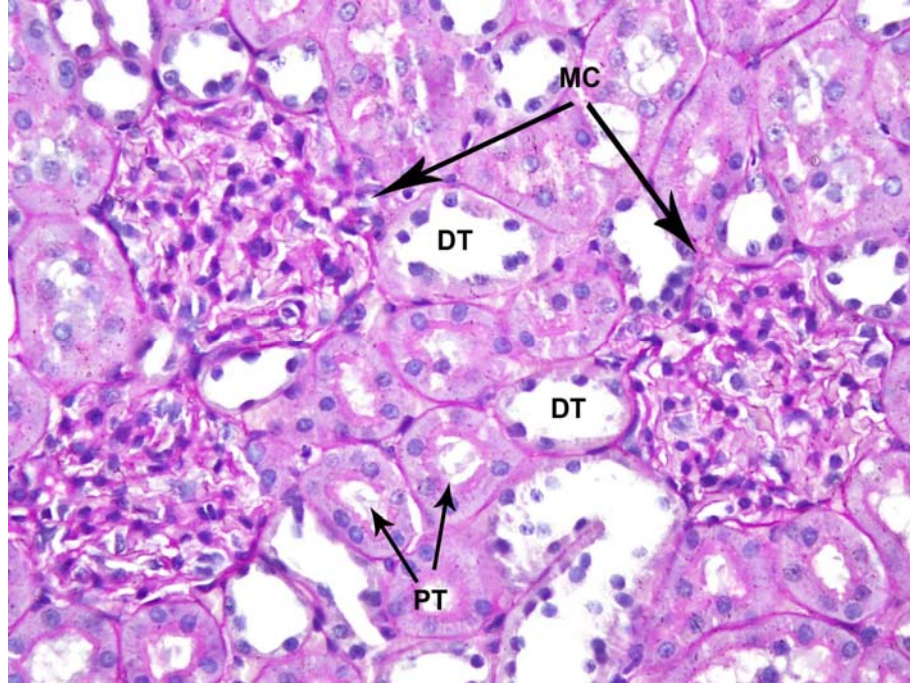
**Resim 1. Kontrol grubu böbrek korteks (K) ve medullasının (M) genel görünümü. H+E, x40**



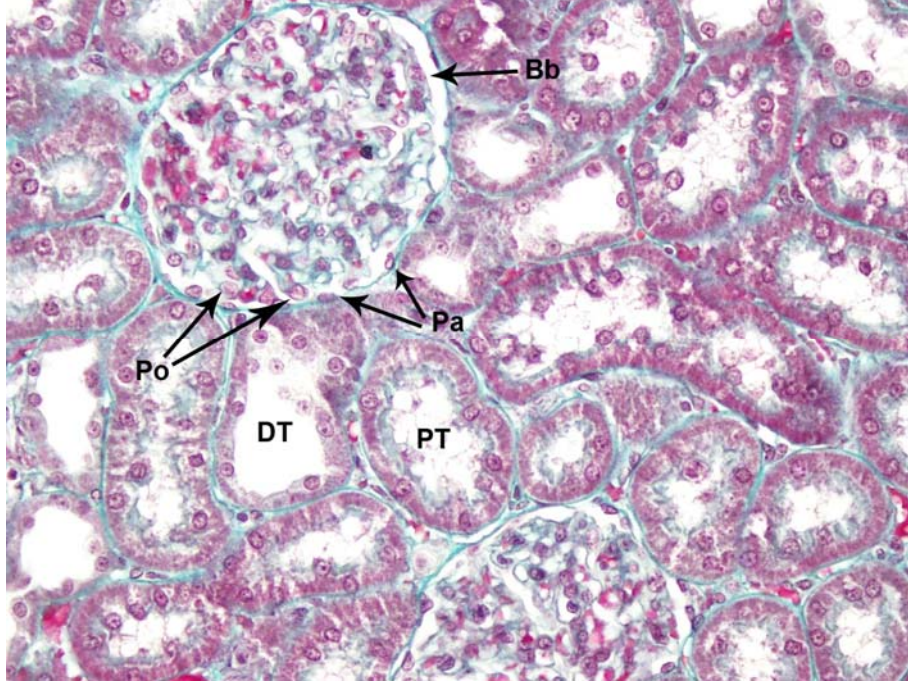
**Resim 2. Kontrol grubu böbrek korteksinden geçen kesitte Malpighi cisimcikleri (MC), proksimal (PT) ve distal tübüllerin (DT) normal yapıda olduğu izlenmektedir. H+E, x200**



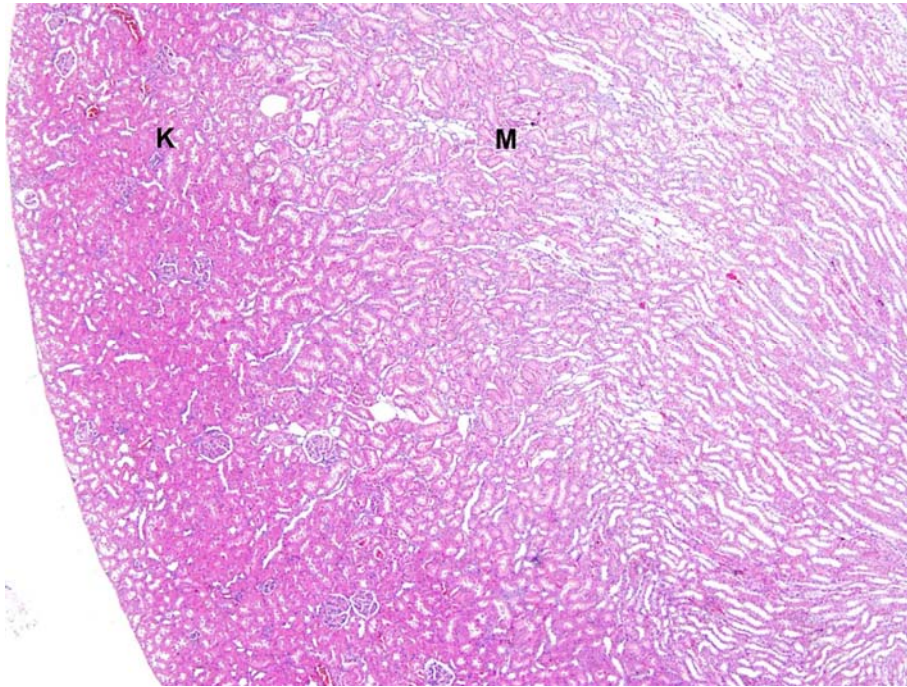
**Resim 3.** Kontrol grubuna ait normal yapıda Malpighi cisimciğinin vasküler kutbunda lacis (La) hücreleri, maküla densa (MD) hücrelerinin oluşturduğu jukstaglomerüler aygıt (JGA) ile cisimcik etrafında proksimal (PT) ve distal tübüller (DT) izlenmektedir. H+E x400



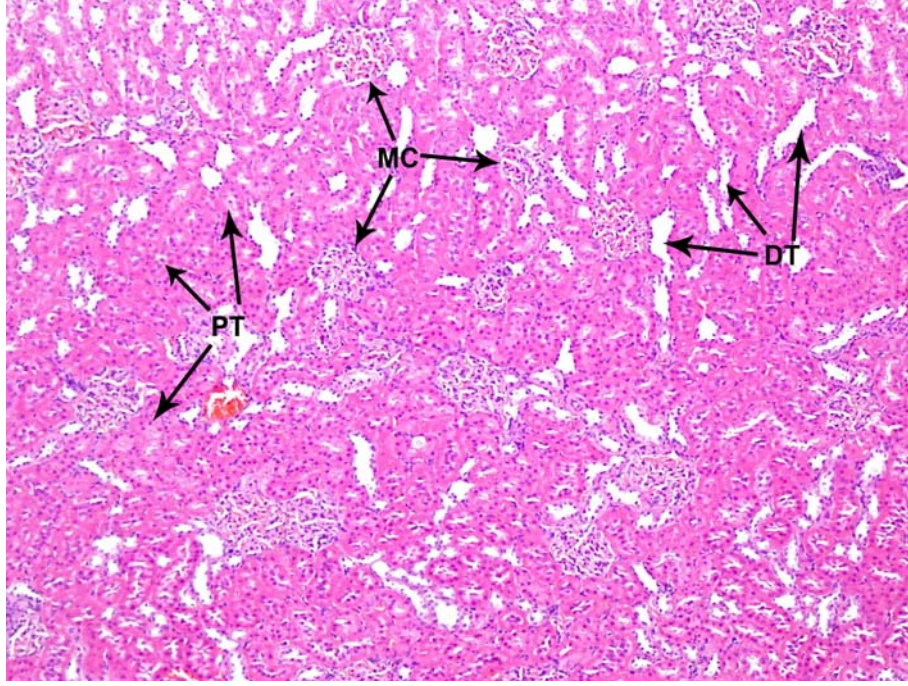
**Resim 4.** Kontrol grubu böbrek korteksinden geçen kesitte bazal membranları normal kalınlıkta Malpighi cisimcikleri (MC), proksimal (PT) ve distal tübüllerin (DT) normal yapıda olduğu izlenmektedir. Proksimal tübüllerde PAS (+) boyanan fırçamsı kenarlar oldukça belirgin olarak göze çarpmaktadır. PAS+HL x400



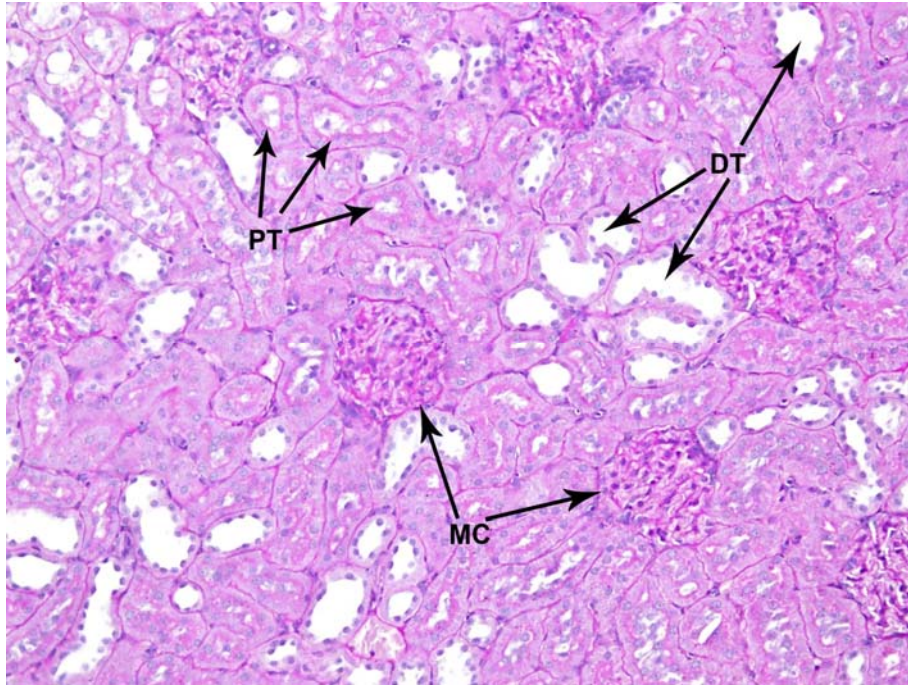
Resim 5. Kontrol grubuna ait normal yapıda Malpighi cisimciği içerisinde glomerül, onu çevreleyen Bowman kapsülünü döşeyen pariyetal yaprak hücreleri (Pa) ile viseral yaprağı döşeyen podositleri (Po) ve arasında Bowman boşluğu (Bb) görülmektedir. Ayrıca, proksimal (PT) ve distal tübüller (DT) de çevresinde izlenmektedir. Masson trikrom x400



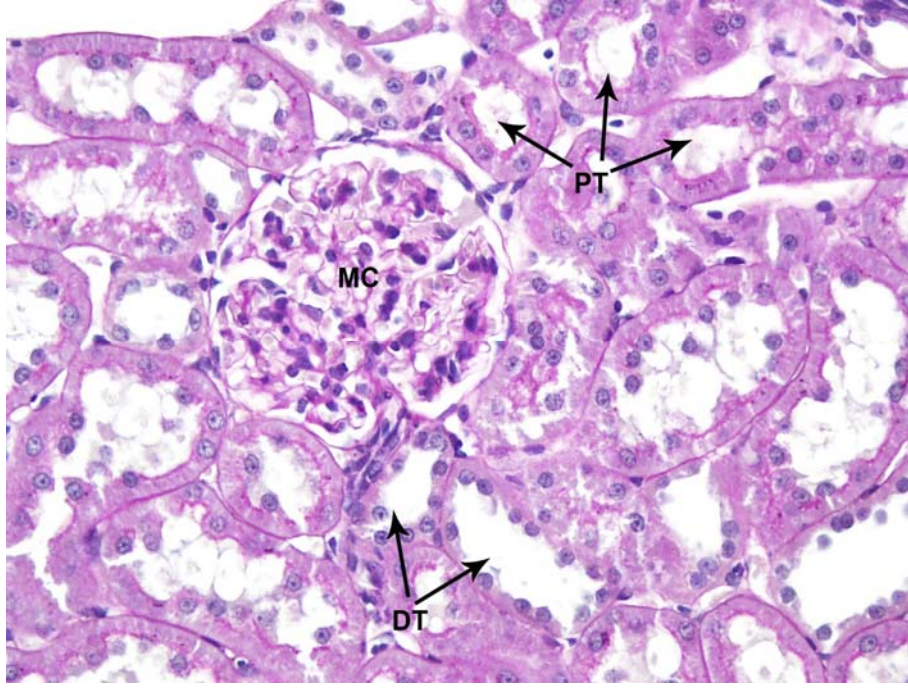
Resim 6. Curcumin grubu böbrek korteks (K) ve medullasının (M) kontrole benzer şekilde genel görünümü. H+E, x40



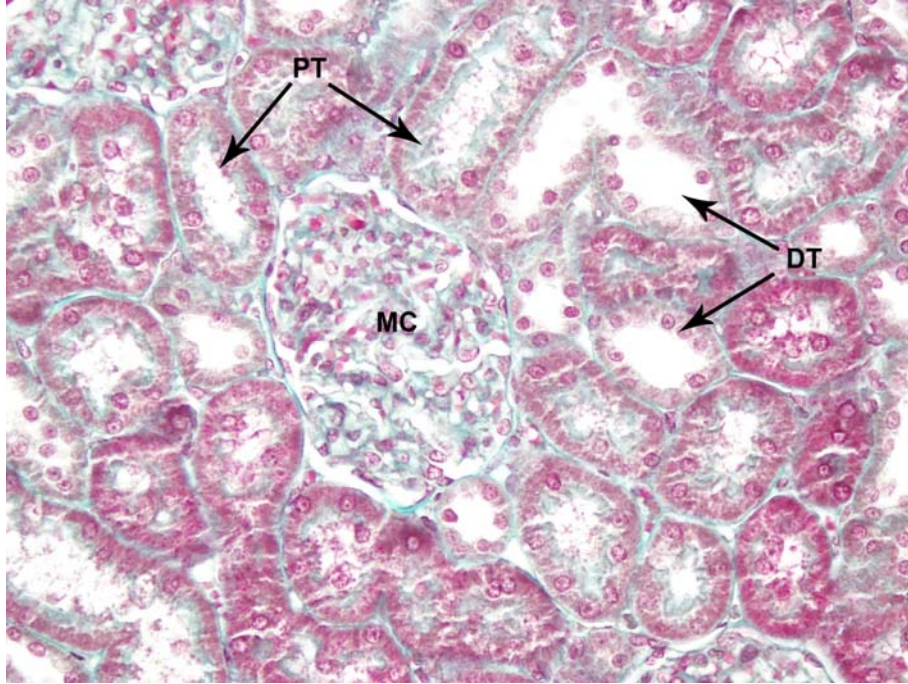
**Resim 7.** Curcumin grubu böbrek korteksinden geçen kesitte Malpighi cisimcikleri (MC), proksimal (PT) ve distal tübüllerin (DT) kontrol grubuna benzer şekilde normal yapıda olduğu izlenmektedir. H+E, x100



