

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA GENTAMİSİN'LE OLUŞTURULAN
NEFROTOKSİSİTE ÜZERİNE ORİGANUM MAJORANA
(MERCANKÖŞK) YAĞININ KORUYUCU ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Şeyh Abdullah ÖZDAŞÇI**

**Danışman
Prof. Dr. Birkan YAKAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Ekim 2017
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA GENTAMİSİN'LE OLUŞTURULAN
NEFROTOKSİSİTE ÜZERİNE ORİGANUM MAJORANA
(MERCANKÖŞK) YAĞININ KORUYUCU ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

**Hazırlayan
Şeyh Abdullah ÖZDAŞÇI**

**Danışman
Prof. Dr. Birkan YAKAN**

Yüksek Lisans Tezi

**Ekim 2017
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Şeyh Abdullah ÖZDAŞÇI

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Sıçanlarda GM’le Oluşturulan Nefrotoksisite Üzerine Origanum Majorana (Mercanköşk) Yağının Koruyucu Etkisinin İncelenmesi” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Danışman

Şeyh Abdullah ÖZDAŞÇI

Prof. Dr. Birkan YAKAN

İmza

İmza

Histoloji-Embriyoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Birkan YAKAN

Prof. Dr. Birkan YAKAN danışmanlığında **Şeyh Abdullah ÖZDAŞÇI** tarafından hazırlanan “**Sıçanlarda GM’le Oluşturulan Nefrotoksisite Üzerine Origanum Majorana (Mercanköşk) Yağının Koruyucu Etkisinin İncelenmesi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında **yüksek lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

..... / /

(Tez savunma sınav tarihi yazılacaktır.)

JÜRİ:

Danışman: Prof. Dr. Birkan YAKAN (Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı)

Üye : (..... Anabilim Dalı)

Üye : (..... Anabilim Dalı)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

.....
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde ve tezimin hazırlanması sürecinde bilgisinden, tecrübelerinden faydalandığım ve bu aşamalar boyunca hep desteğini gördüğüm değerli danışman hocam Prof. Dr. Birkan YAKAN,

Histoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR, Doç. Dr. Arzu YAY, Dr. Esra BALCIOĞLU, Dr. Derya KARABULUT, Özge GÖKTEPE, Gözde Özge ÖNDER, Betül YALÇIN

Tüm deney aşamalarında yardımlarını hiç esirgemeyen, başta Emin KAYMAK olmak üzere Ali Tuğrul AKİN

Yüksek Lisans öğrencisi arkadaşlarım Ayşe CEYHAN, Hande Yahşi, Pınar ALIŞAN

Yüksek Lisans eğitimim süresince bana anlayış ve kolaylık gösteren görev yaptığım okulum Ahmet Baldöktü Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi idarecilerine

Öğrencilerim Kamer GÖKER ve Tuğçe GÖNGÜL

İstatiksel analizlerde yardımcı olan Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Niyazi ACER'e teşekkür ederim.

Şeyh Abdullah ÖZDAŞCI

Kayseri, Ekim 2017

SIÇANLARDA GENTAMİSİN'LE OLUŞTURULAN NEFROTOKSİSİTE ÜZERİNE ORİGANUM MAJORANA (MERCANKÖŞK) YAĞININ KORUYUCU ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Şeyh Abdullah ÖZDAŞCI

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Ekim 2017

Danışman: Prof. Dr. Birkan YAKAN

ÖZET

Bu çalışmada, Mercanköşk (*Origanum majorana*) yağının sıçanlarda Gentamisin (GM) ile oluşturulan böbrek hasarı üzerindeki koruyucu etkisinin olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) yetiştirilen 2 aylık (yaklaşık 200-250 gr ağırlığında) toplam 48 adet Wistar albino türü erişkin erkek sıçan kullanıldı. Denekler rastgele 6 gruba ayrıldı.

Grup 1 (n=8): Kontrol grubu, Grup 2 (n=8): 0.32 ml/kg/gün (oral yolla 28 gün) Mercanköşk yağı verilen grup, Grup 3 (n=8): 0.64 ml/kg/gün (oral yolla 28 gün) Mercanköşk yağı verilen grup, Grup 4 (n=8): 100 mg/kg/gün Gentamicin (GM) intraperitoneal (i.p.) uygulanan grup (21. günden itibaren 8 gün boyunca GM uygulandı. 21. güne kadar normal beslenmesi dışında başka bir madde verilmedi), Grup 5 (n=8): 0.32 ml/kg/gün (oral yolla 28 gün) Mercanköşk yağı ile birlikte 100 mg/kg/gün GM (21. günden itibaren) verilen grup, Grup 6 (n=8): 0.64 ml/kg/gün (oral yolla 28 gün) Mercanköşk yağı ile birlikte 100 mg/kg/gün GM (21. günden itibaren) verilen grup şeklinde gruplar oluşturuldu. Deney sonunda sıçanlar 12 saat aç bırakıldı ve 29. Günde dekapite edilerek böbrekleri histolojik ve biyokimyasal bulgular için alındı.

GM uygulanan gruplarda histopatolojik sonuçlara göre; hemoraji, tübüler dejenerasyon ve glomerüler dilatasyon görülürken, GM'le birlikte Mercanköşk yağı uygulanan gruplarda bu bulgulara belirgin azalma oldu. TUNNEL sonuçlarına göre ise; sadece GM uygulanan gruplarda bariz apoptoz görülürken, GM'le birlikte Mercanköşk yağı uygulanan gruplardaki apoptotik hücre sayılarında belirgin azalma görüldü. GM'in

sıçanlarda oluşturduğu nefrotoksisiteye karşı, GM'le birlikte Mercanköşk yağının verilmesinin hem histopatolojik, hem de bazı biyokimyasal parametreler (MDA, SOD, CAT) üzerinde olumlu değişimler gözlemlendi.

Meydana gelen bu olumlu değişimlere bakarak, Mercanköşk yağının böbrek dokusunu koruyucu özelliğinin bulunduğu ve nefrotoksik hasarı azalttığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: GM, Mercanköşk Yağı, Sıçan, Böbrek

THE INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF ORIGANUM MAJORANA OIL ON GENTAMICIN-INDUCED KIDNEY DAMAGED IN RAT

Şeyh Abdullah ÖZDAŞCI

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Histology and Embryology

M.Sc. Thesis, October 2017

Supervisor: Prof. Dr. Birkan YAKAN

ABSTRACT

In this study we aimed to investigate the protective effect of origanum majorana essential oil on gentamicin-induced kidney damage in rats.

48 adult male Wistar albino rats that raised in DEKAM (Erciyes University Experimental And Clinic Researches Centre) were used for this study.

The animals randomly assigned into six groups of eight rats each as follows: Group I received olive oil and served as control; Group II received O. majorana essential oil at a dose 0.32 ml/kg body weight daily. Group III received O. majorana essential oil at a dose 0.64 ml/kg body weight daily. Group IV received only gentamicin at a dose 100 mg/kg body weight daily (from 21st day to 28th day); Group V received the same as group IV+O. majorana essential oil (0.32 ml/kg body weight daily); Group VI received the same as group IV+O. majorana essential oil (0.64 ml/kg body weight daily). At the end of the administration, the animals were fasted for 12 h and sacrificed by ether anesthesia on 29th day.

Hemorrhage, tubular degeneration and glomerular dilatation were observed in the groups treated with gentamicin but there was a marked decrease in these findings in the groups treated with Gentamicin and Marjoram.

Apoptosis were also observed in the groups treated with gentamicin but there was a marked decrease in these findings in the groups treated with Gentamicin and Marjoram.

The co-administration of gentamicin and origanum majorana essential oil resulted in positive changes on some parameters such as histopathological as well as SOD, CAT, MDA.

Looking at these positive changes, it has been observed that *origanum majorana* essential oil has protective effect of kidney tissue and reduces nephrotoxic damage.