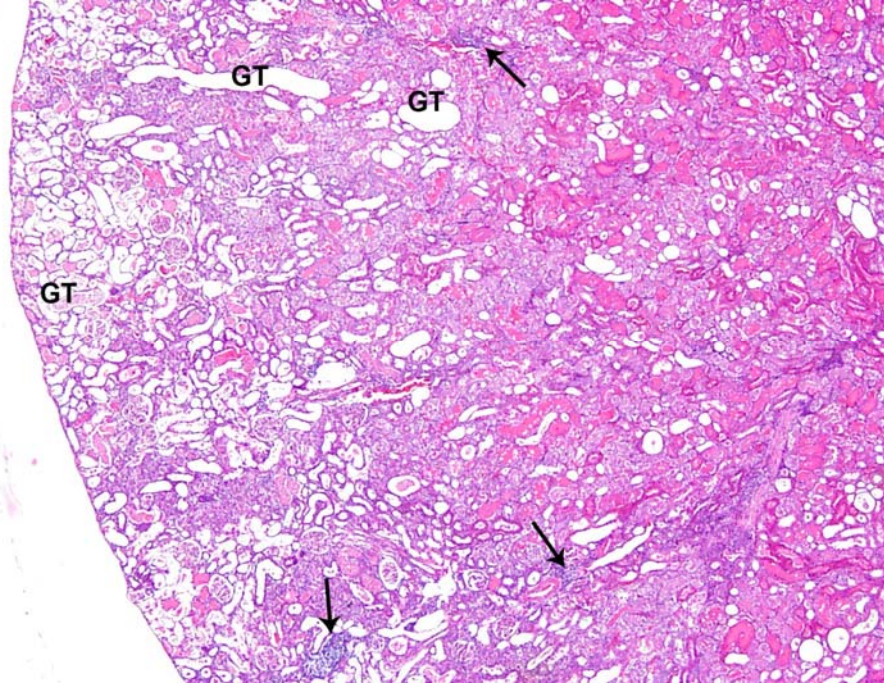
**Resim 8.** Curcumin grubu böbrek korteksinden geçen kesitte bazal membranları normal kalınlıkta Malpighi cisimcikleri (MC) ile proksimal (PT) ve distal tübüllerin (DT) normal yapıda olduğu izlenmektedir. Proksimal tübüllerde PAS (+) boyanan fırçası kenarlar oldukça belirgin olarak göze çarpmaktadır. PAS+HL x200



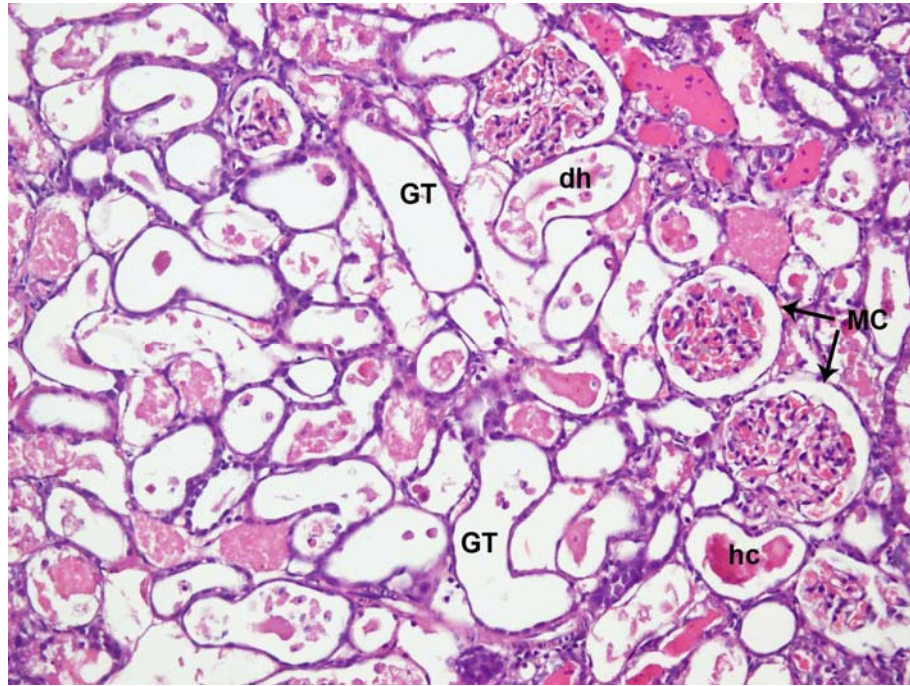
**Resim 9.** Curcumin grubuna ait bazal membranı normal kalınlıkta Malpighi cisimciği (MC), fırçamsı kenarı PAS (+) proksimal (PT) ile lümeni boş görünen distal tübüller (DT) izlenmektedir. PAS+HL x400



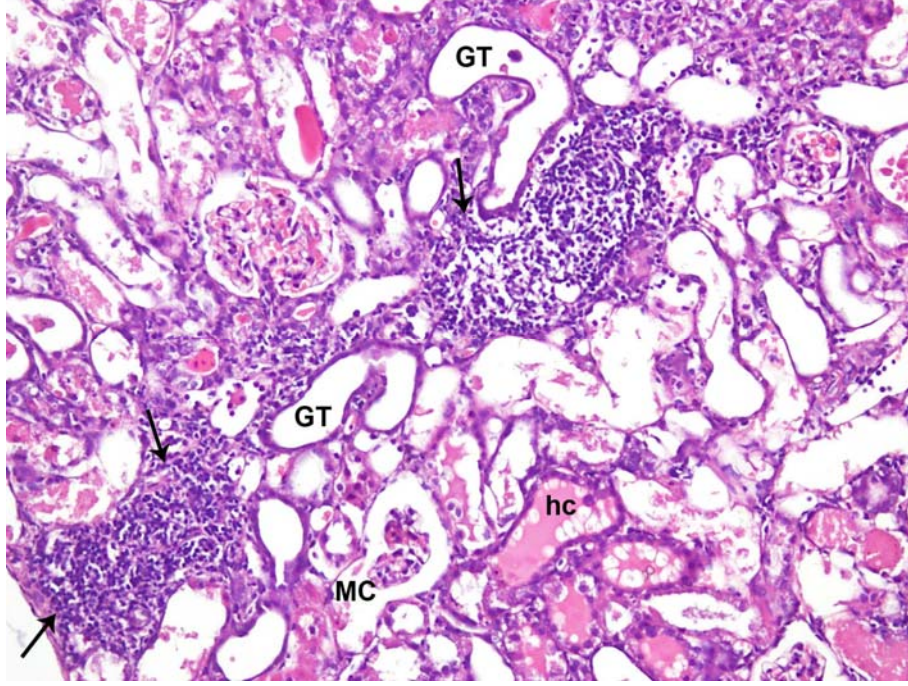
**Resim 10.** Curcumin grubuna ait normal yapıda Malpighi cisimciği (MC) ve proksimal (PT) ile distal tübüller (DT) kontrole benzer şekilde izlenmektedir. Masson trikrom x400



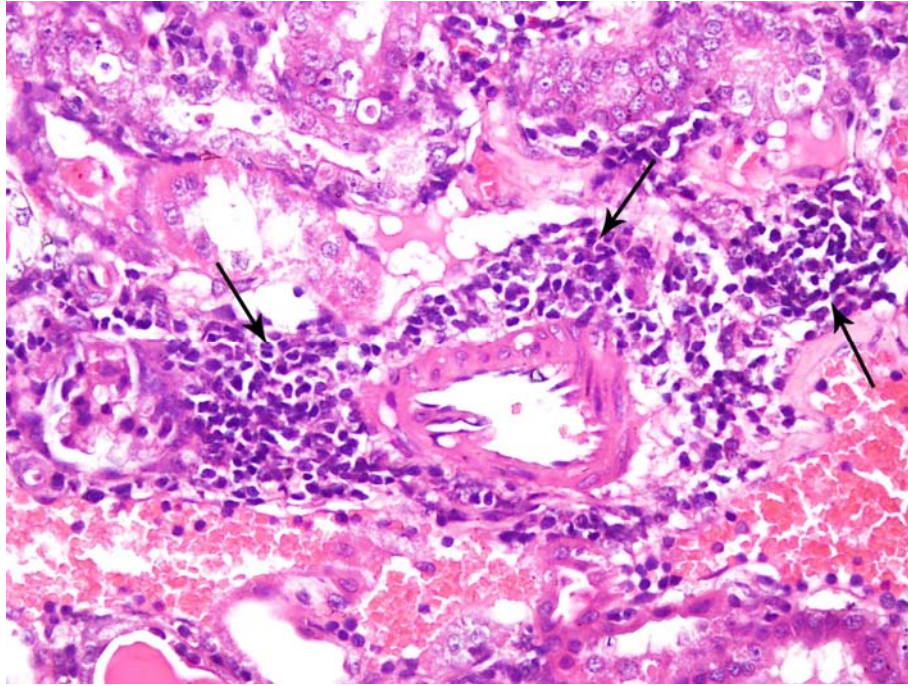
**Resim 11.** Gentamisin grubu böbrek korteks ve medullasından geçen kesitte genel yapının bozulduğu, ileri derecede genişlemiş tübüller (GT) ve lökositik infiltrasyon odaklarının (ok) yer aldığı gözlenmektedir. H+E, x40



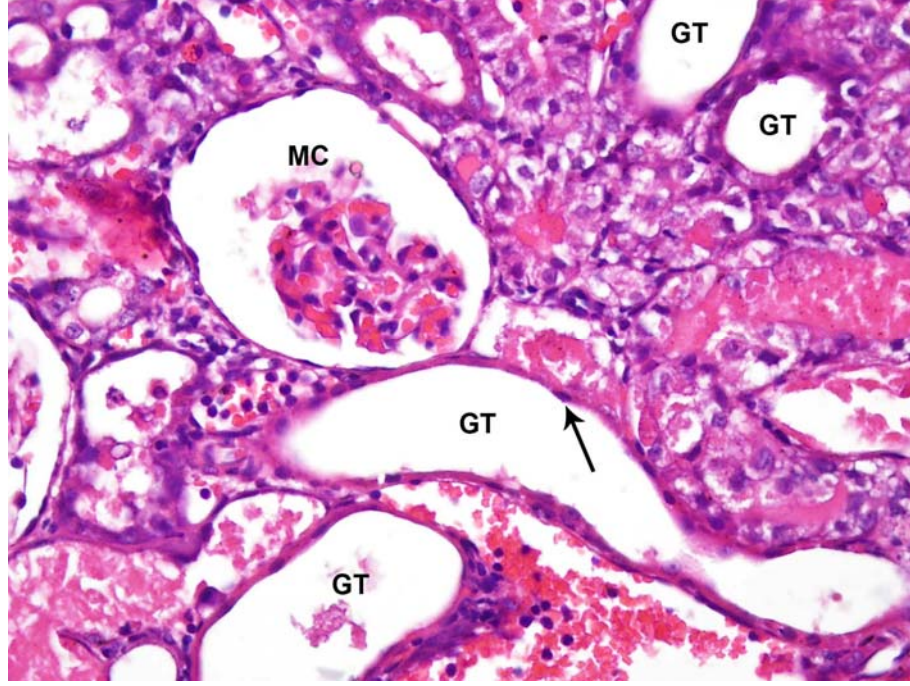
**Resim 12.** Gentamisin grubu böbrek korteksinin dış kısmında yer alan genişlemiş tübüllerin (GT) yassı hücrelerle döşenmiş olduğu ve bazılarının içerisinde hiyalin cast (hc) ve deskuame olmuş hücreler (dh) bulunduğu gözlenmektedir. GT'lerin bazılarının çevresinde yapısı normale yakın Malpighi cisimciklerinin (MC) yer aldığı göze çarpmaktadır. H+E, x200



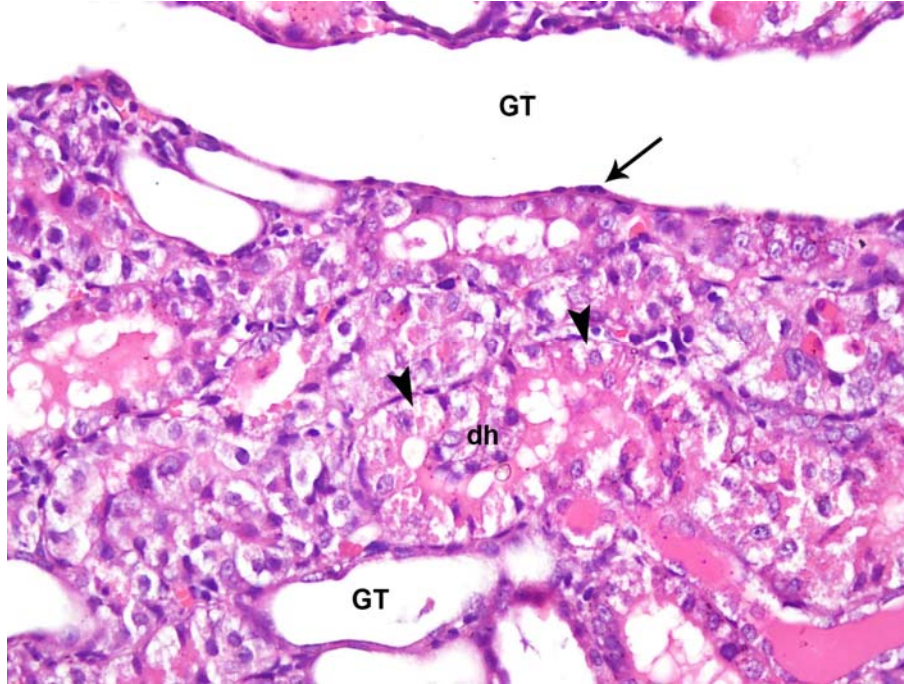
**Resim 13.** Gentamisin grubu böbrek korteksinden geçen kesitte lökositik bir infiltrasyon odağı (ok) ve çevresinde yapısı bozulmuş ve glomerülü küçülmüş Malpighi cisimciği (MC) ile bazılarının içerisinde hiyalin cast bulunan genişlemiş tübüller (GT) yer aldığı gözlenmektedir. H+E, x200



**Resim 14.** Gentamisin grubuna ait kortikomeduller bölgede damar etrafında lökositik infiltrasyon odağı (ok) gözlenmektedir. H+E, x400

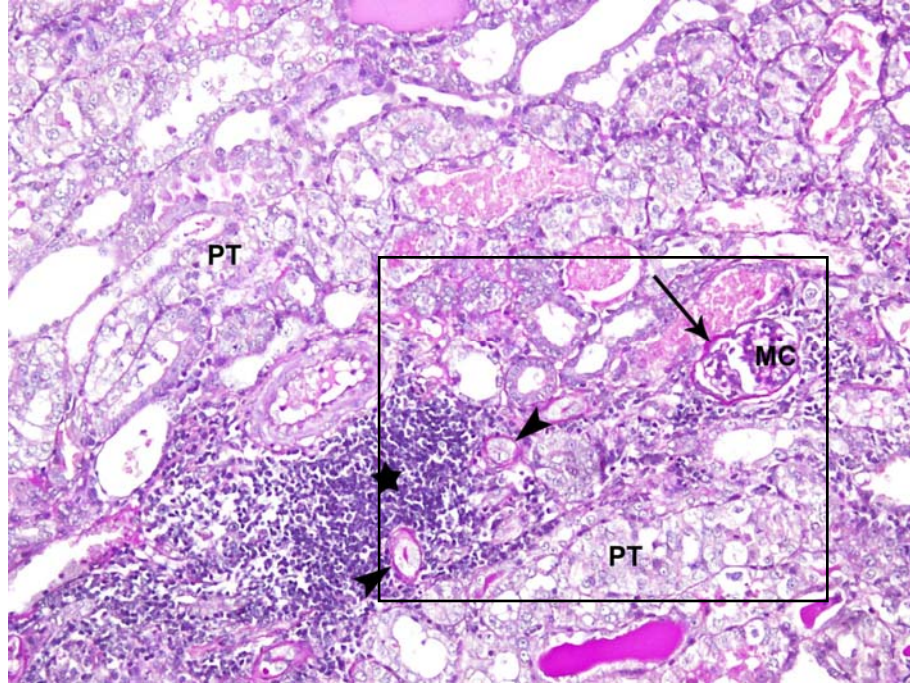


**Resim 15.** Gentamisin grubu böbrek korteksinden geçen kesitte yapısı bozulmuş ve glomerülü küçülmüş bir Malpighi cisimciği (MC) ile yassı hücrelerle (ok) döşenmiş genişlemiş tübüllerin (GT) yer aldığı gözlenmektedir. H+E, x400

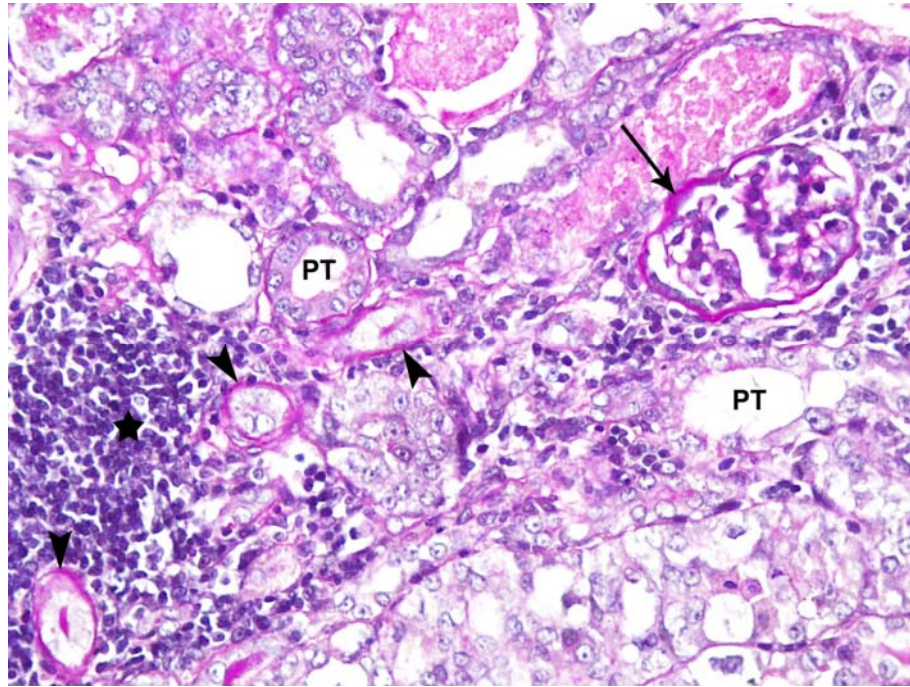


**Resim 16.** Gentamisin grubu böbrek korteksinden geçen kesitte yassı hücrelerle (ok) döşenmiş genişlemiş tübüllerin (GT) varlığı ve sitoplazmik vakuolizasyonun (ok başı) gözlendiği proksimal tübül hücreleri izlenmektedir. Proksimal tübüllerin içerisinde deskuame olmuş hücreler (dh) göze çarpmaktadır. H+E, x400

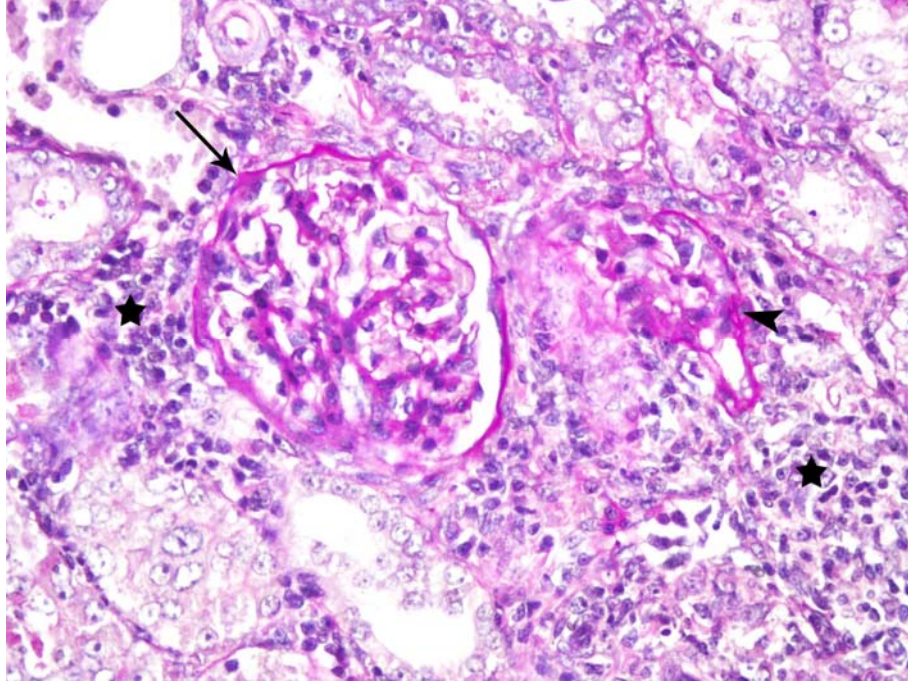




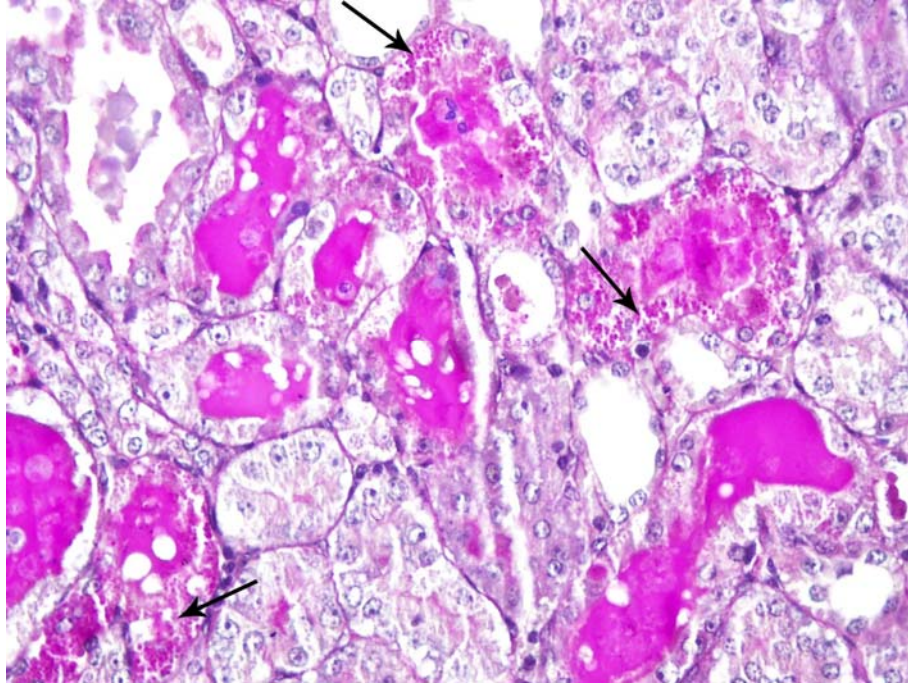
**Resim 17.** Gentamisin grubu damar etrafındaki lökosit infiltrasyon odağından (yıldız) geçen kesitte, bazal membranı kalınlaşmış ve yapısı kısmen bozulmuş bir Malpighi cisimciği (ok), lümenlerinde fırçası kenar kaybı ve deskuame olmuş hücreler içeren proksimal tübüller (PT) ile kalın bazal membranlı yeni tübül oluşumları (ok başı) izlenmektedir. PAS+HL x200



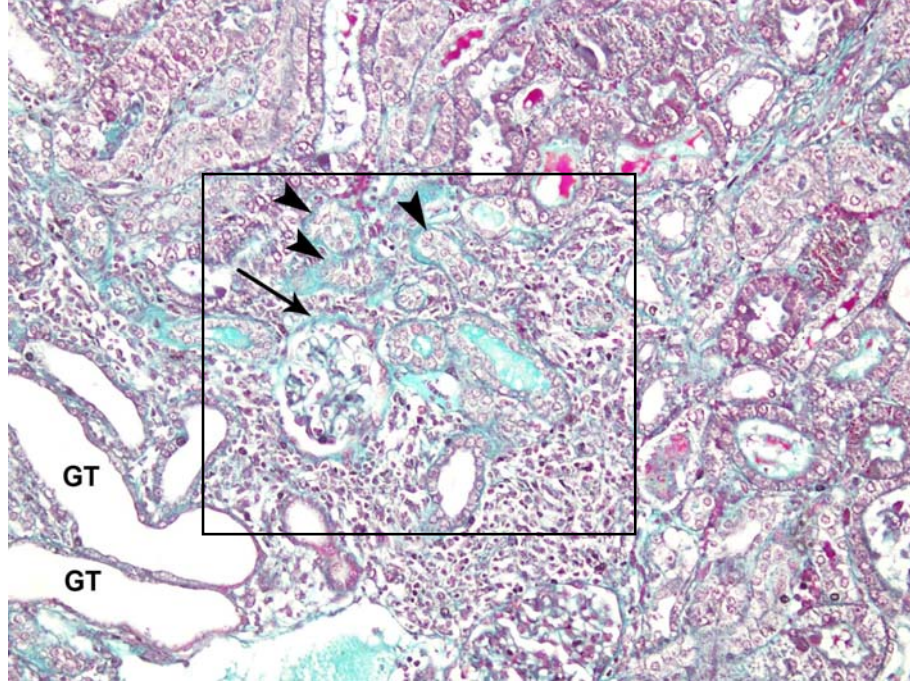
**Resim 18.** Resim 17'deki lökosit infiltrasyon odağı (yıldız) büyük büyütmede incelendiğinde bazal membranı kalınlaşmış ve yapısı kısmen bozulmuş bir Malpighi cisimciği (ok) ile kalın bazal membranlı yeni tübül oluşumları (ok başı) izlenmektedir. Fırçası kenar kaybı ile PAS (+)'nin azalması proksimal tübüllerde (PT) dikkati çekmektedir. PAS+HL x400



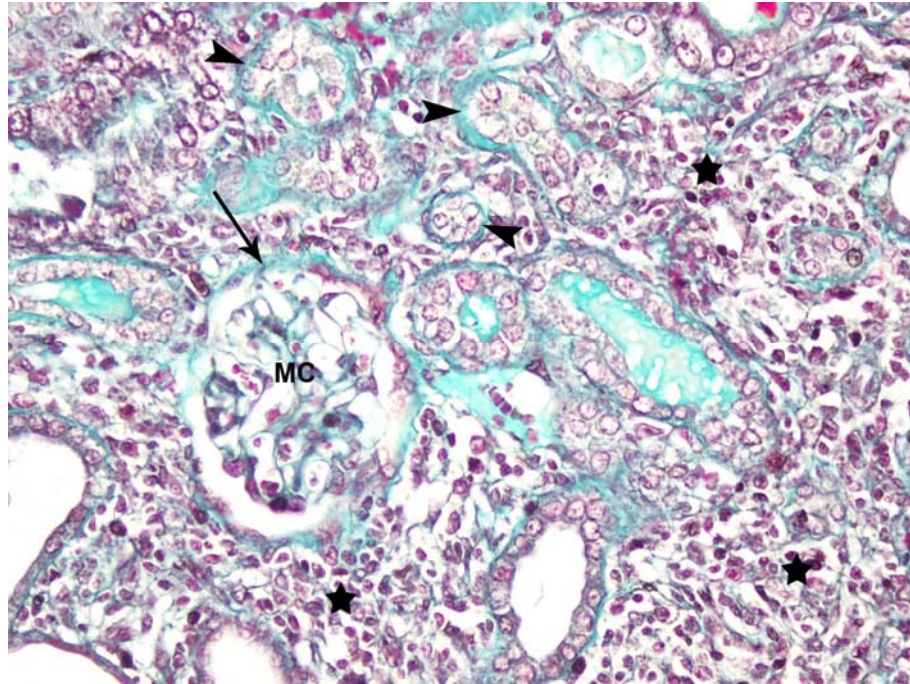
**Resim 19.** Gentamisin grubu lökosit infiltrasyon odağından (yıldız) geçen kesitte, bazal membranı kalınlaşmış bir Malpighi cisimciği (ok) ile hemen yanında lökositlerin infiltre ettiği yapısı bozularak sadece küçük bir kısmı kalmış Malpighi cisimciği (ok başı) gözlenmektedir. PAS+HL x400



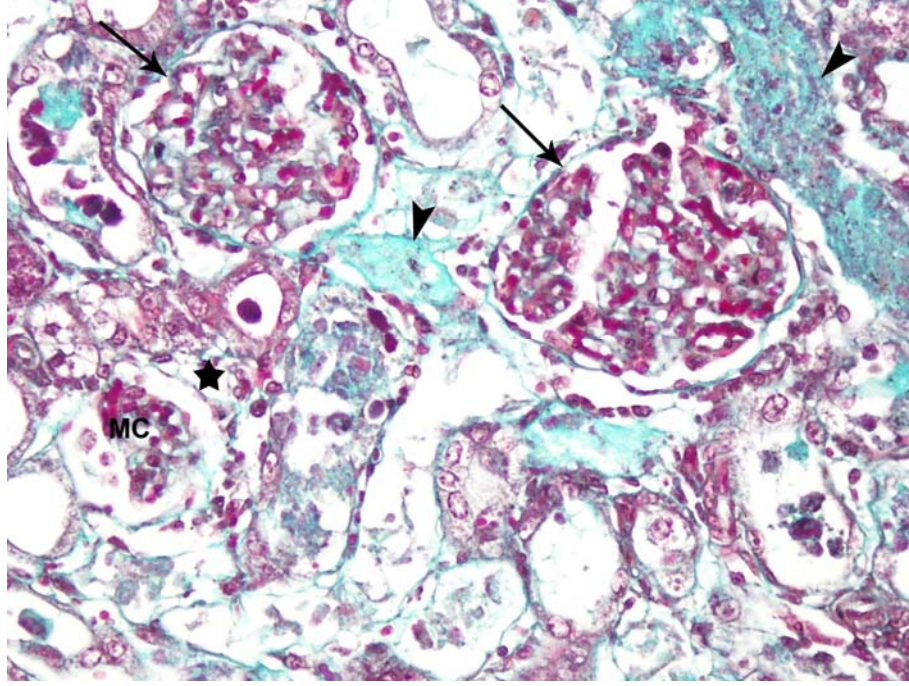
**Resim 20.** Gentamisin grubuna ait içlerinde hiyalin cast'lerin yer aldığı tübüllerde PAS (+) boyanan sitoplazmik granüller (ok) izlenmektedir. PAS+HL x400



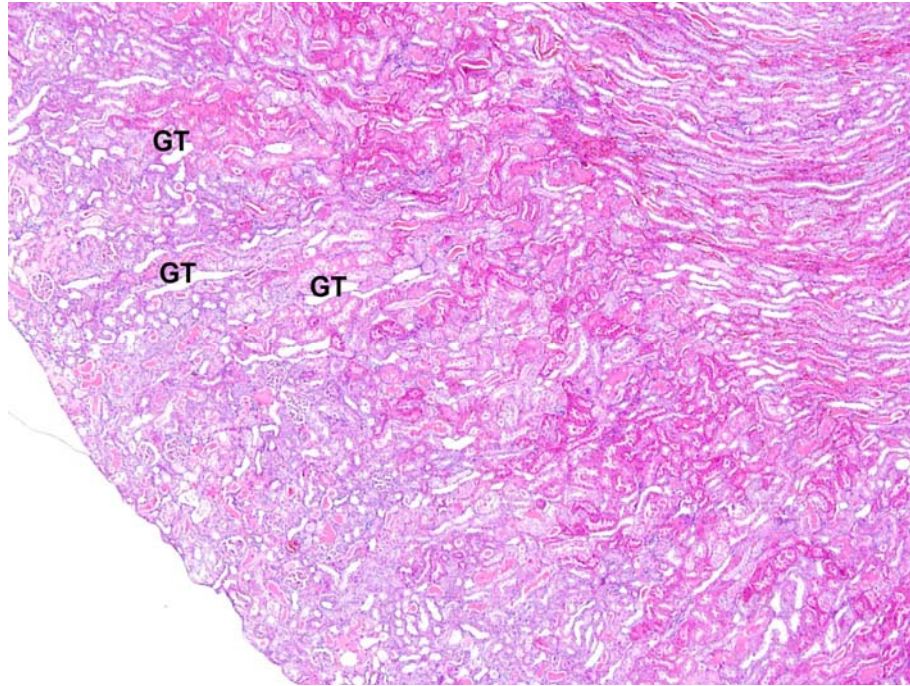
**Resim 21.** Gentamisin grubu böbrek korteksinden geçen kesitte, damar çevresinde bulunan lökositik infiltrasyon odağı içerisinde, bazal membranı kalınlaşmış ve kısmen yapısı bozulmuş bir Malpighi cisimciği (ok), çevresinde yer alan genişlemiş tübüller (GT), izlenmektedir. Ayrıca kalın bazal membranlı yeni tübül oluşumları (ok başı) da göze çarpmaktadır. Masson trikrom x200