Keywords: Gentamicin, *Origanum Majorana* Essential Oil, Rat, Kidney

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY :	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ÜRİNER SİSTEM	3
2.2. BÖBREKLER	3
2.2.1. Böbrek Cisimcikleri ve Kanın Süzülmesi.....	4
2.2.2. Proksimal Kıvrımlı Tübüller.....	7
2.2.3. Henle Kangalı	8
2.2.4. Distal Kıvrımlı Tübül.....	9
2.2.5. Toplayıcı tübül ve kanallar	10
2.2.6. Jukstaglomerüler Aygıt (Apparatus).....	11
2.2.7. Kan Dolaşımı	11
2.2.8. Böbrek Ara Dokusu	12
2.2.9. Böbrek Üstü Steroidlerinin Etkileri	12
2.3. AMİNOGLİKOZİDLER	13
2.3.1. GM	13
2.3.2. Nefrotoksisite.....	14
2.3.3. GM Nefrotoksisitesi.....	15
2.4. MERCANKÖŞK	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. DENEYSEL PROSEDÜR.....	18
3.1.1. Işık mikroskobu incelemeleri.....	18

3.1.2. Doku takibi	18
3.1.3. Hematoksilen & Eozin ile boyama	19
3.1.4. Histopatolojik Analiz	20
3.1.5. TUNNEL Metodu	20
3.1.6. Biyokimyasal Analizler	21
3.1.6.1. Malondialdehit (MDA) düzey tayini.....	21
3.1.6.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini	21
3.1.6.3. Katalaz (CAT) aktivite tayini.....	21
3.2. İstatistiksel Analiz.....	21
4. BULGULAR	22
4.1. Apoptotik Bulgular	22
4.2. Biyokimyasal Analiz Bulguları	34
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	22
4.4. Apoptoz Sonuçları	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
6. KAYNAKLAR	41
EK 1. ETİK KURUL KARARI	49
ÖZ GEÇMİŞ	50

KISALTMALAR

DEKAM	: Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi
GM	: Gentamisin
OM	: Mercanköşk
SOD	: Süperoksit dismutaz
CAT	: Katalaz
MDA	: Malondialdehit
ADH	: Antidiüretik hormon
BUN	: Kan üre azotu
JG	: Jukstaglomerüler
kg	: Kilogram
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
im	: intramüsküler
ip	: intraperitoneal

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Böbrek ve Nefronları Gösteren Şematik Çizim.....	4
Şekil 2.2. Podositler ve Glomerüler Filtrasyonu Gösteren Şematik Çizim (13).....	5
Şekil 2.3. Mercanköşk Bitkisi (Resim, Tropicals.Com Adlı Siteden Alınmıştır.).....	15
Şekil 4.1. Kontrol Grubu Sıçanlarına (Grup I) Ait Böbrek Dokusu (H&E).	24
Şekil 4.2. Mercanköşk Yağı (0,32 ml/kg) Verilen Sıçan Grubuna (Grup II) Ait Böbrek Dokusu (H&E).	24
Şekil 4.3. Mercanköşk Yağı (0,64 ml/kg) Verilen Sıçan Grubuna (Grup III) Ait Böbrek Dokusu (H&E).	25
Şekil 4.4. GM Uygulanan Sıçan Grubuna (Grup IV) Ait Böbrek Dokusu (H&E).	25
Şekil 4.5. GM'le Birlikte Mercanköşk Yağı (0,32 ml/kg) Uygulanan Sıçan Grubuna (Grup V) Ait Böbrek Dokusu (H&E).	26
Şekil 4.6. GM'le Birlikte Mercanköşk Yağı (0,64 ml/kg) Uygulanan Sıçan Grubuna (Grup VI) Ait Böbrek Dokusu (H&E)..	26
Şekil 4.7. Kontrol Grubundaki Sıçanların (Grup I) Böbrek Dokusu (PAS X20).	27
Şekil 4.8. Mercanköşk Yağı (0,32 ml/kg) Verilen Sıçan Grubuna Ait (Grup II) Böbrek Dokusu (PASx20).	27
Şekil 4.9. Mercanköşk Yağı (0,64 ml/kg) Verilen Sıçan Grubuna Ait (Grup III) Böbrek Dokusu (PASx20).	28
Şekil 4.10. GM Verilen Sıçan Grubuna Ait (Grup IV) Böbrek Dokusu (PASx20).....	28
Şekil 4.11. GM'le Birlikte Mercanköşk Yağı (0,32 ml/kg) Uygulanan Sıçan Grubuna (Grup V) Ait Böbrek Dokusu (PASx20).....	29
Şekil 4.12. GM'le Birlikte Mercanköşk Yağı (0,64 ml/kg) Uygulanan Sıçan Grubuna (Grup VI) Ait Böbrek Dokusu (PASx20).	29
Şekil 4.13. Kontrol Grubuna (Grup I) Ait Böbrek Kesitinde Tunnel Boyama.	30
Şekil 4.14. Mercanköşk Yağı Verilen (0,32 ml/kg) Gruba Ait (Grup II) Böbrek Kesitinde Tunnel Boyama.	30
Şekil 4.15. Mercanköşk Yağı Verilen (0,64 ml/kg) Gruba Ait (Grup III) Böbrek Kesitinde Tunnel Boyama.	31
Şekil 4.16. GM Verilen Gruba Ait (Grup IV) Böbrek Kesitinde Tunnel Boyama	31
Şekil 4.17. GM'le Birlikte Mercanköşk Yağı Verilen (0,32 ml/kg) Gruba Ait (Grup V) Böbrek Kesitinde Tunnel Boyama.	32
Şekil 4.18. GM'le Birlikte Mercanköşk Yağı Verilen (0,64 ml/kg) Gruba Ait (Grup VI) Böbrek Kesitinde Tunnel Boyama	32

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Mercanköşk Yağında Belirlenen Bileşikler Ve Oranları	16
Tablo 3.1. Doku Takip Yöntemi	18
Tablo 3. 2. Hematoksilen & Eozin Boyama Yöntemi.....	19
Tablo 3. 3. PAS (Periyodik Asit Schiff) Boyama Yöntemi	19
Tablo 4.1. Gruplara Ait Sıçanların Ortalama Ağırlıkları (Gr±Standart Sapma)	22
Tablo 4.2. Tübüler Hasar Değerlendirilmesi	23
Tablo 4.3. Apoptoz Görülen Grupların İstatiksel Açıdan Değerlendirilmesi.....	33
Tablo 4.4. Deney Gruplarında Görülen Apoptotik Hücre Sayıları.....	33
Tablo 4.5. Böbrek Dokusundaki MDA, SOD, CAT Enzimlerinin İstatiksel Analizi	34
Grafik 4.1. Böbrek Dokusunda MDA Analiz Sonuçlarının Grafik Üzerinde Gösterilmesi	34
Grafik 4.3. Böbrek Dokusunda CAT Analiz Sonuçlarının Grafik Üzerinde Gösterilmesi.....	35

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Antibiyotikler dahil birçok ilaç, kimyasal madde ve çevresel bulaşıcı etkenler; çeşitli dokuların yapılarını ve fonksiyonlarını önemli ölçüde değiştirmekte ve karaciğer, böbrek, kalp ve bağırsaklarda yan etkiler oluşturmaktadırlar.

Aminoglikozid grubu antibiyotikler, karın bölgesinin ve idrar yollarının ciddi enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu antibiyotiklerden biri de Gentamicin (GM)'dir. GM, hayatı tehdit eden bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde hala önemli bir aminoglikozid grubu antibiyotik olarak kabul edilmektedir. Buna karşın, uzun süredir klinikte etkili kullanılmasının yanı sıra nefrotoksik etkisi önemli bir problem olarak devam etmektedir. GM'nin böbreklerde bir dizi morfolojik, metabolik ve fonksiyonel değişikliklere sebep olduğu bilinmektedir (1). Uzun süredir klinikte etkili bir biçimde kullanılan GM'in en önemli komplikasyonu nefrotoksisite meydana getirmesi ve GM kullanan hastaların % 10-30'unda akut böbrek yetmezliği meydana getirmesidir (1). Bunun yanında plazma kreatinin ve kan üre seviyesinde bir artış gözlenmektedir. GM'nin nefrotoksik etkisi, böbreklerdeki proksimal kıvrımlı tübüllerde birikmesi sonucu ortaya çıkmakta ve bunun sonucunda 'tübüler nekrozis' meydana gelmektedir (2).

GM, birçok *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobakter*, *Serratia*, *Proteus* ve *Pseudomonas aeruginosa* türlerine karşı bakterisit etki gösterir. Bu antibiyotik, özellikle *Pseudomonas* türleri gibi daha yaygın kullanılan antibiyotiklere dirençli, gram negatif bakterilerle oluşan ciddi enfeksiyonlar (pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları ve sepsis vb) için kullanılır. GM gastrointestinal sistemden emilmez. Yetişkin ve çocuklar için alışıldık doz, bölünmüş dozlar halinde 8 saatte bir 3mg/kg günlük dozunda intra muskuler (im) uygulama şeklindedir (3).