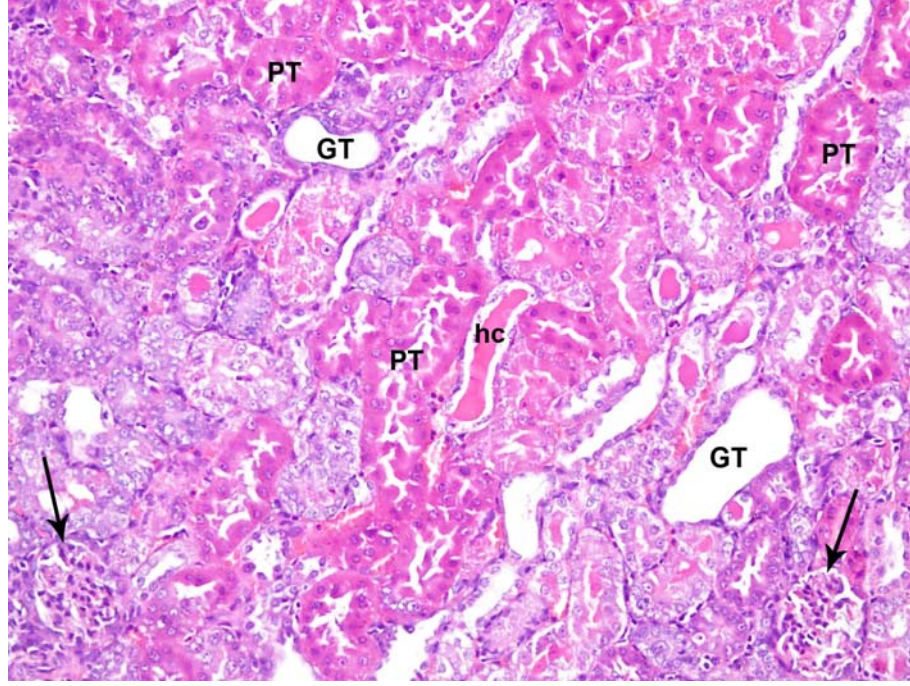
**Resim 22.** Resim 21'nin büyük büyütmesinde bazal membranı kalınlaşmış ve kısmen yapısı bozulmuş bir Malpighi cisimciği (ok) ile kalın bazal membranlı yeni tübül oluşumları (ok başı) lökositik infiltrasyon odağı (yıldız) içerisinde izlenmektedir. Masson trikrom x400



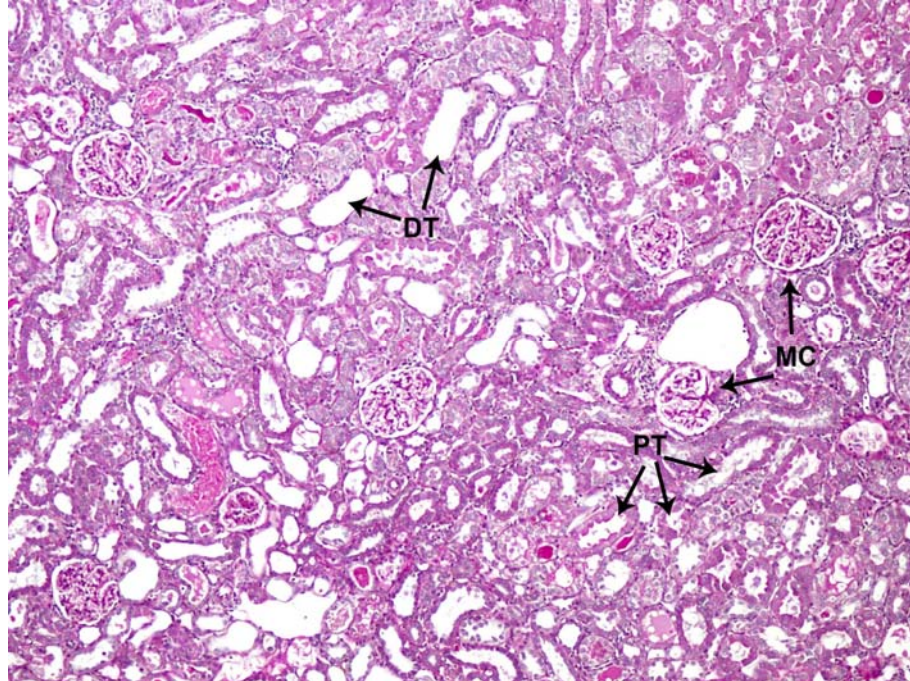
Resim 23. Gentamisin grubu böbrek korteksinin dış kısmından geçen kesitte, yapıları kısmen korunmuş iki Malpighi cisimciği (ok) ile oldukça küçülmüş bir glomerül içeren bir Malpighi cisimciği (MC) çevresinde yer alan interstisyel alanda ödem (yıldız), ve bağ doku artışı (ok başı) izlenmektedir. Masson trikrom x400



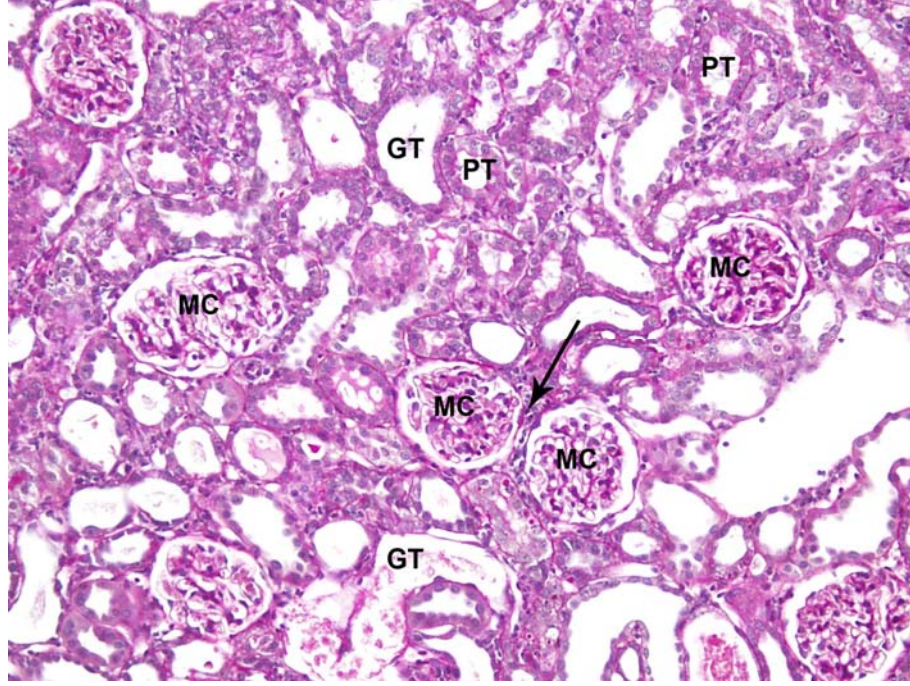
Resim 24. Gentamisin+curcumin grubu korteks ve medullasından geçen kesitte, genel yapının korunduğu, genişlemiş tübüllerin (GT) çaplarının ve sayılarının azaldığı, ancak genişlemiş tübüller içerisinde yer alan hiyalin cast'lerin azalmakla birlikte hala devam ettiği gözlenmektedir. H+E, x40



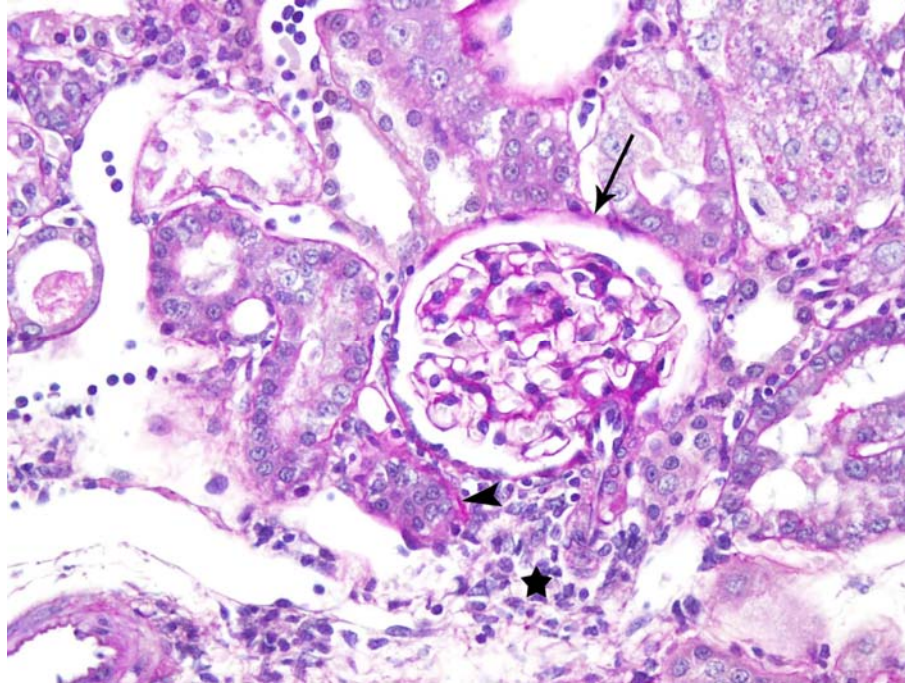
**Resim 25.** Gentamisin+curcumin grubu korteksten geçen kesitte, yapının kısmen korunduğu, normale yakın görünümü Malpighi cisimcikleri (ok) ve eozinofilik sitoplazmalı hücrelerin döşediği yapıları korunmuş proksimal tübüller (PT) ile sayıları ve çapları çok azalmış bir kaç genişlemiş tübül (GT) izlenmektedir. Bazı genişlemiş tübüller içerisinde hiyalin cast (hc)'lere rastlanmaktadır. H+E, x200



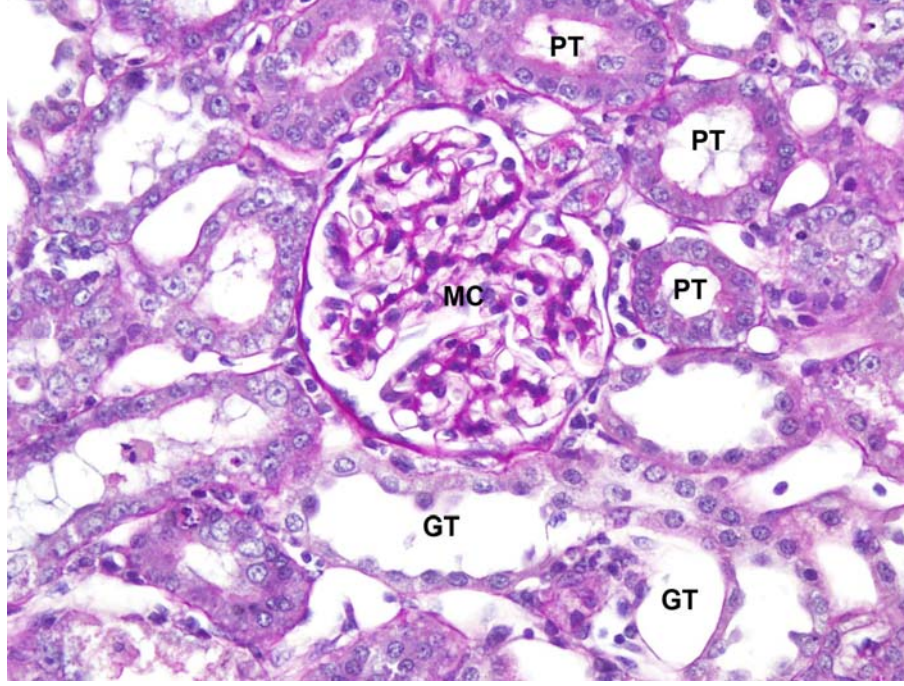
**Resim 26.** Gentamisin+curcumin grubu korteks bölgesinden geçen kesitte, bazal membranları normal kalınlıkta ve yapıda Malpighi cisimcikleri (MC), kısmen korunmuş PAS (+) fırçamsı kenarları ile proksimal tübüller (PT) ve farklı çaplarda hafif genişlemenin devam ettiği distal tübüller (DT) gözlenmektedir. PAS+HL x100



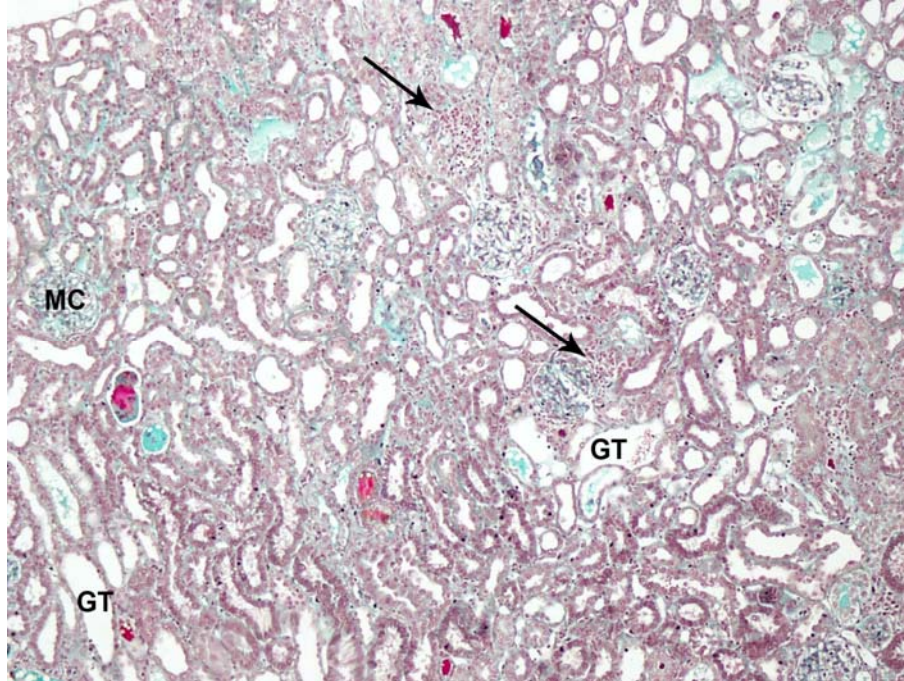
Resim 27. Gentamisin+curcumin grubu korteks bölgesinden geçen kesitte, bazal membranları normal kalınlıkta Malpighi cisimcikleri (MC), kısmen korunmuş PAS (+) fırçası kenarları ile proksimal tübüller (PT) ve farklı çaplarda hafif genişlemenin devam ettiği tübüller (GT) gözlenmektedir. İki MC arasında küçük bir lökositik infiltrasyon sahası dikkati çekmektedir (ok). PAS+HL x200



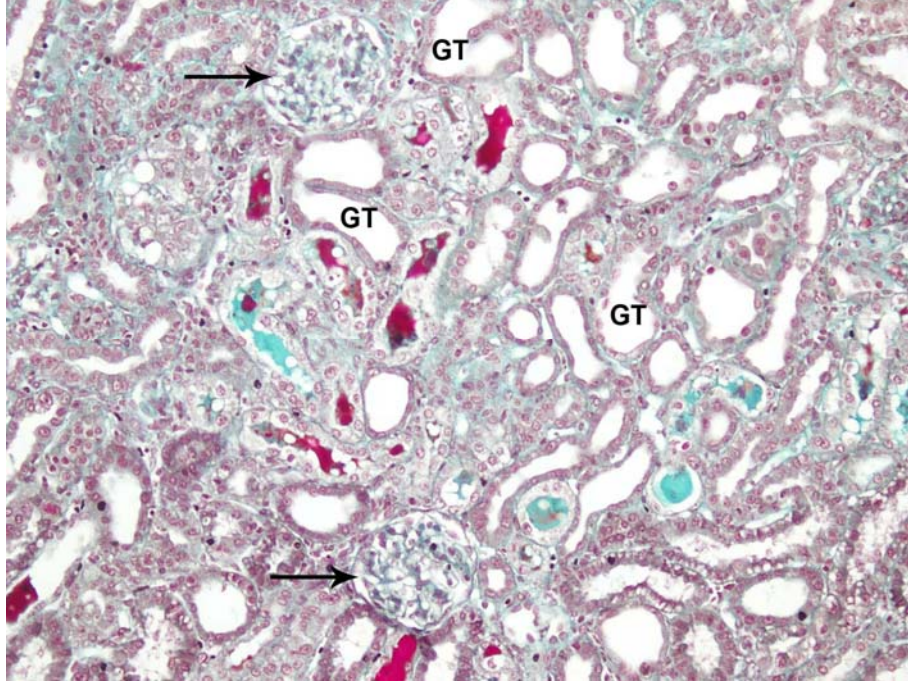
Resim 28. Gentamisin+curcumin grubuna ait bazal membranı hafif kalınlaşmış bir Malpighi cisimciği (ok) ile kalın bazal membranlı yeni tübül oluşumu (ok başı) küçük bir lökositik infiltrasyon odağı (yıldız) içerisinde izlenmektedir. PAS+HL, x400



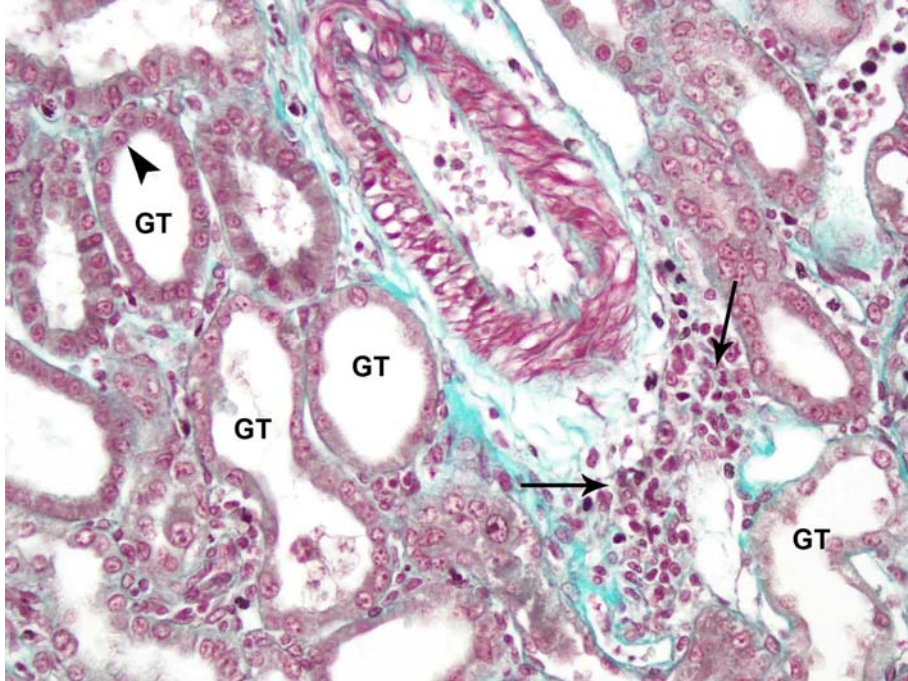
**Resim 29.** Gentamisin+curcumin grubuna ait bazal membranları normal kalınlıkta Malpighi cisimciği (MC) çevresinde PAS (+) fırçamsı kenarları ile proksimal tübüller (PT) ve farklı çaplarda hafif genişlemenin devam ettiği tübüller (GT) gözlenmektedir. PAS+HL x400



**Resim 30.** Gentamisin+curcumin grubu böbrek korteksinden geçen kesitte, normal yapıda Malpighi cisimcikleri (MC) varlığı ile genel olarak yapının korunduğu, genişlemiş tübül (GT) ve lökositik infiltrasyon odaklarının (ok) çapları ve sayılarının azaldığı izlenmektedir. Masson trikrom x100

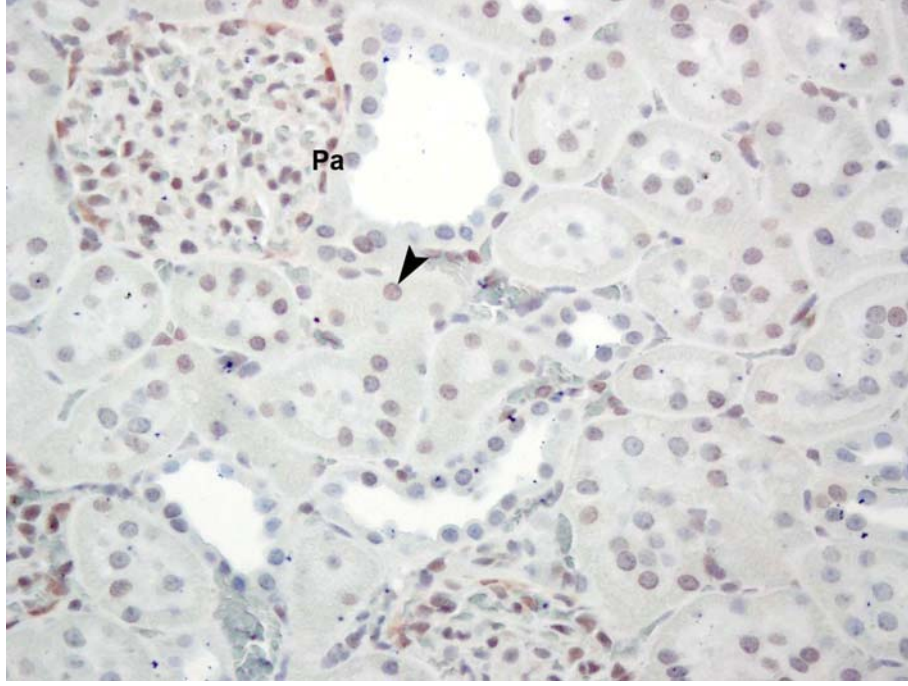


Resim 31. Gentamisin+curcumin grubu böbrek korteksinden geçen kesitte, Malpighi cisimciklerinin (ok) normal yapıda olduğu, genişlemiş tübül (GT) çaplarının azalmakla birlikte hala devam ettiği gözlenmektedir. Masson trikrom x200

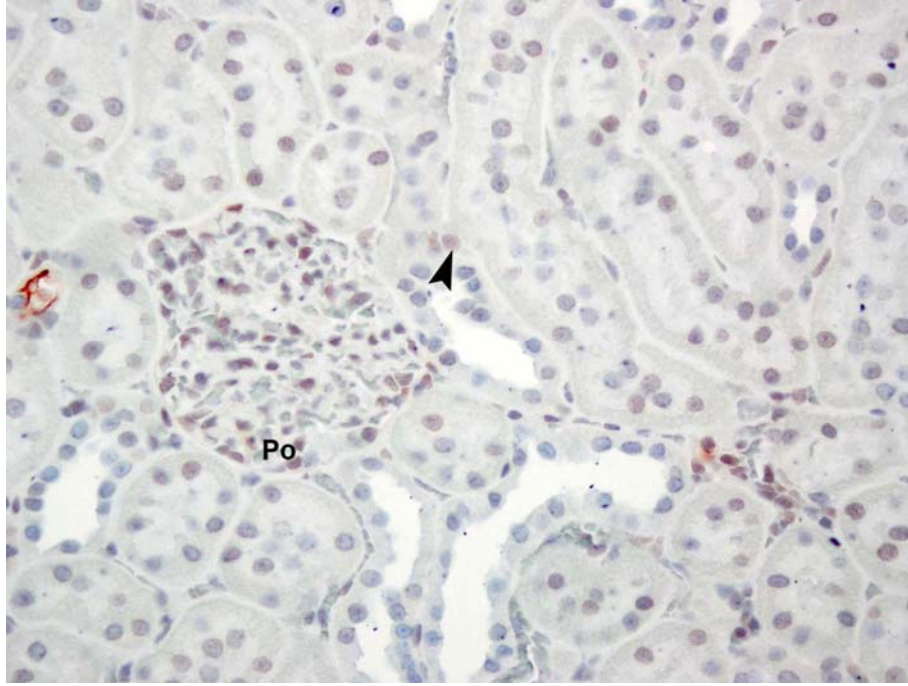


Resim 32. Gentamisin+curcumin grubu damar çevresinden geçen kesitte, damar etrafında küçük bir lökositik infiltrasyon sahasının (ok) ve etrafında yuvarlak hücrelerle döşeli (ok başı) hafif genişlemiş tübüllerin (GT) yer aldığı gözlenmektedir. Masson trikrom x400

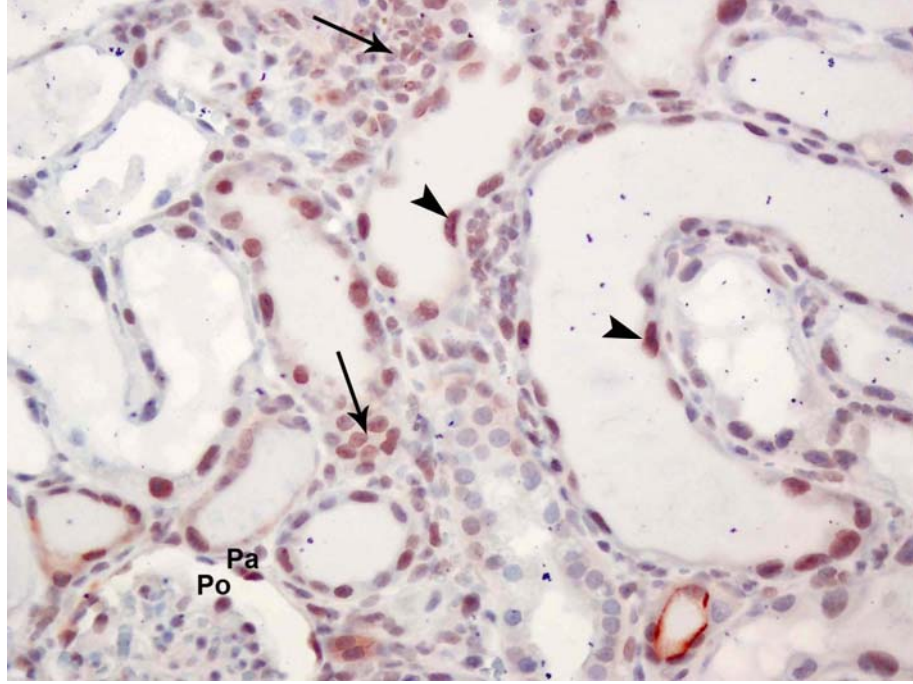




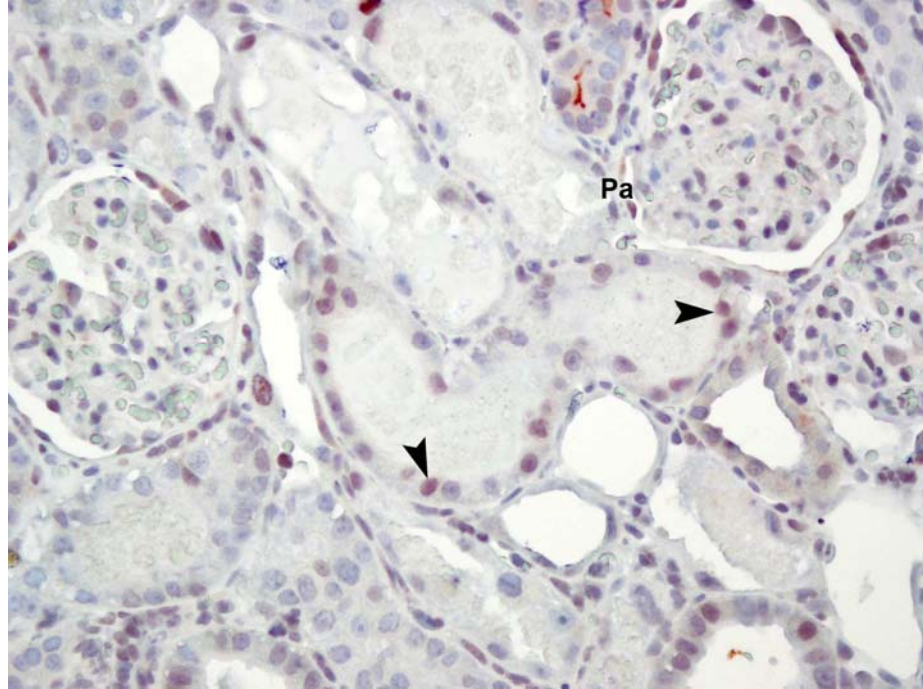
**Resim 33.** Kontrol grubuna ait böbrek korteksinde çok zayıf pozitif immünoreaktivite gösteren Malpighi cisimciği pariyetal hücre (Pa) ve proksimal tübül hücresi (ok başı) gözlenmektedir. f-p38, hematoksilin zıt boyaması, x400.



**Resim 34.** Curcumin grubuna ait böbrek korteksinde çok zayıf pozitif immünoreaktivite gösteren Malpighi cisimciği'ne ait podosit (Po) ve proksimal tübül hücresi (ok başı) gözlenmektedir. f-p38, hematoksilin zıt boyaması, x400.



**Resim 35.** Gentamisin grubuna ait böbrek korteksinde kuvvetli pozitif immünoaktivite gösteren genişlemiş tübül hücreleri (ok başı), infiltrasyon hücreleri (ok) ve Malpighi cisimciği'ne ait pariyetal yaprak hücresi (Pa) ile podosit (Po) gözlenmektedir. f-p38, hematoxilen zıt boyaması, x400.



**Resim 36.** Gentamisin+curcumin grubuna ait böbrek korteksinde zayıf pozitif ve yer yer pozitif immünoaktivite gösteren hafif genişlemiş tübül hücreleri (ok başı) ve Malpighi cisimciği'ne ait pariyetal yaprak hücresi (Pa) gözlenmektedir. f-p38, hematoxilen zıt boyaması, x400.

## TARTIŞMA

Aminoglikozidler, 1940'larda streptomisin bulunmasıyla başlayarak günümüzde de kullanımı devam eden polarite özelliği yüksek antimikrobiyal ilaçlardır. Aminoglikozid antibiyotiklerin güçlü antibakteriyal etkilerinin yanı sıra özellikle parenteral kullanımlarından sonra üç önemli ortak toksik etkileri (nefrotoksik, ototoksik ve nörotoksik) oluşabilmektedir (43). Özellikle nefrotoksik yan etkileri üzerine çok sayıda çalışma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir (1-3,5,6,8-11).

Aminoglikozidler arasında amikasin'den sonra en geniş spektrumlu ve antibakteriyel etkisi en yüksek olan antibiyotik GM'dir (43). Kimyasal stabilite ve hızlı bakterisid etkilerinden ötürü çeşitli klinik durumlarda ilk basamak ilaç olarak sıklıkla kullanılırlar (1-3,5). Bununla birlikte, bu antibiyotiklerin yüksek konsantrasyonlarında nefrotoksisite oluşabilmektedir (1,3,4,6).