Günümüzde hala tedavi edici etkilerinden faydalanan kekikgillerden olan Mercanköşk ya da *Origanum majorana* (OM), antik çağlardan beri Anadolu'da baharat olarak ve çeşitli hastalıkları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. M.Ö. 7. yüzyılda kullanıldığına dair bilgiler bulunmaktadır. Ana bileşen olarak öne çıkan *Karvakrol*'ün antibakteriyal, antifungal, antihelmintik, insektisidal, analjezik ve antioksidan olarak önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. *Karvakrol* içeren *Origanum vulgare* ve *Thymus vulgaris* türlerinin kulak hastalıkları tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (4,5).

Bir pestisit çeşidi olan Prallethrin'le oluşturulan nefrotoksisite üzerine Mercanköşk yağının koruyucu etkisi incelenmiş ancak GM'le oluşturulmuş nefrotoksisite üzerine Mercanköşk yağının koruyucu etkisi hakkında bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır (6-8).

Mercanköşk yağının sıçan ve fare böbreklerindeki koruyucu etkisi üzerine yapılan bazı araştırmalarda; Mercanköşk yağının böbrek tübüllerinde oluşan hasarı, muhtemelen içeriğindeki karvakrol sayesinde ortaya çıkan antioksidan mekanizmalarla önlediği gözlenmiştir (9,10).

Bu çalışmada, GM'le oluşturulacak nefrotoksisite (tubuler ve glomeruler hasar) üzerine Mercanköşk yağının koruyucu etkisinin olup olmadığının hem apoptotik, histopatolojik hem de biyokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ÜRİNER SİSTEM

Üriner sistem iki böbrek, bir üreter, bir mesane (idrar torbası) ve bir de üretradan oluşur. Bu sistem vücut dengesinin devamına süzülme, emilim ve salgılamayla birlikte karmaşık bir süreçle yardımcı olur. Sonuçta, içinde çeşitli artık ürünlerin seçilerek atıldığı idrar meydana gelir. Böbreklerde üretilen idrar, üreterden geçerek mesaneye doğru ilerler, burada depolanır ve daha sonra üretra yoluyla dışarı atılır. İki böbrek dakikada yaklaşık 125 ml filtrat üretir; bu miktar içinden 124 ml organda emilirken yalnızca 1 ml'si idrar olarak üreterlere geçer. Yirmi dört saatte yaklaşık 1500 ml idrar meydana gelir. Böbrekler vücudun sıvı ve elektrolit dengesini düzenlerler. Aynı zamanda kan basıncının düzenlenmesinde görev alan renin de burada üretilir. Eritrosit üretimini uyaran eritropoietin hormonu da böbreklerde üretilmektedir. Eritropoietin aynı zamanda D₃ vitaminini etkin biçimine hidroksile eder.

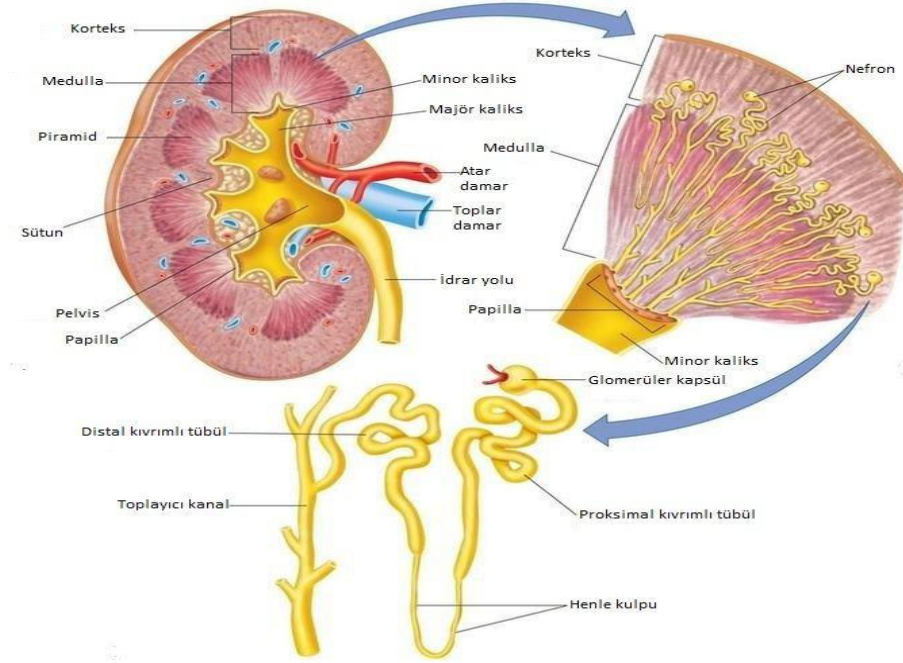
2.2. BÖBREKLER

Her böbreğin iç bükey ve dış bükey kenarları ile kan ve lenf damarlarının girip çıktığı ve üreterin çıkış yeri olan hilumu bulunur. Üreterin genişlemiş üst kısmı böbrek pelvisi olarak adlandırılır ve iki ya da üç büyük majör kalikse bölünür. Her major kalisten de birkaç küçük minör kaliks dallanarak çıkar.

Dışta korteks ve içte medulla olmak üzere böbreklerin histolojisi iki bölüm halinde incelenir. Böbrek medullası 10-18 adet medullar piramitlerden oluşur. Konik ya da piramidal şekilli yapılar olan her bir medullar piramidin, tabanından kortekse doğru uzanan medullar ışınlar çıkar. Bu medullar ışınlar birbirine paralel tübül demetleri şeklindedir.

Her böbrekte 1 ila 4 milyon civarında nefron bulunur. Her nefron; renal cisimcik (böbrek cisimciği de denir), proksimal kıvrımlı tübül, Henle kangalının ince ve kalın kolları, distal kıvrımlı tübül ve toplayıcı tübül ve kanallardan meydana gelmektedir.

Genellikle araştırmacılar tarafından toplayıcı tübüller nefronun bir parçası olarak görülmezler. Nefron böbreğin en önemli işlevsel birimidir (11).



Şekil 2.1. Böbrek ve nefronları gösteren şematik çizim

2.2.1. Böbrek Cisimcikleri ve Kanın Süzülmesi

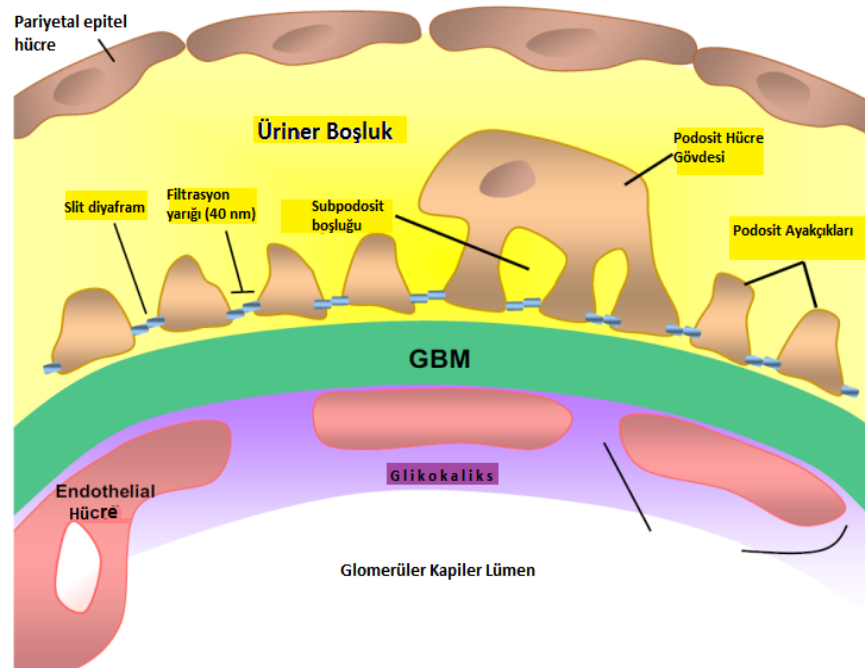
Her bir böbrek cisimciği, çapı yaklaşık 200 μm ve kapiller bir yumak olan glomerülden meydana gelmiştir. Bu yumak iki tabakalı epitelyal bir kapsülle çevrelenmiştir. Bu kapsüle Bowman kapsülü denir. Kapsülün iç tabakasına visseral tabaka denir. Bu tabaka aynı zamanda glomerülün kapillerlerini içine alır. Dış tabaka Bowman kapsülünün pariyetal tabakası olarak adlandırılır ve renal cisimciğin en dıştaki sınırını oluşturur. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında idrar boşluğu bulunmaktadır. Bu boşlukta kapiller duvarından ve visseral tabakadan süzülen sıvı toplanır. Her böbrek cisimciği, getirici (afferent) arteriyollerin girdiği ve götürücü (efferent) arteriyollerin çıktığı bir damar kutbu ve proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı bir idrar kutbu içerir. Afferent arteriyol renal cisimciğe girdikten sonra genellikle her biri kapillerlere bölünerek böbrek glomerülünü oluşturur. Buradan 2-5 primer dala ayrılmaktadır.

Bowman kapsülünün pariyetal tabakası, ince bir retiküler tabakadan, aynı zamanda bazal lamina ile desteklenmiş tek katlı yassı epitelden oluşmaktadır. İdrar kutbundaki

epitel tabakası, proksimal tübülde görülen tek katlı prizmatik ya da tek katlı kübik epitele dönüşür.

Embriyonik gelişim sırasında pariyetal tabakanın epiteli kısmen değişmeden kalırken, iç taraftaki visseral tabaka büyük ölçüde değişime uğramaktadır. Bu iç tabakadaki hücrelerin gövdelerinden birkaç birincil uzantı şekillenmeye başlar ve bu hücelere ayaklı hücreler ya da podositler denir. Her bir birincil (primer) uzantı; pedisel ya da ayakçık denilen, glomerülün kapillerlerini saran çok sayıda ikincil uzantı meydana getirir. İkincil uzantılar, 25 nm'lik sabit bir mesafeyle, doğrudan bazal lamina ile temas halindedirler. Buna karşın podositlerin hücre gövdeleri ve primer uzantıları bazal laminaya temas etmez (12).

Podositlerin sekonder uzantıları 25 nm'lik bir aralıkla birbirlerine kenetlenirler, bu aralıklar süzülme ya da filtrasyon yarıklarını meydana getirir. Filtrasyon yarıkları arasında köprü kuracak biçimde komşu uzantıları birbirine bağlayan 6 nm kalınlığında bir perde bulunmaktadır. Podositlerin sitoplazmasında bu perdenin kasılmasını sağlayan aktin miyofilaman demetleri bulunmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Podositler ve glomerüler filtrasyonu gösteren şematik çizim (13).

Glomerül kapillerlerindeki endotel hücreleriyle, bunların dış yüzeyini örten podositler arasında ~0,1 µm kalınlığında bir bazal membran bulunmaktadır. Bu tabakanın,

kapillerlerde bulunan kanla idrar boşluğunu birbirinden ayıran bir süzülme bariyeri oluşturduğu düşünülmektedir. Bu bazal membran, kapillerin ve podosit tarafından oluşturulmuş bazal laminaların kaynaşması neticesinde oluşmuştur. Elektron mikroskop yardımıyla ortada lamina densa denilen elektron yoğun bir tabaka ve her iki yanda lamina rara denilen daha fazla elektron geçirgen bir tabaka görmek mümkündür. Her iki elektron geçirgen lamina rara, hücrelerin tutunmasına imkan tanıyan fibronektin içerir. Lamina densa ise, negatif yüklü bir proteoglikan olan, katyonik moleküllerin geçişini engelleyen, heparan sülfat içeren bir matriks içinde tip IV kolajen ve laminin tarafından oluşturulan 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. Bazal laminadan 10 nm'den daha büyük partikül geçemez, molekül ağırlığı albüminin molekül ağırlığından (69 kDa) fazla olan negatif yüklü proteinler ise membrandan çok az miktarda geçebilmektedir.

Erişkin bir kişide her iki böbreğe dakikada 1.2-1.3 lt kan gelir. Böylece vücutta dolaşan bütün kan, her 4-5 dakikada bir böbrekten geçmektedir. Glomerüllerde bulunan arteriyel kapiller içindeki hidrostatik basınç (yaklaşık 45 mm Hg), diğer kapillerlerdeki hidrostatik basınçtan daha yüksektir.

Kanın hidrostatik basıncına cevap olarak glomerül süzüntüsü oluşur. Bu basınç, Bowman kapsülü içindeki sıvıların hidrostatik basınç (10 mm Hg) ve kolloidlerin oluşturduğu onkotik basınç (20 mm Hg) ile dengelenmektedir. Glomerüllerdeki kapillerlerin getirici ucundaki net süzülme basıncı 15 mm Hg'dir.

Glomerül süzüntüsünün kimyasal bileşimi kan plazmasına benzemekle beraber makromoleküller glomerül duvarını geçemediğinden neredeyse hiç protein içermez. Glomerül süzüntüsüne geçebilen en büyük proteinin molekül ağırlığı 70 kDa civarındadır. Yine de filtratta az miktarda albümin görülebilir.

Diabetes mellitus ve glomerülo nefrit gibi hastalıklarda glomerüler filtre değişime uğrar ve proteinlere karşı daha geçirgen hale gelir. Bunun sonucunda protein idrara geçer. Bu durum, proteinüri olarak adlandırılır.

Glomerül kapillerlerinin endotel hücreleri pencereci türden olmakla birlikte, diğer pencereci kapillerlerin açıklıklarını kaplayan ince perdeleri yoktur.

Endotel hücreleri ve podosit ayaklarının dışında; glomerül kapillerlerinin duvarlarına tutunan mezengiyal hücreler bulunmaktadır. Mezengiyal hücreler kasılabilir özellikte olup, anjiyotensin II reseptörleri bulundurulur. Bu reseptörler etkinleştiği zaman, glomerül akımında azalma gözlenir. Mezengiyal hücreler, kalbin atriyum hücreleri tarafından üretilen natriüretik faktör için de reseptörlere sahiptirler. Bu etken, damar genişletici özelliğe sahip olmakla birlikte büyük olasılıkla mezengiyal hücreleri gevşeterek kan akımını ve süzülme için bulunan etkin yüzey alanını artırır. Mezengiyal hücrelerin başka birkaç fonksiyonu daha bulunmaktadır. Glomerüle yapısal destek sağlarlar. Ayrıca hücre dışı matriksi sentezlerler. Endositoz gerçekleştirirler ve glomerül bazal membranı tarafından yakalanmış olan hem normal, hem de patolojik (immüno kompleks) molekülleri ortamdan uzaklaştırırlar. Ayrıca sitokinler ve prostoglandinler gibi kimyasal araçları ürettikleri de düşünülmektedir. Glomerülün dışında damar kutbunda yer alan ancak, jukstaglomerüler aygıtın bir kısmını oluşturan glomerül dışı mezengiyal hücreler de bulunmaktadır (14).

2.2.2. Proksimal Kıvrımlı Tübüller

Böbrek cisimciğinin idrar kutbunda, Bowman kapsülündeki pariyetal yaprağın tek katlı yassı epiteli, proksimal kıvrımlı tübüllerin kübik ya da alçak prizmatik epiteli ile devam eder. Bu kısım distal kıvrımlı tübüllerden daha uzun olduğu için kortekste bulunan böbrek cisimciklerinin yanında sıklıkla görülür.

Proksimal kıvrımlı tübüllerin hücreleri çok sayıda uzamış mitokondriye sahiptirler. Bu nedenle asidofilik sitoplazmaya sahiptir. Yaklaşık 1 µm uzunluğunda, hücrenin tepesinde fırçası kenarı meydana getiren çok sayıda mikrovillus bulunmaktadır. Her enine kesitte hücrelerin büyük olması nedeniyle, 3-5 adet küre biçiminde çekirdek bulunur.

Proksimal kıvrımlı tübüllerin lümeni canlı hayvanlarda geniştir ve bu lümen tübüller dışındaki kapillerler tarafından sarılmış haldedir. Genel histolojik örneklerde fırçası kenar genel olarak düzensizleşmiş, büyük oranda tübüllerin lümeni küçülmüş ve daralmıştır. Bu hücrelerin apikal sitoplazmalarındaki mikrovillusların tabanları arasında çok sayıda kanalcık vardır. Bu kanalcıklar proksimal tübül hücrelerinin makromolekülleri emme yeteneğinde önemli rol oynamaktadır. Uç zarların içe doğru yaptığı girintilerden pinositotik veziküller meydana gelir, bu veziküller içinde glomerül

süzgeçinden geçen makromolekülleri (esas olarak molekül ağırlığı 70 kDa'dan düşük olan proteinler) bulundurur. Lizozomlarda makromoleküller parçalanarak pinositoz vezikülleri ile kaynaşırlar. Bunun sonucunda oluşan monomerler dolaşıma geri döner. Bu hücrelerin taban bölümlerinde yoğun iç girintiler ve komşu hücreler arasında da yan kenetlenmeler vardır. Bazolateral zarlarda Sodyum iyonlarının aktif olarak hücre dışına atılmasından sorumlu olan Na^+/K^+ -ATPaz (Sodyum pompası) bulunur. Mitokondriler hücrenin tabanında yoğunlaşmış halde bulunurlar ve hücrenin uzun eksenine zıt yönde bir dizilim gösterirler. Mitokondrilerin bu şekilde yerleşmiş olması ve hücrenin tabanındaki zarın yüzey alanını artıran bu düzenlenme şekli, aktif iyon taşınmasında görev alan hücrelere özgü bir durumdur. Yan membran kenetlenmelerinin çokluğu sebebiyle, ışık mikroskobunda incelenen proksimal tübül hücreleri arasındaki hücre sınırlarını belirgin olarak seçmek mümkün değildir.