GM nefrotoksisitesinin etki mekanizması aslında hala kesinlik kazanmamış olup, başta serbest oksijen radikallerinin artması olmak üzere multifaktöriyel nedenler ileri sürülmektedir. Bu mekanizmalar başlıca, hidroksiradikaller yolu ile hücre membran hasarı ve protein dejenerasyonu, böbrek korteksinde fosfolipid üretimi artışı,  $Na^+ - K^+ -ATPaz$  inhibisyonu, tromboksan  $A_2$  ve prostoglandinler üzerine etki, mikrozomal protein sentezi üzerine etki, lizozomal ve mitokondriyal hasar ile vasküler faktörler olarak sıralanırlar (1,12,13).

GM, kan yolu ile böbreklere geldikten sonra, hemen hemen tamamı glomerüler filtrasyon ile elimine edilir. Daha sonra proksimal tübülün özellikle S1 ve S2 kısımlarındaki hücrelerin fırçası yüz ve bazolateral yüzlerinden endositoz yolu ile emilime uğrarlar ve hücre içerisinde lizozomlarda birikerek hücre hasarı meydana gelmesini sağlarlar (6,7,77).

GM verilmesi ile ortaya çıkan histolojik değişiklikler başlıca, proksimal tübül hücre şişkinliği, tübüler vakuolizasyon ve fırçamsı kenar kayıpları, tübüler hücre deskuamasyonu, bazal membran erozyonları ve kalınlaşması, tübüler atrofi veya dilatasyon, hyalin cast ve interstisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonları olarak bildirilmiştir (4,8,11,73,78).

GM'nin genellikle proksimal tübül işlevine olumsuz etkileri olduğu kabul edilmesine rağmen Henle kulbunun kalın çıkan kolunda kısmen transportun azalmasına bağlı olarak idrar ve elektrolit atılımını arttırdığına dair veriler de bulunmaktadır. Yine GM verilmesi ile kortikal distal tübüllerde hasar, rejenerasyon ve apoptozis ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (1).

Bu deneysel çalışmada, GM'ye bağlı gelişen nefrotoksisitede önemli bir antioksidan olan CMN'nin koruyucu etkisinin histolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırılması amaçlandı.

Tüm gruplara ait deneklerin deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlık ölçümleri yapıldı. Buna göre, kontrol ve CMN grubunda, deney öncesi ve sonrası karşılaştırıldığında vücut ağırlıklarının arttığı ve aralarında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. GM grubunda, kontrol ve CMN grubuna göre vücut ağırlıkları anlamlı olarak azalmıştı. GM+CMN grubunda ise, GM grubu ile karşılaştırıldığında deneklerin vücut ağırlıklarındaki azalmada belirgin bir düşüş olduğu ancak bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Böbrek ağırlığı/vücut ağırlığı oranı değerlendirildiğinde, GM grubunda; kontrol ve CMN ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artışın olduğu görüldü. GM+CMN grubunda ise bu artışın anlamlı olarak değişmediği saptandı. Bizim bulgularımıza benzer olarak, Erdem ve ark. (4), yaptıkları çalışmada, kontrol grubuna kıyasla GM grubunda vücut ağırlığında azalma, böbrek ağırlığı/vücut ağırlığı oranında artış olduğunu göstermişlerdir. GM grubundaki vücut ağırlığı azalmasını, akut böbrek yetmezliğinde oluşan asidozun anoreksiye eşlik ederek bu yüzden hayvanların oral olarak yiyecek alımında bir azalma olmasına bağlamışlardır. Ayrıca, böbrek ağırlığındaki artışın da muhtemelen ilacın neden olduğu akut tübüler nekroz nedeni ile ortaya çıkan ödemden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ancak kullandığı ajan olan taurin, bu ödemi önlemede yeterli olmamıştır. Bizim çalışmamızda da böbrek ağırlığında azalma olmamasını interstisyel ödemin henüz gerilememiş olmasına bağlayabiliriz. Yine, Ali ve ark. (11), muhtemelen vücut ağırlığı azalmasının hasarlanan böbrek tübüllerine bağlı olabileceğini belirtmişler. Buna göre, hasarlanan tübül hücrelerindeki suyun geri emilim fonksiyonunun yitirilmesi ile dehidratasyon meydana gelir, bunun sonucu olarak ta vücut ağırlığı azalır şeklinde bir yorum yapmışlardır. Aynı araştırmacı, GM verilmesinden sonra plazma magnezyum konsantrasyonunun azalması ile hipomagnezemi (79) ortaya çıktığını ve

hayvanlardaki kilo kaybının buna bağlı olabileceğini savunmuşlardır. Çünkü magnezyum vücutta protein, karbonhidrat ve lipit metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan esansiyel bir mineraldir (80). Ayrıca GM, elektrolitlere direkt etkisinden başka nonspesifik olarak tedavi olan hayvanlara stres etkisi de yapar. Stresin de hipomagnezemiye yol açtığı daha önce gösterilmiştir (81).

GM alımından itibaren oluşan böbrek hasarının bir göstergesi de serum üre ve kreatinin değerlerinin artmasıdır (3-5,11,73,78). Her iki böbreğin tüm nefronlarında birim zamanda üretilen glomerüler filtrat miktarı, glomerüler filtrasyon değeri olarak bilinir. Glomerüler filtrasyonun azalması sonucu serum üre ve kreatinin seviyelerinin artmaya başladığı ileri srlmştir (82). Shifow ve ark. (78) GM'yi 8 gün boyunca 80 mg/kg ip. olarak verdiğinde kandaki üre ve kreatinin miktarlarının anlamlı bir artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Bizim alışmamızda da kontrol ve CMN gruplarında üre ve kreatinin düzeyleri normal değerlerde seyrederken, GM verilen grupta anlamlı olarak artış gösterdiği saptandı. GM ile birlikte 5 gün önceden başlanarak CMN verilen grupta ise bu değerler düşüş göstermişti, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bizim bulgularımızı destekleyen bir çalışmada, GM 6 gün verilerek nefrotoksisite oluşturulan sıçanlarda serum üre ve kreatinin değerlerinin GM grubunda anlamlı olarak arttığını ve GM ile birlikte 4 gün önceden CMN verilmesinin GM grubuna göre bu değerleri düşürdüğünü göstermişlerdir (11). Yine Farombi ve ark. (22)'nin yaptığı çalışmada ise, GM 7 gün süre ile verilmiş ve GM grubunda serum üre ve kreatinin değerleri kontrol ve CMN grubuna göre anlamlı bir artış gösterirken GM ile birlikte 7 gün önceden başlanarak CMN verilmesi, bu artışı anlamlı bir şekilde dşrmştir.

Böbrek korteksinde morfolojik değişikliklerin en fazla görüldüğü yapılar, tübüler alanlardı.

En belirgin histolojik değişikliği de tübüler genişlemeler oluşturuyordu. Genişlemiş tübüller daha çok korteksin dış kısmında yaygın olmak üzere iç kısma doğru uzanmakta hatta medullada devam etmekteydi. Tübüler genişlemeler GM verilmesi ile nefrotoksisite yapılan bazı çalışmalarda yer almaktadır (4,73,83). Bu genişlemeler daha çok distal tübüllerde ortaya çıkmakta ve bu tübülleri, atrofiye uğrayarak yuvarlak görünümlerini yitirip yassılaşan hücreler dşemekteydi. Ayrıca bu genişlemiş tübüllerin lümeninde yer yer deskuame olmuş hücrelere rastlandı. Aynı bulgular, yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (73,83).

GM alımından sonra oluşan böbrek hasarının bir diğer belirtisi ise genişlemiş tbllerle birlikte tübül lümeninde gözlemlenen ve çeşitli çalışmalarda hyalin cast olarak adlandırılan (78,84-88) eozinofilik bayanma gösteren yapılardır. Maden (84) 2004 yılında yaptığı çalışmasında oluşan hiyalin cast'lerin genişlemiş distal tübüllerde meydana geldiğini

ileri sürmüştür. Oluşan bu yapılara farklı çalışmalarda intraluminal cast (75), protein cast (89), intratübüler cast (90) gibi çeşitli isimler de verilmiştir. Bizim çalışmamızda da genişlemiş tübüllerin lümeninde hyalin cast yapılarına rastlandı. Bu yapılar hem kortikal hem de meduller bölgede yer almaktaydı. Histopatolojileri hakkında yeterli açıklama olmamasına rağmen, yapılan çalışmalarda Henle'nin çıkan kolu ve distal tübülden sentezlenen Tamm-Horsfall proteininin hafif zincirli proteinlere bağlanarak agregasyonu sonucu tübüler cast'lerin oluştuğu ve obstruksiyona yol açtığı bildirilmiştir. Yine distal tübülde klor konsantrasyonunun artması da cast oluşumu için önemlidir, hafif zincir proteinleri Henle'de klor emilimini azaltırlar ve böylece distal tübülde toksisitenin artmasına yol açarlar (91,92). Ultrafiltratta hafif zincirli proteinlerin artması GFR azalmasına ve bu da klirens düşmesine neden olur. Bu hyalin cast yapılarına bizim çalışmamızda da özellikle genişlemiş tübül lümenlerinde sık olarak rastlandı.

GM grubundaki tübüler değişikliklerin bir diğeri, proksimal tübüllerde rastlanan fırçamsı kenar kaybıydı. Proksimal tübüllerde hücrelerin apikal yüz farklılaşması olarak bilinen fırçamsı kenar, kontrol grubunda PAS (+) boyanma özelliği gösterirken, GM grubunda kayba uğrayarak PAS (+) görünümünü yitirmişti. Tübül hücrelerin oturmuş olduğu bazal membran düzenli görünümünü kaybetmiş bazı tübüllerde kalınlaşmalar gösteriyordu. Yapılan çalışmalar da bu bulguyu desteklemektedir (1,8,9). Yine Soliman ve ark. (73) GM'nin neden olduğu nefrotoksisite üzerine karnozin'in koruyucu etkisini araştırmış olduğu çalışmasında, proksimal tübül hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon varlığından bahsetmiş, bu vakuolizasyonun hücre organellerindeki dilatasyon ve hasardan kaynaklanabileceğini ileri sürmüştür. Bizim çalışmamızda da GM grubunda, proksimal tübül hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon bulgusu çok belirgin olarak karşımıza çıktı. Yapılan diğer çalışmalarda da proksimal tübüllerde ortaya çıkan bu tübüler vakuolizasyon, üzerinde durulan başlıca histolojik bulgulardandır (4,6,7,73,93). Belirtilen tübül hücrelerindeki vakuolizasyon, hücre içi vakuolleşmenin belirtisi olarak sitoplazmada köpüksü bir görünüm şeklinde ortaya çıkmıştı. Yine bu grupta, proksimal tübülleri döşeyen epitelin ileri derecede dejeneratif değişikliklerine ve lümeninde hücre deskuamasyonuna rastlandı. Erdem ve ark. (4) bu dejeneratif değişikliklerin daha çok korteksin dış kısmında yerleşim gösterdiğine değinmişlerdir.

Karşımıza çıkan bir başka bulgu, kortekste yer alan bazı tübül hücrelerinde PAS (+) boyanan granüllerdi. Walker ve Shah (94) da, GM ile nefrotoksisitesinde PAS (+) boyanan sitoplazmik cisimcikler olarak aynı bulguya değinmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda, GM' nin lökositik infiltrasyona sebep olduğu belirtilmiş bu infiltrasyonların daha çok kortekste olmak üzere medullada da yerleşim gösterdiği savunulmuştur (73,83). Yine Farombi ve ark. (22) da lökositik infiltrasyon bulgusunu bildirmişlerdir. Ayrıca korteks bölgesinde interstisyel sahada bağ doku artışı ve ödem de gözlenen diğer histolojik bulgulardır. Kalgazi ve ark. (95)'nin yapmış oldukları çalışmada, GM nefrotoksitesisi oluşturulmuş sıçanlarda interstisyel alanda lökositik infiltrasyon, yoğun vazokonjesyon, tübüler nekroz ve glomerüller hasar gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda da kortekste ve kortikomeduller bölgede, bazıları damar çevresinde olmak üzere çok sayıda lökositik infiltrasyon odaklarına rastlandı. Bu bölgeler bazen Malpighi cisimciklerini çevrelemekte ve hatta cisimcikleri infiltre etmekteydi. Bu lökositik infiltrasyon alanlarının bulunduğu yerlerde yeni tübül oluşumları da dikkati çekmekteydi.

Böbrek proksimal tübül hücreleri, vücutta stabil hücre grubuna dahildir ve bazı uyarılara karşı köken aldığı dokuyu yeniden oluşturma gücüne sahiptir. Bunlar normalde büyüme siklusunun G<sub>0</sub> (dinlenme) fazında bulunur, ancak dokulardaki aşırı harabiyet durumunda, uyarılarak G<sub>1</sub> fazına geçebilirler. Bu arada, diğer parçalanmış tübül hücrelerinden açığa çıkan bazı faktörler, sağlam diğer hücrelerin yüzey reseptörlerine bağlanarak, hücreyi bölünme siklusuna sokan olayları aktive eder. Sonuç olarak, tüm bu sinyaller hücre nükleusuna taşınarak mitoz bölünme için gerekli transkriptif DNA yapımını başlatır, hücrenin mitozla geçip, bölünmesini sağlar (72,96,97). Bu mekanizmanın devreye girmesiyle proksimal tübüle ait epitel hücrelerinin bölünüp, çoğalarak yeni tübül oluşumlarını sağladığı düşüncesindeyiz.

Gözlemlediğimiz bir diğer değişiklikte glomerüller küçülme idi. Kortekste değişik çaplarda küçülmüş glomerüller çoğunlukla lökositik infiltrasyon sahaları yakınlarında veya içerisinde karşımıza çıktı. GM nefrotoksitesisinde glomerüller küçülme başka bir çalışmada da bildirilmiş, muhtemelen glomerüller filtrasyonun azalması ve hücre dejenerasyonuna bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmüştür (73). Ayrıca, özellikle küçülmüş glomerülleri çevreleyen Bowman kapsülüne ait hücrelerin oturduğu bazal membranda da kalınlaşma gözlemlendi. Stojiljkovic ve ark. (98) da yaptıkları çalışmalarlarıyla bu bulguyu desteklemişlerdir.

GM+CMN grubunda, böbrek korteksi incelendiğinde GM grubuna göre; genel olarak yapının korunduğu, genişlemiş tübüllerin çaplarının belirgin oranda azaldığı ve hücrelerinin yuvarlak ya da yuvarlağa yakın olduğu, proksimal tübül fırçası kenar PAS (+)'nin kısmen korunduğu, yer yer normale yakın görümlü proksimal tübüllerin varlığı, lökositik infiltrasyon odaklarının çap ve sayılarının küçüldüğü gözlemlendi. Yine glomerüller küçülmenin

gözleendiği Malpighi cisimcikleri sayıları çok azalmıştı. Ek olarak hyalin cast yapıları özellikle genişlemenin devam ettiği tübüllerde azalmakla birlikte hala varlığını sürdürmekteydi.

CMN, Zingiberaceae (Zencefilgiller) familyasına ait *Curcuma longa* bitkisinin yumrusundan elde edilen antioksidan bir bitkidir ve güçlü bir antioksidan olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (11, 20-22). Renal hücre serilerinde CMN'nin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi, in vitro olarak gösterilmiştir (28,29). Ayrıca, GM'nin neden olduğu renal oksidatif stresi CMN'nin azalttığı da gösterilmiştir (22). Ali ve ark., benzer olarak, GM nefrotoksisitesinde, CMN vererek bu nefrotoksisiteyi antioksidan etkisi ile önlediğini rapor etmiştir (11).

Çalışmamızda ayrıca böbrek korteksinde f-p38 immünreaktivitesi de incelendi. Kontrol ve CMN grubunda bu immünoreaktivite çok zayıf pozitif olarak gözlenirken, GM grubunda özellikle genişlemiş tübüllerde kuvvetli ya da çok kuvvetli pozitif olarak gözlenmekteydi. GM+CMN grubunda ise f-p38 immünoreaktivitesi belirgin oranda azalmış olarak zayıf pozitif ya da nadiren de pozitif olarak gözleendi. GM ile yapılan nefrotoksisitede p38 immünoreaktivitesinin özellikle tübüler ve interstisyel alanda arttığı daha önce gösterilmiştir (8). p38 immünoreaktivite artışı GM dışındaki başka böbrek hastalıklarında da bildirilmiştir (15).

p38, oksidatif stresi de içine alan çeşitli hücrel streslerle aktive olabilen ve hücre içi sinyal yollarında görev alan MAPK ailesinin bir üyesidir. Ek olarak inflamasyonda da görevi bulunmaktadır (15,16,30,54,57).