Glomerül süzüntüsü (böbrek cisimciğinde oluşur), emilimin başladığı yer olan proksimal kıvrımlı tübüllere geçer. Proksimal kıvrımlı tübüller, filtrattaki suyun ve Sodyum klorürün % 85'ini, glikoz ve aminoasitlerin tümünü, fosfat ve kalsiyumu emer. Proksimal tübül hücreleri tarafından bazolateral zarları üzerinde bulunan Na^+/K^+ - ATPaz etkinliğine sahip aktif bir süreç sayesinde glikoz, amino asitler ve Sodyum emilir. Su ise pasif yolla (ozmotik gradyanı izleyerek) emilir. Filtrattaki glikoz miktarı proksimal tübülün emme yeteneğinden fazla olursa, idrar miktarında artış gözlenir ve idrarda glikoz bulunur.

Bunun yanında proksimal kıvrımlı tübüllerden; kreatinin ve penisilin gibi vücuda yabancı maddeler idrara geçer. Bu olaya tübüler salgılama denir. Bu maddelerin salgılanma hızlarına bakılarak, böbrek işlevi hakkında klinik bilgi edinilir (Şekil 2.2).

2.2.3. Henle Kangalı

Proksimal kıvrımlı tübüllere yapısal olarak çok benzeyen bir kalın inen kol, bir ince inen kol, bir ince çıkan kol ve bir de kalın çıkan koldan oluşan U şeklindeki yapıya Henle kangalı denir. Yapısal olarak kalın çıkan kol, distal kıvrımlı tübüllere çok benzemektedir. Medullanın dışında, dış çapı 60 μm olan kalın inen kol aniden 12 μm 'ye kadar daralıp inen kolun ince bölümü olarak devam eder. Nefronun bu bölümündeki lümen geniştir. Bunun nedeni, duvar epitelinin çekirdeklerinin çok hafif şekilde lümene doğru çıkıntı yapan yassı epitel hücrelerinden oluşmasındandır.

Tüm nefronların yaklaşık yedide biri, kortikomedullar sınıra yakın yerlerde bulunur. Bu yüzden de bunlara jukstamedullar nefronlar denir. Diğer nefronlar ise kortikal nefronlar olarak adlandırılır. Bütün nefronların süzme, emilim ve salgılama işlevleri vardır. Ancak jukstamedullar nefronların, medulla interstisyumunda hipertonic gradyanı sağlamada ayrıca önemi vardır. Medulla interstisyumundaki bu hipertonic ortam sayesinde böbrek hipertonic idrar üretme yeteneğini kazanır. Jukstamedullar nefronlardaki Henle kangalı çok uzundur ve medullanın derinliklerine kadar inerler. Bu kangallar kısa bir kalın inen kol, uzun ince inen ve çıkan kollar ve kalın çıkan koldan meydana gelmiştir. Öte yandan kortikal nefronlarda çıkan ince kol bulunmaz ve inen ince kollar da çok kısadır (14).

Henle kangalının inen ince kısmı suya geçirgen olmakla birlikte, çıkan bölümün tamamı suyu geçirmez. Medulla interstisyumunda idrarın yoğunlaşması için gereken medullar hipertonsite gradyanının oluşturulması için, Sodyum klorür çıkan kalın kolda aktif olarak tübülden dışarı atılır. Medullar piramidlerin uçlarındaki interstisyumun ozmolaritesi, kan miktarından dört kat daha fazladır.

2.2.4. Distal Kıvrımlı Tübül

Henle kangalının çıkan kalın kolu kortekse girdikten ve belli bir mesafe aldıktan sonra bükülür ve distal kıvrımlı tübüleri meydana getirir. Bu tübül de, çıkan kolda olduğu gibi tek katlı kübik epitelle döşenmiştir.

Distal kıvrımlı tübüllerin fırçası kenarları ve apikal kanalları yoktur ve hücreleri daha küçüktür. Bu özellikleriyle distal kıvrımlı tübüller, proksimal kıvrımlı tübüllerden ayrılır. Her iki tübül de kortekste bulunur. Distal tübül hücreleri, proksimal tübül hücrelerine göre daha düz ve daha küçüktür. Bu nedenle distal tübülde, proksimal tübüldekinden daha fazla oranda çekirdek bulunur. Distal kıvrımlı tübüldeki hücrelerde iyon geçişinde faaliyet gösteren daha ince bazal membran içe kıvrımları ve bunlara eşlik eden mitokondriler bulunur.

Distal kıvrımlı tübüller, kortekste izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait böbrek cisimciğindeki damar kutbu ile temas halinde olup, bu temas noktası boyunca distal tübül aferent arteriyol gibi değişime uğrar. Genellikle distal kıvrımlı tübül hücreleri bu jukstaglomerüler bölgede prizmatik hale dönüşür ve çekirdekleri de bir araya gelir. Birçok hücrenin bazal bölgesinde Golgi kompleksi vardır. Çekirdeklerin yakın

yerleşimi yüzünden mikroskopik örneklerde daha koyu renkli görünen distal tübül segmentine ‘makula densa’(yoğun plak) adı verilir. Makula densa hücreleri tübül içinde bulunan sıvıdaki Sodyum klorür iyon içeriğine ve su hacmine karşı duyarlıdır. Renin salgısını başlatması için dolaşıma moleküler sinyaller gönderirler.

İyon değişimi, distal kıvrımlı tübüllerde aldosteron yoğunluğu yeterince yüksek olduğu zaman gerçekleşmektedir. Sodyum emilirken, potasyum iyonları da dışarı verilir. Bu mekanizma vücudun toplam su ve tuz içeriğini de etkilemektedir. Distal tübül aynı zamanda tübülde bulunan idrara hidrojen ve amonyum iyonlarını da salgılar. Bu mekanizma, kanda bulunan asit-baz dengesinin korunmasında çok büyük bir öneme sahiptir.

2.2.5. Toplayıcı Tübül ve Kanallar

İdrar; distal kıvrımlı tübüllerden geçerek, birbirlerine bağlanan daha büyük, düz toplayıcı kanalları meydana getiren toplayıcı tübüllere boşalır. Medullar piramidlerin ucuna yaklaştıkça bu kanallarda genişleme olur.

Küçük toplayıcı tübüllerin çapları ortalama 40 μm 'dir ve kübik epitelle döşelidir. Bu tübüller, medullanın derinliklerine doğru inerken hücrelerin boyu prizmatik şekle dönene kadar uzar. Böylece piramidlerin ucuna yakın bölgelerde toplayıcı kanalın çapı 200 μm 'ye ulaşır.

Aldıkları tüm yol boyunca toplayıcı tübüller ve kanallar, bilinen boyalarla zayıf boyanan hücrelerden meydana gelmişlerdir. Sitoplazmalarında az sayıda organel bulunur ve elektron geçirgendir. Korteksteki toplayıcı kanallarda ve toplayıcı tübüllerde koyu boyanan bir ara hücre tipi de vardır. Bu hücrelerin önemi henüz anlaşılamamıştır. Işık mikroskobuyla bakılınca toplayıcı kanal ve tübül hücrelerinin hücrelerarası sınırları net olarak seçilebilmektedir. Korteksteki toplayıcı kanallar, her medullar ışını boşaltan birkaç küçük toplayıcı tübül aracılığıyla dik açılarla birbirine bağlanır. Toplayıcı kanallar, medullada idrar yoğunlaştırma işleminde en önemli rolü oynar.

Toplayıcı kanalların epiteli arka hipofiz tarafından salgılanan arginin vazopresin ya da antidiüretik hormona (ADH) duyarlıdır. Su alımında kısıtlama varsa, antidiüretik hormon salgılanır ve toplayıcı kanalların epiteli, glomerül süzüntüsünden emilip kan kapillerlerine aktarılan ve bu şekilde vücutta tutulan suya karşı geçirgen hale gelir.