CMN'nin antioksidan etkisinin yanında, çeşitli hastalıklarda p38MAPK aktivitesini azaltıcı etkisi olduğu da gösterilmiştir (30-32). Bizim bulgularımızda da CMN verilmesi ile f-p38 immünoreaktivitesinin belirgin oranda azalmış olduğu tespit edildi.

Çalışmamızda, GM grubunda görülen hasarların CMN verilmesi ile azalması, CMN'nin antioksidan etkisine ek olarak p38 MAPK yolu üzerinden de etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Geniş spektrumlu bir antibiyotik olan GM'nin klinikte sıkça kullanılıyor olması itibariyle ortaya çıkabilecek böbrek hasarını, kuvvetli bir antioksidan olan ve pekçok alanda koruyucu etkinliği gösterilmiş CMN'nin daha önceki çalışmalar ve çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara bağlı olarak azaltabileceği düşüncesindeyiz. Bununla birlikte GM'ye bağlı böbrek hasarını azaltmak için özellikle moleküler düzeyde daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu kanısındayız.



## SONUÇ

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Morfoloji Anabilim Dalı Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı'nda, GM verilerek oluşturulan böbrek korteks hasarına karşı curcuminin koruyucu etkisi histolojik ve immünohistokimyasal olarak çalışılarak aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı.

1- Kontrol ve CMN grubundaki deneklerin böbrek korteksinin normal histolojik yapıya sahip oldukları gözlemlendi.

2- GM verilen grupta, böbrek korteksinde tübüler alanlar başta olmak üzere, interstisyel alan ve Malpighi cisimciklerinde histolojik değişikliklerin meydana geldiği tespit edildi.

3- Böbrek korteksinde meydana gelen bu histolojik değişiklikler; tübüler genişlemeler, proksimal tübül fırçamsı kayıpları ve hücre vakuolizasyonu, tübül lümenine hücre deskuamasyonu, lökositik infiltrasyon odakları ve glomerüller küçülme şeklindeydi.

4- Yine GM grubunda, immünohistokimyasal olarak, f-p38 immünoreaktivitesi artmış olarak gözlemlendi.

5- GM+CMN grubunda ise, yukarıda bahsedilen böbrek korteks hasarlarının ve f-p38 immünoreaktivitesinin belirgin olarak azaldığı tespit edildi.

6- GM+CMN grubunda görülen bu azalmaya, CMN'nin antioksidan etkinliği yanında p38 MAPK yolu üzerinden etkilemesinin de katkıda bulunabileceği düşünüldü.

7- Sonuç olarak, GM uygulamasından önce verilen CMN'nin GM'nin oluşturduğu böbrek hasarını önlemede etkili olabileceği, klinikte sık olarak kullanılan geniş spektrumlu bir antibiyotik olan GM'nin kullanılması durumlarında tedaviye CMN eklenmesinin yararlı olabileceği kanısına varıldı.

## ÖZET

Gentamisin (GM), Gram-negatif enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan aminoglikozid bir antibiyotiktir. En önemli yan etkisi nefrotoksitedir ve akut böbrek yetmezlikli olguların %10-20'sinden sorumludur. Curcumin (CMN)'nin antioksidan etkisinin yanında, çeşitli hastalıklarda p38 MAPK aktivitesini azaltıcı etkisi olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmada, GM'nin neden olduğu nefrotoksitede CMN'nin koruyucu etkisinin histolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırılması amaçlandı.

Kırk adet *Wistar albino* erkek sıçan herbirinde on adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Birinci grup, kontrol grubu olarak ayrıldı ve dimetilsülfoksit (DMSO, CMN'nin içinde çözüldüğü) intragastrik (ig.) yolla 15 gün boyunca verildi. İkinci (CMN) ve 4. (GM+CMN) gruba, CMN (100 mg/kg/day) ig. yolla 15 gün boyunca verildi. Üçüncü (GM) ve dördüncü (GM+CMN) gruba GM (80 mg/kg/day) intraperitoneal (ip.) yolla son 10 gün enjekte edildi. Sıçanlar, 15. günde sakrifiye edilerek böbrek dokuları histolojik ve immünohistokimyasal olarak çalışıldı. İntrakardiyak ponksiyon yolu ile kan toplanarak serum üre ve kreatinin değerleri saptandı. Deneklerin vücut ağırlıkları ölçüldü ve böbrek ağırlığı/vücut ağırlığı oranı hesaplandı.

GM, serum üre ve kreatinin değerlerinde anlamlı bir şekilde artmaya neden olarak nefrotoksititeye neden oldu. Sadece GM verilen grupta, tübüllerde ve glomerüllerde dejeneratif değişiklikler görüldü. Bu değişiklikler, tübüler genişleme, proksimal tübüllerde tübüler vakuolizasyon ve fırçamsı kenar kayıpları, lökositik infiltrasyon odakları, glomerüllerde küçülme bazal membran kalınlaşması şeklindeydi. Bazı tübüller içerisinde deskuame olmuş nekrotik hücreler, bazılarında ise hyalin cast'ler bulunuyordu. Ayrıca,

Bowman kapsülünün bazal membranında kalınlaşma gözlemlendi. Bundan başka, immünohistokimyasal olarak, p38 MAPK immünoaktivitesi GM grubunda böbrek korteksinde artış gösterdi. CMN, GM'nin yükselttiği serum üre ve kreatinin değerini azalttı, ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yine, GM verilmesinin neden olduğu vücut ağırlığı kaybını istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte azalttı, ancak böbrek ağırlığı/vücut ağırlığı oranını değiştirmede. Ek olarak CMN tedavisi, tübüler ve glomerüler dejenerasyonla birlikte p38 MAPK immünoaktivitesini belirgin olarak azalttı.

Sonuç olarak, CMN'nin antioksidan etkisinin yanında p38 MAPK yolu üzerinden de etki göstererek GM'nin neden olduğu nefrotoksisiteyi azaltabileceği düşüncesindeyiz.

**Anahtar kelimeler:** Gentamisin, curcumin, nefrotoksisite, p38 MAPK

# **PROTECTIVE EFFECT OF CURCUMIN AGAINST GENTAMICIN INDUCED KIDNEY CORTEX DAMAGE: A MORPHOLOGICAL STUDY**

## **SUMMARY**

Gentamicin (GM), is an aminoglycoside antibiotic which is commonly used for the treatment of Gram-negative infections. A major side effect of GM is nephrotoxicity, accounting for 10-20% of all acute renal failure cases. It has been reported that curcumin (CMN) has antioxidant activity and inhibitor effect to the p38 MAPK activity in various diseases. In this study we aimed to examine histologically and immunohistochemically the protective effect of CMN against GM-induced nephrotoxicity in rats.

Forty male *Wistar albino* rats were divided into four groups, each consisted of ten rats. The first group served as the control and gavaged with dimethyl sulfoxide (DMSO, vehicle for CMN) for 15 days. The second (CMN) and fourth (GM+CMN) groups gavaged with CMN (100 mg/kg/day) for 15 days. The third (GM) and fourth groups injected with GM intraperitoneally (80 mg/kg/day) for the last 10 days. The rats were sacrificed on the 15th day and kidney tissues were collected for histological and immunohistochemical studies. Intracardiac blood was collected for serum urea and creatine determination. Changes in body weight and kidney weight/body weight were recorded.

GM caused a nephrotoxicity, characterized with a significant increase in serum urea and creatinin concentrations compared with control and CMN group. The rats injected with GM alone showed a degenerative changes in tubules and glomeruli. These changes include, dilated

tubules, vacuolated tubular cells and loss of brush border in proximal tubules, leukocytic infiltration foci, shrunken glomerulus. Some tubules were filled with desquamated necrotic cells, while others were filled with hyalin cast. Also increased thickness of basement membrane was observed in Bowman's capsule. Furthermore, immunohistochemistry revealed increased p38 MAPK immunoreactivity in the kidney cortex of GM group. CMN treatment reduced GM induced increases serum urea and creatine, but this changes were not statistically significant. Also, CMN reduced body weight loss due to the GM administration, but not statistically significant, and did not changed kidney weight/body weight. In addition, CMN treatment markedly reduced tubular and glomerular degeneration, and also decreased p38 MAPK immunoreactivity.

In conclusion, we have suggested that CMN may attenuate GM induced nephrotoxicity via the inhibition of p38 MAPK signaling pathway in addition to antioxidant effect.

**Key words:** Gentamicin, curcumin, nephrotoxicity, p38 MAPK

## KAYNAKLAR

1. Ali BH. Gentamicin nephrotoxicity in humans and animals: some recent research. *Gen Pharmacol.* 1995;26(7):1477-87.
2. Maldonado PD, Barrera D, Rivero I, Mata R, Medina-Campos ON, Hernández-Pando R, Pedraza-Chaverrí J. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. *Free Radic Biol Med.* 2003;35(3):317-24.
3. Walker PD, Shah SV. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest.* 1988;81(2):334-41.
4. Erdem A, Gündoğan NU, Usubütün A, Kiliç K, Erdem SR, Kara A, Bozkurt A. The protective effect of taurine against gentamicin-induced acute tubular necrosis in rats. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15(8):1175-82.
5. Paterson DL, Robson JM, Wagener MM. Risk factors for toxicity in elderly patients given aminoglycosides once daily. *J Gen Intern Med.* 1998;13(11):735-9.
6. Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. Aminoglycosides: nephrotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43(5):1003-12.
7. Li M, Maderdrut JL, Lertora JJ, Arimura A, Batuman V. Renoprotection by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in multiple myeloma and other kidney diseases. *Regul Pept.* 2008;145(1-3):24-32.
8. Volpini RA, Balbi AP, Costa RS, Coimbra TM. Increased expression of p38 mitogen-activated protein kinase is related to the acute renal lesions induced by gentamicin. *Braz J Med Biol Res.* 2006;39(6):817-23.

9. Tulkens PM. Nephrotoxicity of aminoglycoside antibiotics. *Toxicol Lett.* 1989;46(1-3):107-23.
10. Mingeot-Leclercq MP, Glupczynski Y, Tulkens PM. Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43(4):727-37.
11. Ali BH, Al-Wabel N, Mahmoud O, Mousa HM, Hashad M. Curcumin has a palliative action on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005;19(4):473-7.
12. Priuska EM, Schacht J. Formation of free radicals by gentamicin and iron and evidence for an iron/gentamicin complex. *Biochem Pharmacol.* 1995;50(11):1749-52.
13. Morales AI, Buitrago JM, Santiago JM, Fernández-Tagarro M, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F. Protective effect of trans-resveratrol on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Antioxid Redox Signal.* 2002;4(6):893-8.
14. Yanagida C, Ito K, Komiya I, Horie T. Protective effect of fosfomycin on gentamicin-induced lipid peroxidation of rat renal tissue. *Chem Biol Interact.* 2004;148(3):139-47.
15. Stambe C, Atkins RC, Tesch GH, Kapoun AM, Hill PA, Schreiner GF, Nikolic-Paterson DJ. Blockade of p38alpha MAPK ameliorates acute inflammatory renal injury in rat anti-GBM glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(2):338-51.
16. Kumar S, Boehm J, Lee JC. p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2003;2(9):717-26.
17. Haddad JJ. Mitogen-activated protein kinases and the evolution of Alzheimer's: a revolutionary neurogenetic axis for therapeutic intervention? *Prog Neurobiol.* 2004;73(5):359-77.
18. Uslu E. Curcumin'in stres ülserlere etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi.* 2002, 33:93-96.
19. Itokawa H, Shi Q, Akiyama T, Morris-Natschke SL, Lee KH. Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chin Med.* 2008;17;3:11.
20. Priyadarsini KI. Free radical reactions of curcumin in membrane models. *Free Radic Biol Med.* 1997;23(6):838-43.

21. Pandya U, Saini MK, Jin GF, Awasthi S, Godley BF, Awasthi YC. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. *Toxicol Lett.* 2000;115(3):195-204.
22. Farombi EO, Ekor M. Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol.* 2006;44(9):1443-8.
23. Ozen N, Uslu E, Ozen M, Aydin S, Altug T, Belce A, Kokoglu E. Curcumin's effects on sialic acid level and sialidase activity in Ehrlich ascites tumor bearing mice. *Tohoku J Exp Med.* 2002;197(4):221-7.
24. Bhaumik S, Jyothi MD, Khar A. Differential modulation of nitric oxide production by curcumin in host macrophages and NK cells. *FEBS Lett.* 2000;483(1):78-82.
25. Kuroda M, Mimaki Y, Nishiyama T, Mae T, Kishida H, Tsukagawa M, Takahashi K, Kawada T, Nakagawa K, Kitahara M. Hypoglycemic effects of turmeric (*Curcuma longa* L. rhizomes) on genetically diabetic KK-Ay mice. *Biol Pharm Bull.* 2005;28(5):937-9.
26. Negi PS, Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Antibacterial activity of turmeric oil: a byproduct from curcumin manufacture. *J Agric Food Chem.* 1999;47(10):4297-300.
27. Jagetia GC, Rajanikant GK. Curcumin treatment enhances the repair and regeneration of wounds in mice exposed to hemibody gamma-irradiation. *Plast Reconstr Surg.* 2005;115(2):515-28.
28. Balogun E, Foresti R, Green CJ, Motterlini R. Changes in temperature modulate heme oxygenase-1 induction by curcumin in renal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;308(4):950-5.
29. Okada K, Wangpoengtrakul C, Tanaka T, Toyokuni S, Uchida K, Osawa T. Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress-induced renal injury in mice. *J Nutr.* 2001;131(8):2090-5.
30. Cho JW, Park K, Kweon GR, Jang BC, Baek WK, Suh MH, Kim CW, Lee KS, Suh SI. Curcumin inhibits the expression of COX-2 in UVB-irradiated human keratinocytes (HaCaT) by inhibiting activation of AP-1: p38 MAP kinase and JNK as potential upstream targets. *Exp Mol Med.* 2005;37(3):186-92.
31. Tikoo K, Meena RL, Kabra DG, Gaikwad AB. Change in post-translational modifications of histone H3, heat-shock protein-27 and MAP kinase p38 expression by curcumin in streptozotocin-induced type I diabetic nephropathy. *Br J Pharmacol.* 2008;153(6):1225-31.



32. Ilbey YO, Ozbek E, Cekmen M, Simsek A, Otunctemur A, Somay A. Protective effect of curcumin in cisplatin-induced oxidative injury in rat testis: mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B signaling pathways. *Hum Reprod.* 2009;24(7):1717-25.
33. Ovalle WK, Nahirney PC. Üriner sistem (Çeviri: İ. Seçkin, E. Güzel Oğuz). Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Editörler). *Netter temel histoloji.* Ankara: Güneş Tıp Evleri; 2009:354-372.
34. Moore KL, Persaud TWN. Ürogenital sistem (çeviri: Polat S) Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Editörler). *İnsan embriyolojisi klinik yönleri ile.* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002:304-322.
35. Sadler TW (Çeviri: Prof. Dr. Can Başaklar). *Langman's medikal embriyoloji.* Ankara: Palme Yayıncılık; 1996:260-268.
36. Yıldırım M. *Topografik Anatomi.* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000:258-62.
37. Yıldırım M. *Resimli İnsan Anatomisi.* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:95-97.
38. Junqueira LC, Corneiro J (Çeviri: Y. Aytekin, S. Solakoğlu). *Temel histoloji.* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2003:383-401.
39. Ozan H. *Ozan Anatomi.* Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004:292-304.
40. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Urinary system, In: Scogna KH (Ed) *Histology a text and atlas.* 4th ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins; 2003. p. 603-641.
41. Kierszenbaum AL, (Çeviri: R. Demir). *Histoloji ve hücre biyolojisi.* Ankara: Palme Yayıncılık; 2006:365-390.
42. Gartner LP, Hiatt JL. *Color textbook of histology.* Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997:358-81.
43. Kayaalp O. *Tıbbi Farmakoloji.* Ankara: Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık, 2009:216-24.
44. Dökmeci İ. *Farmakoloji temel kavramlar.* 1. basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000:883-91.
45. Engineer MS, Bodey GP Sr, Newman RA, Ho DH. Effects of cisplatin-induced nephrotoxicity on gentamicin pharmacokinetics in rats. *Drug Metab Dispos.* 1987;15(3):329-34.