ADH'ın varlığında ise, lümen zarının içindeki tanecikler su Emilimi için kanallar oluşturacak şekilde bir araya gelirler.

2.2.6. Jukstaglomerüler Aygıt (Apparatus)

Böbrek cisimciğinin hemen bitişiğinde getirici arteriyolün orta tabakasında (tunika media) değişmiş düz kas hücreleri vardır. Bu hücrelere jukstaglomerüler (JG) hücreler denir. Bu hücrelerin sitoplazmaları salgı granülleri ile doludur. Kan basıncının korunmasında Jukstaglomerüler hücrelerin salgısı önemli bir rol oynar. Distal kıvrımlı tübüllerde bulunan makula densa, jukstaglomerüler hücrelerin yer aldığı getirici arteriyol kısmına çok yakın bir yerdedir. Makula densa ile birlikte getirici arteriyolün bu kısmının oluşturduğu yapıya jukstaglomerüler aygıt denir. Jukstaglomerüler aygıtın bir bölümünde görevleri iyi anlaşılamamış ve açık renk boyanan hücreler bulunmaktadır. Bu hücreler, ekstraglomerüler mezengiyal hücreler veya Lacis hücreleri olarak adlandırılır. JG hücrelerin bulunduğu bölgede aferent arteriyolün iç elastik membranı kaybolur.

JG hücreleri; elektron mikroskopla incelendiğinde, bol miktarda kaba endoplazmik retikuluma (AER), iyi gelişmiş golgi kompleksine ve protein salgılayan hücrelere özgü özellikler sergiledikleri görülmektedir. JG hücreler, anjiyotensinojen deneni plazma proteinini anjiyotensin I'e dönüştürecek renin hormonunun üretiminden sorumludurlar. Anjiyotensin I, akciğer endotel hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunan dönüştürücü bir enzimin yardımıyla anjiyotensin II'ye dönüşmektedir (15).

2.2.7. Kan Dolaşımı

Kan, böbreğe böbrek arterinden (renal arter) gelir. Renal arter organa girmeden önce genellikle iki dala ayrılır. Dallardan birisi böbreğin ön bölümüne giderken, diğeri arka kısma uzanır. Bu iki dal girişte hilum deneni yerde tekrar dallanarak, böbrek piramitleri arasında yer alan interlober arterleri meydana getiren dalları oluşturur. İnterlober arterler arkuat arterleri meydana getirir. Arkuat arterlerden dik açılarla dallara ayrılan interlobüler arterler, böbrek kapsülüne dik biçimde korteks içine doğru ilerler. Bu arterler, bir medullar ışın ve bitişiğindeki kortikal labirentten oluşan renal lobüllerin sınırını oluştururlar. Kanı glomerül kapillerlerine taşıyan getirici (aferent) arteriyoller, interlobüler arterlerden ayrılır. Buradaki kapillerlerden kan, götürücü (eferent) arteriyollere aktarılır. Arteriyoller, proksimal ve distal tübülleri düşük molekül ağırlıklı

maddelerle iyonları dolaşım sistemine taşıyacak ve besleyecek olan tübüller etrafında peritübüler kapiller ağı oluşturmak üzere dallara ayrılır. Jukstamedullar nefronlarla ilişkili olan eferent arteriyoller ince, uzun kapiller damarları meydana getirir. Medullada düz bir yol izleyerek yeniden korteks-medulla sınırına doğru ve geriye doğru kıvrım yapan bu kapiller damarlara vaza rekta ya da düz damarlar denir. İnen damar aralıksız tip kapiller özelliği sergilerken, çıkan damarın endoteli ise pencereci tiptedir. Glomerülden süzülen kanı taşıyan bu damarlar oksijen ihtiyacını karşılar ve medullayı besler. Bu damarlar kangal biçimindeki yapıları yüzünden Henle kangalının ara dokuda (interstisyum) meydana getirdiği yüksek ozmotik gradyanı ortamdan uzaklaştırmazlar.

İnterlobüler venlere boşalan yıldızsı (stellat) venleri oluşturmak üzere, dış kortekste ve böbrek kapsülündeki kapillerler birleşirler. Venler arterlerle aynı yolu izler. Kan lobüller arası venlerden arkuat venlere ve oradan da loblar arası venlere akar. Loblar arası venler böbrek venini oluşturmak üzere birleşir, sonra da buradan kan böbreği terk eder (16).

2.2.8. Böbrek Ara Dokusu

İdrar tübülleri ile kan ve lenf damarları arasındaki boşluğa böbrek interstisyumu denir. Bu boşluk kortekste çok küçük bir alanı kaplar ancak medullada genişler. Böbrek interstisyumu; fibroblastlar, kollajen lifleri ve ayrıca medullada proteoglikandan zengin, yüksek seviyede su tutma özelliği olan ara madde içeren, bağ dokusu (az miktarda) içerir. Medullada salgı yapıcı hücreler (ara hücreler de denir) bulunur. Bu hücreler sitoplazmalarında lipid damlacıkları bulundururlar ve prostaglandin ve prostasiklin sentezinde rol oynarlar.

2.2.9. Böbrek Üstü Steroidlerinin Etkileri

Başta aldosteron olmak üzere böbrek üstü bezi korteksinin steroid hormonları, filtrattaki Sodyumun distal tübüllerden emilimini artırarak idrarla Sodyum kaybını azaltır. Aynı zamanda aldosteron, potasyum ve hidrojen iyonlarının atılmasında kolaylık sağlar. Bu hormonun vücuttaki elektrolit dengesinin korunmasında çok önemli rolü vardır.

2.3. AMİNOGLİKOZİDLER

Streptomyces ve Micromonospora türü mikroorganizmalardan elde edilen, birçok yeni antibiyotiğe rağmen hastane enfeksiyonlarında kullanılan, doğal ve yarı sentetik antibiyotiklerdir. Bu grupta bulunan GM; sırasıyla streptomisin, neomisin ve kanamisininden sonra bulunmuştur.

Polikasyonik ve yüksek polarite yapısında olmaları sebebiyle sindirim kanalından emilip beyin omurilik sıvılarına geçmeleri oldukça güçtür. Bu nedenle, sistemik enfeksiyonların tedavisinde sadece parenteral yolun kullanılması uygundur. Suda iyi çözünürler (17).

Aminoglikozidlerin, kullanımlarındaki en önemli kısıtlayıcı özellik olan toksik etkileri nedeniyle, güvenli kullanım aralıkları oldukça dardır. Nefrotoksisite yanında ototoksisite ve nöromusküler blokaj görülür. Nefrotoksisite, tüm aminoglikozidlerin kullanımına bağlı olarak % 5-10 oranlarında tespit edilen bir yan etkidir (18). Aminoglikozidler, özellikle ilaçları absorbe edip lizozomda depolayan proksimal tübülde hücresel toksisite ile birlikte tübüler nekroz ve tübüler atrofi meydana getirirler (19-23). Hücre içi fosfolipaz aktivitesini engellediğinden toksisite gelişmektedir. Toksik etki bilhassa proksimal tübülüste gözlenir. Erken dönemde silindirik yapıları görülebilir. Daha erken evrelerde geri dönüşüm mümkündür. Ancak oligürik dönem gelişirse geri dönüşüm olmayabilir. Hastaya ve tedavi şekline bağlı olarak nefrotoksik etkiyi arttıran bazı sebepler vardır. Bunlar; serumda aminoglikozid düzeyinin fazla olması, 10 günden fazla tedavi süresi, aminoglikozidlerin furosemid gibi bazı diüretikler ve nefrotoksik ilaçlarla birlikte kullanılmasıdır. Ayrıca nefrotoksik etki; böbrek ve karaciğer yetmezliği durumlarında, yaşlılarda ve dehidratasyon durumlarında daha da artar (24,25).

2.3.1. Gentamisin

GM; *Micromonospora purpurea*'dan elde edilen ve yapıca birbirine benzeyen üç C1, C1a ve C2 GM türlerinin karışımından ibaret, aminoglikozid grubu bir antibiyotiktir (26).

(GM), hayatı tehdit eden bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde hala önemli bir aminoglikozid grubu antibiyotik olarak kabul edilmekte olup, karın bölgesi ve idrar yollarının ciddi enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Klinikte uzun süredir etkili

kullanılmasının yanı sıra, nefrotoksik etkisi önemli bir problem olarak devam etmektedir. En önemli yan etkisi ise, GM kullanan hastaların % 10-30'unda akut böbrek yetmezliği meydana getirmesidir. Bunun yanında plazma kreatinin ve kan üre seviyesinde bir artış gözlenmektedir.

GM'nin nefrotoksik etkisi, böbreklerdeki proksimal kıvrımlı tübüllerde birikmesi sonucu ortaya çıkmakta ve bunun sonucunda tübüler nekrozis meydana gelmektedir.

Aminoglikozid grubu (streptomisin, kanamisin ve amikasin) ilaçlar içinde amikasinden sonra, en geniş spektruma ve antibakteriyel etkiye sahip olanıdır. Özellikle gram negatif basiller ve penisilin ile metisiline dayanıklı *Staph. aureus* suşları üzerinde daha etkilidir. Plazma proteinlerine pek az bağlanmakla birlikte, yaklaşık % 10 oranında kanda alyuvarlara bağlanır. Bakterilerin GMe direnç (rezistans) geliştirmesi, streptomisine karşı olduğundan daha yavaş ve daha küçük derecede olmaktadır. Bu yüzden GM klinikte daha çok tercih edilmektedir. Amikasin hariç diğer aminoglikozidlere direnç geliştiren bakteri suşlarına GM daha etkili olabilir (27).

2.3.2. Nefrotoksisite

Böbrek bazı biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri nedeniyle iskemik ve toksik hasara karşı daha hassastır. Nefronlar arasındaki anatomik, fonksiyonel ve biyokimyasal farklılıklar nedeniyle nefronlar tarafından toksik ajanlara, iskemi ya da hipoksi gibi patolojik durumlara verilecek cevaplar da farklı olabilmektedir. Böbreğin bir bölümünün bir ajana duyarlı iken diğer bir bölümünün dirençli olması nefron heterojenitesinden kaynaklanmaktadır.

Proksimal nefron epitel hücreleri içerdikleri fazla sayıdaki taşıyıcı sistem nedeniyle çoğu nefrotoksik ajanlar için hedef bölge haline gelmektedir (28). Proksimal tübüller, enzimleri bulundurdıkları için çok daha fazla toksik hasara maruz kalmaktadırlar (29). Birçok tübül epiteli hasara karşı kendilerini daha hızlı yenilerken, glomerül ve medulladaki hücreler bu işlevi daha yavaş yerine getirirler veya hiç yenilenme olmaz. Bu bölgelerde tekrar tekrar meydana gelen maruziyetler kronik böbrek yetmezliğine neden olabilir (29).

2.3.3. GM Nefrotoksisitesi

GM, kullanım bakımından aminoglikozid grubu ilaçlar içerisinde ilk sırada yer alır (29). GMe bağlı nefrotoksisite, akut böbrek yetmezliği olgularının % 10-20'sini oluşturmaktadır (31). Ayrıca GM'le 7 günden fazla bir süre tedavi edilen hastaların % 30'unda nefrotoksisiteye ait belirtiler görülmektedir. Bu durum, ilacın kullanımını sınırlandırmaktadır (32). GMe bağlı nefrotoksisite; kan üre azotu (BUN) ve kreatinin konsantrasyonundaki artış ve şiddetli tübüler nekrozla kendini gösterir. Serum kreatinin düzeyinde 0.4-0.5 mg/dl'lik artış nefrotoksisite olarak kabul edilmektedir (33).

GM sadece proksimal tübül hücrelerindeki lizozomlarda birikim gösterir (34). Nefrotoksisite gelişen olgularda çoğunlukla oligüri görülmemekle birlikte, glomerüler filtratın azalması, konsantrasyon yeteneğinde azalma, serum kreatinin ve kan üre azotunda artış söz konusudur. Nefrotoksisite (renal konsantrasyon bozukluğu, akut tübüler nekroz veya renal yetmezlik) ilacın renal kortekste birikme özelliğiyle doğrudan ilişkilidir. Çoğunlukla reversible (geriye dönüşümlü) olup, ilacın dozu ve kullanım süresiyle de doğru orantılıdır (35).

2.4. MERCANKÖŞK

Mercanköşk L. (O. majorana), nanegillerden olan Lamiaceae'nin bir üyesidir. Tipik olarak **marjoram** olarak tanımlanan bitki, tüm dünyada bulunan kuru yapraklı ve çiçekli bir bitkidir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Mercanköşk Bitkisi (Resim,TopTropicals.com adlı siteden alınmıştır.)

Yapısında fenolik terpenoidler (timol, karvakrol), flavanoidler (diosmetin, luteolin, apigenin), taninler, hidrokinon, fenolik glikozidler (arbutin, metil arbutin, viteksin, orientin, timonin), triacontan, sitosterol, asitler (oleanolik asit) ve cis-sabinene hidrat bulundurur (36-38). Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (The Food and Drug Administration-FDA) Mercanköşk yağını genellikle güvenli olarak kabul etmektedir. Mercanköşk ekstratları asetilkolin, histamin, serotonin ve nikotine olan cevabı azaltmaktadır (39). Mercanköşkün antiviral, bakterisidal, antiseptik ve antifungal etkileri ursolik asit ve esansiyel yağından ve özellikle de timol ve karvakrol'den kaynaklanmaktadır (40-41). Geleneksel tıpta Mercanköşk yağı, kramplarda, depresyonda, baş dönmesinde, mide-bağırsak rahatsızlıklarında, migrende, sinirsel baş ağrılarında, paroksizmal öksürüklerde kullanılmakta ve ayrıca diüretik olarak da kullanılmaktadır (42). Mercanköşk yapraklarından elde edilen ursolik asit, Alzheimer hastalığında potansiyel bir asetilkolinesteraz inhibitörü olarak kabul görmektedir (43). Mercanköşkün antioksidan ve antitümör etkileri yakın zamanda Heo *et al.* (2002), Lin *et al.* (2002), Campanella *et al.* (2003), Zeytinoglu (2003) and Dorman *et al.* (2004) tarafından bildirilmiştir (44-47). Aşağıdaki tabloda Mercanköşk yağına ait analiz raporu verilmiştir. Bu rapor; Botanika Tarım isimli firmanın 14.10.2015 tarihli talebiyle, 22.10.2015 tarih ve 34 sayılı kaydıyla, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Gıda Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Araştırma Labratuarı tarafından verilmiştir.

Tablo 2.1. Mercanköşk Yağında Belirlenen Bileşikler ve Oranları

YAPILAN ANALİZ			ANALİZ METODU		
UÇUCU YAĞ BİLEŞİMİ TAYİNİ			GC-MS/FID		
ANALİZ SONUÇLARI (%)					
No	Bileşen Adı	Bileşen miktarı (%)	No	Bileşen Adı	Bileşen miktarı (%)
1	α -Pinene	0,65	9	Linalool	6,60
2	α -Thujene	0,86	10	Terpinen-4-ol	0,69
3	β -Myrcene	1,41	11	β Caryophyllene	1,05
4	α -Terpinene	1,12	12	Aromadendrene	0,33
5	β -Phellandrene	0,47	13	α -Terpineol	0,65
6	γ -Terpinene	3,64	14	Borneol	0,48
7	Cymene	4,38	15	Thymol	1,22
8	Trans-Sabinene hydrate	0,28	16	Carvacrol	76,17

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) yetiştirilen 2 aylık (yaklaşık 200-250 gr ağırlığında) toplam 48 adet Wistar albino türü erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Kafesler içinde tutulan sıçanlar; günün normal düzeninde 21⁰C ve 12 saatlik aydınlık/karanlık ortamda bakım odalarında, izin verilen ölçüde standart besin ve su ile yetiştirildi. Denekler rastgele 6 gruba ayrıldı. Daha sonra tartıldı. Tartım işlemi her hafta tekrar edildi.

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 09.12.2015 tarih 15/154 sayılı kararıyla uygun görülmüştür. Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **TYL-2016-6433** nolu proje kodu ile desteklenmiştir.

Grup 1 (n=8): Kontrol grubu olarak belirlendi. Bu gruba sadece zeytinyağı verildi.

Grup 2 (n=8): İkinci grup olarak belirlendi. Gavaj yoluyla 28 gün boyunca 0.32 ml/kg/gün Mercanköşk yağı verildi.

Grup 3 (n=8): Üçüncü grup olarak belirlendi. Gavaj yoluyla 28 gün boyunca 0.64 ml/kg/gün Mercanköşk yağı verildi.

Grup 4 (n=8): Dördüncü grup olarak belirlendi. 21. güne kadar normal beslenmesi dışında başka bir madde verilmedi. 21. günden 28. güne kadar 100 mg/kg/gün intraperitoneal olarak GM uygulandı.