46. Sanders TW Jr, Reinhard MK, Jollow DJ, Hottendorf GH. Lack of in vivo evidence of a cytochrome P450 metabolite participating in aminoglycoside nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol.* 1993;45(3):780-2.
47. Weinberg JM, Hunt D, Humes HD. Distribution of gentamicin among subcellular fractions from rat renal cortex. *Biochem Pharmacol.* 1985;34(10):1779-87.
48. Williams PD, Hottendorf GH. Inhibition of renal membrane binding and nephrotoxicity of gentamicin by polyasparagine and polyaspartic acid in the rat. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1985;47(2):317-20.
49. Kacew S. Inhibition of gentamicin-induced nephrotoxicity by pyridoxal-5'-phosphate in the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1989;248(1):360-6.
50. Chan MK, Chan KW, Ng WL. Amelioration of gentamicin nephrotoxicity by phospholipids. *Nephrol Dial Transplant.* 1991;6(9):608-14.
51. Nakajima T, Hishida A, Kato A. Mechanisms for protective effects of free radical scavengers on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *Am J Physiol.* 1994;266(3 Pt 2):F425-31.
52. Strimpakos AS, Sharma RA. Curcumin: preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. *Antioxid Redox Signal.* 2008;10(3):511-45.
53. Pan MH, Huang TM, Lin JK. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metab Dispos.* 1999;27(4):486-94.
54. Poyraz İ. *Origanum Onites* L.'de Mitojenler Tarafından Aktive Edilen Protein Kinaz Kinaz (MAPKK) Enzim Ailesi Üyelerinden Birinin Klonlanması ve Enzimatik Olarak Tanımlanması (tez). Eskişehir: Anadolu Üniversitesi; 2007.
55. Doğan AL, Dicle Güç. Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2004;35:34-42.
56. Saydam G. Hematolojik Malignitelere Sinyal İletim Sistemleri. Moleküler Hematoloji ve Sitogenetik Alt Komitesi Temel Moleküler Hematoloji Kursu. İzmir: Ege Üniversitesi; 49-60.
57. Köksal G. Östrojen ve Progesteronun Endometriyum Hücrelerinde Mitojenle Aktive Olan Protein Kinazlar Üzerine Etkisi (tez). İstanbul: İstanbul Bilim Üniversitesi; 2009.
58. Kolch W. Meaningful relationships: the regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *Biochem J.* 2000;351( 2):289-305.
59. Nakagami H, Pitzschke A, Hirt H. Emerging MAP kinase pathways in plant stress signalling. *Trends Plant Sci.* 2005;10(7):339-46.

60. Hasan Akkoç. İskemik önkoşullama mekanizmaları. Hacettepe Üniversitesi, Ecz Fak Derg 2007; 27( 2):165-76.
61. Cansız C. Overin Seröz Adenokarsinomları ve Seröz Borderline Tümörlerinde Ras/ Raf/ Mek/ Mapk Yolağındaki Moleküler Değişikliklerin İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2008.
62. Kayaalp, SO “Endokrin sistem Farmakolojisinin Esasları” Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10. baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık, 2002:1165.
63. Olson JM, Hallahan AR. P38 MAP kinase: a convergence point in cancer therapy. Trends Mol Med, 2004;10(3):125-9.
64. Fang, JY, Richardson BC. The MAPK signalling pathways and colorectal cancer, Lancet Oncol. 2005;6:322-7.
65. Brozovic A, Omsak M. Activation of mitogen-activated protein kinases by cisplatin and their role in cisplatin-resistance. Cancer Lett. 2007; 251:1-16.
66. Ikezumi Y, Hurst L, Atkins RC, Nikolic-Paterson DJ. Macrophage-mediated renal injury is dependent on signaling via the JNK pathway. J Am Soc Nephrol. 2004;15(7):1775-84.
67. F.Y. Ma, J. Liu and D.J. Nikolic-Paterson. The role of stress-activated protein kinase signaling in renal pathophysiology. Braz J Med Biol Res 2009;42:29-37.
68. Whyte J, Bergin O, Bianchi A, McNally S, Martin F. Key signalling nodes in mammary gland development and cancer. Mitogen-activated protein kinase signalling in experimental models of breast cancer progression and in mammary gland development. Breast Cancer Res 2009;11(5):209.
69. Peng S, Zhang Y, Zhang J, Wang H, Ren B. ERK in learning and memory: A review of recent research. Int J Mol Sci. 2010;11(1):222-32.
70. Cooper GM, Hausman RE (Çeviri: M. Sakızlı, N. Atabey). Hücre. Moleküler yaklaşım. İzmir: İzmir Tıp Kitabevi; 2006:565-70.
71. Zhuang S. and Schnellmann R. G. A Death-Promoting Role for Extracellular Signal-Regulated Kinase. J Pharmacol Exp Ther. 2006;319(3):991-7.
72. Uz YH. Siklosporin-A Verilen Sıçanların Böbrek Korteksleri Üzerine E Vitamini Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Olarak İncelenmesi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2000.
73. Soliman KM, Abdul-Hamid M, Othman AI. Effect of carnosine on gentamicin-induced nephrotoxicity. Med Sci Monit. 2007;13(3):73-83.

74. Uz YH, Murk W, Bozkurt I, Kizilay G, Arici A, Kayisli UA. Increased c-Jun N-terminal kinase activation in human endometriotic endothelial cells. *Histochem Cell Biol.* 2011;135(1):83-91.
75. Ozbek E, Cekmen M, Ilbey YO, Simsek A, Polat EC, Somay A. Atorvastatin prevents gentamicin-induced renal damage in rats through the inhibition of p38-MAPK and NF-kappaB pathways. *Ren Fail.* 2009;31(5):382-92.
76. Erboğa M. Sıçanlarda Plasenta Gelişiminin Morfolojik Olarak İncelenmesi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.
77. Laurent G, Kishore BK, Tulkens pm. Aminoglycoside-induced renal phospholipidosis and nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol.* 1990;40(11):2383-92.
78. Shifow AA, Kumar KV, Naidu MU, Ratnakar KS. Melatonin, a pineal hormone with antioxidant property, protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Nephron.* 2000;85(2):167-74.
79. Ali B. H, Abdel Gayoum AA, Bashir AA. Gentamicin Nephrotoxicity in Rat: Some Biochemical Correlates. *Pharmacol Toxicol* 1992;70:419-23.
80. Whang R. Magnesium deficiency. Causes and clinical implications. *Drugs.* 1984;28 Suppl 1:143-50.
81. Donoghue DJ, Krueger WF, Donoghue AM, Byrd JA, Ali DH, el Halawani ME. Magnesium-aspartate-hydrochloride reduces weight loss in heat-stressed laying hens. *Poult Sci.* 1990;69(11):1862-8.
82. Ural M. Sikloporin A'nın Sıçanlarda Oluşturduğu Nefrotoksisiteye Vitamin C ile Vitamin E' nin ve Verapamilin Etkilerinin Işık Mikroskobunda Değerlendirilmesi (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2004.
83. Aygün FÖ. Sıçanlarda Deneysel Gentamisin Nefrotoksisitesinde Oksidatif Stresin Rolünün ve olası Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Esterin Etkisinin Araştırılması (tez). Isparta. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2010.
84. Maden M. Deneysel Gentamisin Nefrotoksisitesinde Üriner Enzim Aktivitelerinin Önemi (tez). Konya: Selçuk Üniversitesi;1994.
85. Ateşşahin A, Karahan I, Yılmaz S, Ceribaşı AO, Princci I. The effect of manganese chloride on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res.* 2003;48(6):637-42.
86. Karahan I, Ateşşahin A, Yılmaz S, Ceribaşı AO, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology.* 2005;215(3):198-204.

87. El-Ashmawy IM, El-Nahas AF, Salama OM. Grape seed extract prevents gentamicin-induced nephrotoxicity and genotoxicity in bone marrow cells of mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2006;99(3):230-6.
88. Valdivielso JM, Rivas-Cabañero L, Morales AI, Arévalo M, López-Novoa JM, Pérez-Barriocanal F. Increased renal glomerular endothelin-1 release in gentamicin-induced nephrotoxicity. *Int J Exp Pathol*. 1999;80(5):265-70.
89. Bledsoe G, Shen B, Yao YY, Hagiwara M, Mizell B, Teuton M, Grass D, Chao L, Chao J. Role of tissue kallikrein in prevention and recovery of gentamicin-induced renal injury. *Toxicol Sci*. 2008;102(2):433-43.
90. Trachtman H, Schwob N, Maesaka J, Valderrama E. Dietary vitamin E supplementation ameliorates renal injury in chronic puromycin aminonucleoside nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 1995;5(10):1811-9.
91. Sanders PW, Booker BB, Bishop JB, Cheung HC. Mechanisms of intranephronal proteinaceous cast formation by low molecular weight proteins. *J Clin Invest*. 1990;85(2):570-6.
92. Iggo N, Winearls CG, Davies DR. The development of cast nephropathy in multiple myeloma. *QJM*. 1997;90(11):653-6.
93. Kent AL, Maxwell LE, Koina ME, Falk MC, Willenborg D, Dahlstrom JE. Renal glomeruli and tubular injury following indomethacin, ibuprofen, and gentamicin exposure in a neonatal rat model. *Pediatr Res*. 2007;62(3):307-12.
94. Walker PD, Shah SV. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest*. 1988;81(2):334-41.
95. Kolgazi M, Arbak S, Alican I. The effect of alpha-melanocyte stimulating hormone on gentamicin-induced acute nephrotoxicity in rats. *J Appl Toxicol*. 2007;27(2):183-8.
96. Çevikbaş U, editör. *Onarım: Hücre Rejenerasyonu, Fibrozis ve Yara İyileşmesi*. Temel Patoloji 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000;47-59.
97. Topçu Y. *Cisplatinin Oluşturduğu Böbrek Korteks Hasarlarına E ve C Vitamini Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi (tez)*. Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2003.
98. Stojiljkovic N, Mihailovic D, Veljkovic S, Stoiljkovic M, Jovanovic I. Glomerular basement membrane alterations induced by gentamicin administration in rats. *Exp Toxicol Pathol*. 2008;60(1):69-75.

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Metanefroz (kalıcı böbrek)'un gelişimi .....	6
Şekil 2. Çeşitli düzlemlerde kesilmiş, parankima ve renal pelvisi gösteren sağ böbrek .....	8
Şekil 3. Ürinifer tübülün yapısal elemanları ve nefron tipleri .....	9
Şekil 4. Böbrek cisimciğini oluşturan yapılar ve jugstaglomerüler aygıt .....	10
Şekil 5. Gentamisin kimyasal yapısı .....	16
Şekil 6. Curcumin kimyasal formülü .....	20
Şekil 7. MAPK ailesi ve sinyal iletimi .....	23

### Resimler

Resim 1: Kontrol grubu, H+E, X40 .....	35
Resim 2: Kontrol grubu, H+E, X200 .....	35
Resim 3: Kontrol grubu, H+E, X400 .....	36
Resim 4: Kontrol grubu, PAS+HL, X400 .....	36
Resim 5: Kontrol grubu, Masson trikrom, X400 .....	37
Resim 6: Curcumin grubu, H+E, X40 .....	37
Resim 7: Curcumin grubu, H+E, X100 .....	38
Resim 8: Curcumin grubu, PAS+HL, X200 .....	38
Resim 9: Curcumin grubu, PAS+HL, X400 .....	39
Resim 10: Curcumin grubu, Masson trikrom, X400 .....	39
Resim 11: Gentamisin grubu, H+E, X40 .....	40
Resim 12: Gentamisin grubu, H+E, X200 .....	40

<b>Resim 13:</b> Gentamisin grubu, H+E, X200 .....	41
<b>Resim 14:</b> Gentamisin grubu, H+E, X400 .....	41
<b>Resim 15:</b> Gentamisin grubu, H+E, X400 .....	42
<b>Resim 16:</b> Gentamisin grubu, H+E, X400 .....	42
<b>Resim 17:</b> Gentamisin grubu, PAS+HL, X200 .....	43
<b>Resim 18:</b> Gentamisin grubu, PAS+HL, X400 .....	43
<b>Resim 19:</b> Gentamisin grubu, PAS+HL, X400 .....	44
<b>Resim 20:</b> Gentamisin grubu, PAS+HL, X400 .....	44
<b>Resim 21:</b> Gentamisin grubu, Masson trikom, X200 .....	45
<b>Resim 22:</b> Gentamisin grubu, Masson trikom, X400 .....	45
<b>Resim 23:</b> Gentamisin grubu, Masson trikom, X400 .....	46
<b>Resim 24:</b> Gentamisin+Curcumin grubu, H+E, X40 .....	46
<b>Resim 25:</b> Gentamisin+Curcumin grubu, H+E, X200 .....	47
<b>Resim 26:</b> Gentamisin+Curcumin grubu, PAS+HL, X100 .....	47
<b>Resim 27:</b> Gentamisin+Curcumin grubu, PAS+HL, X200 .....	48
<b>Resim 28:</b> Gentamisin+Curcumin grubu, PAS+HL, X400 .....	48
<b>Resim 29:</b> Gentamisin+Curcumin grubu, PAS+HL, X400 .....	49
<b>Resim 30:</b> Gentamisin+Curcumin grubu, Masson trikom, X100 .....	49
<b>Resim 31:</b> Gentamisin+Curcumin grubu, Masson trikom, X200 .....	50
<b>Resim 32:</b> Gentamisin+Curcumin grubu, Masson trikom, X400 .....	50
<b>Resim 33:</b> Kontrol grubu, f-p38, hematoksilen zıt boyaması, X400 .....	51
<b>Resim 34:</b> Curcumin grubu, f-p38, hematoksilen zıt boyaması, X400 .....	51
<b>Resim 35:</b> Gentamisin grubu, f-p38, hematoksilen zıt boyaması, X400 .....	52
<b>Resim 36:</b> Gentamisin+Curcumin, f-p38, hematoksilen zıt boyaması, X400 .....	52

### **Tablolar**

<b>Tablo 1.</b> Kontrol ve deney gruplarının vücut ağırlıkları (VA) değişimi ve böbrek ağırlığı/vücut ağırlığı oranlarının (BA/VA*1000) karşılaştırılması .....	30
<b>Tablo 2.</b> Kontrol ve deney gruplarının serum üre ve kreatinin değerlerinin karşılaştırılması.....	30
<b>Tablo 3.</b> Kontrol ve deney gruplarının histolojik yapı değişikliklerinin semikantitatif değerlendirilmesi .....	33
<b>Tablo 4.</b> Kontrol ve deney gruplarının f-p38 immünoreaktivitelerinin semikantitatif değerlendirilmesi .....	34

## **ÖZGEÇMİŞ**

1985 yılında İstanbul'da doğdum. Orta öğrenimimi Çemberlitaş Kız Lisesi'nde tamamladıktan sonra, 2003 yılında Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimime başladım. 2007 yılında biyolog ünvanı alarak mezun oldum. 2008 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Morfoloji Anabilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım ve eğitimimi sürdürmekteyim.



## **EKLER**


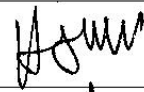




T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

KARAR NO: 2011.06.06

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ'un yaptığı Biol. Duygu UZUN Yüksek Lisans tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2011/37 protokol nolu "Gentamisin Neden Olduğu Böbrek Korteks Hasarına Karşı Curcuminin Koruyucu Etkisinin Morfolojik Olarak İncelenmesi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	