Grup 5 (n=8): Beşinci grup olarak belirlendi. Gavaj yoluyla 20 gün boyunca 0.32 ml/kg/gün Mercanköşk yağı verildi. 21. günden 28. güne kadar 0.32 ml/kg/gün Mercanköşk yağı ile birlikte 100 mg/kg/gün intraperitoneal olarak GM uygulandı.

Grup 6 (n=8): Altıncı grup olarak belirlendi. Gavaj yoluyla 20 gün boyunca 0.64 ml/kg/gün Mercanköşk yağı verildi. 21. günden 28. güne kadar 0.64 ml/kg/gün Mercanköşk yağı ile birlikte 100 mg/kg/gün intraperitoneal olarak GM uygulandı.

28 günlük deney sonunda anestezi altında (i.p.) Ketamin hidroklorid (50 mg/kg; Ketalar® Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve Ksilazin hidroklorid (10 mg/kg; Rompun®,

Bayer, Leverkusen, Almanya) ile tüm hayvanların karın kesileri yapılarak böbrekleri çıkarıldı. Sağ böbrekler 24-48 saat % 10'luk formalinde tespit edildikten sonra artan alkol serilerinden ve şeffaflandırma için ksilenen geçirilip, bir gece eriyik parafin içinde bekletildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Sol böbrekler ise biyokimyasal testler için (MDA, SOD, KAT enzimleri incelenmek üzere) PBS'te yıkanıp folyoya sarılarak -80° C de muhafaza edildi. Parafin bloklardan alınan doku örnekleri (5 µ kalınlığında) hematoksilin-eozin ve Periyodik Ascit Schiff (PAS) boyasıyla boyandı. Işık mikroskobu altında incelenen böbreklerde, tübüler hasar baz alınarak skorlama yapıldı.

Deney gruplarına ait böbrek kesitlerinde parafin bloklardan alınan diğer kesitler üzerinde TUNNEL yöntemi uygulanarak hücrelerdeki apoptoz değerlendirildi.

3.1.DENEYSEL PROSEDÜR

3.1.1. Işık mikroskobu incelemeleri

Işık mikroskobik inceleme için % 10'luk formaldehit solüsyonuna alınan böbrek doku örnekleri 48 saat süreyle tespit edildikten sonra artan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilen ile şeffaflandırılan doku örnekleri 60 °C'de eriyik parafinde bir gece bekletilip bloklandı (Tablo 3. 1).

3.1.2. Doku takibi

Tablo 3.1. Doku Takip Yöntemi

Sıra	Kimyasal Madde	Süre	Sıra	Kimyasal Madde	Süre
1	%10 Formaldehid	72 saat	8	Absolü Alkol	1 saat
2	Musluk suyu	1 gece	9	Absolü Alkol	1 saat
3	%50 Alkol	1 saat	10	Ksilen	20 dakika
4	%70 Alkol	1 saat	11	Ksilen	20 dakika
5	%80 Alkol	1 saat	12	Ksilen	20 dakika
6	%96 Alkol	1 saat	13	Eriyik parafin (60°C)	1 gece
7	Absolü Alkol	1 saat	14	Bloklama	20 dakika

3.1.3. Hematoksilen & Eozin ile boyama

Parafin bloklara yerleştirilen böbrek dokularından 5 µ kalınlığında kesitler alınarak genel histolojik yapıyı değerlendirmek için Hematoksilen&Eozin ile boyandı(Tablo3.2).

Tablo 3. 2. Hematoksilen & Eozin Boyama yöntemi

Sıra	Yapılan İşlem	Süre	Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	2 saat	13	Akarsu	5 dakika
2	Ksilen I	20 dakika	14	Eozin	3-5 dakika
3	Ksilen II	20 dakika	15	Akarsu	5 dakika
4	Ksilen III	20 dakika	16	%50 Alkol	10 dakika
5	Absolu Alkol I	20 dakika	17	%70 Alkol	10 dakika
6	Absolu Alkol II	20 dakika	18	%80 Alkol	10 dakika
7	%96 Alkol	20 dakika	19	%96 Alkol	10 dakika
8	%80 Alkol	20 dakika	20	Absolu Alkol I	10 dakika
9	%70 Alkol	20 dakika	21	Absolu Alkol II	10 dakika
10	%50 Alkol	20 dakika	22	Ksilen I	20 dakika
11	Akarsu	5 dakika	23	Ksilen II	20 dakika
12	Hematoksilen	5-8 dakika	24	Kapatma	

Tablo 3. 3. PAS (Periyodik Asit Schiff) Boyama yöntemi

Sıra	Yapılan İşlem	Süre	Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	2 saat	15	Akarsu	7-8 dakika
2	Ksilen I	10 dakika	16	Hematoksilen	5 dakika
3	Ksilen II	10 dakika	17	Akarsu	2 dakika
4	Ksilen III	10 dakika	18	% 1'lik Asit Alkol	Hemen
5	%100 Alkol I	5 dakika	19	Akarsu	2 dakika
6	%100 Alkol II	5 dakika	20	% 96 Alkol	2 dakika
7	%96 Alkol	5 dakika	21	% 100 Alkol	2 dakika
8	%80 Alkol	5 dakika	22	% 100 Alkol I	2 dakika
9	%70 Alkol	5 dakika	23	% 100 Alkol II	2 dakika
10	%50 Alkol	5 dakika	24	Ksilen I	5 dakika
11	Distile Su	2 defa	25	Ksilen II	5 dakika
12	Periyodik Asit	5 dakika	26	Ksilen III	5 dakika
13	Distile Su	2 defa	27	Kapatma	

14	Schiff	25 dakika			
----	--------	-----------	--	--	--

3.1.4. Histopatolojik Analiz

Hematoksilen & Eozin ile boyanan kesitleri değerlendirmek için ışık mikroskobu (Olympus® Inc. Tokyo, Japan) kullanılarak fotoğrafları çekildi. Doku hasarının varlığını ve şiddetini belirlemek amacıyla taranan mikroskopik alanlardaki histopatolojik değişiklikler; konjesyon, hemoraji, ödem şeklinde tanımlandı. Hasarın şiddetine göre:

1. Hiç tübül hasarı yoksa (-),
2. % 10'dan az hafif tübül hasarı varsa (+),
3. % 10'dan % 25'e kadar orta derecede hasar varsa (++),
4. % 25'ten fazla yaygın derecede hasar varsa (+++) olarak değerlendirildi.

Hasarı belirlerken her gruptan rastgele 8 adet preparat seçilip, ilgili mikroskopik alanlar birbirinden bağımsız iki histolog tarafından değerlendirildi.

3.1.5. TUNNEL Metodu

Parafin bloklardan poly-L-Lysine kaplı lamalar üzerine alınan kesitler 2 saat 69 °C'lik etüvde bekletilerek parafini giderildi. Ksilen I, ksilen II, ksilen III serisinde 5'er dakika bekletilerek parafini iyice giderilen doku örnekleri azalan alkol serilerinden (%100, %96, %80, %70) 5'er dakika geçirilip suya indirildi. Molgen Biyoteknoloji Lab.'tan temin edilen Roche firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı (In Situ Cell Death Detection Kit, Fluorescein CAT No:11684795910). Beşer dakika PBS ile iki kez yıkandıktan sonra antijen geri kazanımı için 0.01 M %5'lik Sodyum sitrat tamponunda 350 W'de mikrodalga fırında 5 dakika bekletildi ve soğuması için 10 dakika oda ısısında bırakıldı. PBS ile 2 kez 5'er dakika yıkanan doku örnekleri TUNNEL reaksiyon karışımı ile nem kamara içerisinde 37°C'de 60 dakika etüvde inkübe edildi. PBS ile 2 defa 5'er dakika yıkanan doku örneklerine 4, 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) ile zıt boyama yapıldı. Distile su ile yıkandıktan sonra kapatma solüsyonu (UltraCruz™ Mounting Medium, sc-24941, Lot # K1210) uygulanıp lamel ile kapatıldı. Olympus® BX51 Floresan mikroskobu ile 450-500 nm dalga boyunda değerlendirilerek fotoğrafları çekildi. Apoptotik indeks için 40X objektifte her kesitten beş farklı alan taranarak apoptotik hücreler sayıldı. İlgili mikroskopik alanlar birbirinden bağımsız iki histolog tarafından değerlendirildi. Apoptotik hücreler korteks esas alınarak bakıldı.

3.1.6. Biyokimyasal Analizler

3.1.6.1. Malondialdehit (MDA) düzey tayini

Molgen Biyoteknoloji Lab.'tan temin edilen YH Biosearch Laboratory firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı (Rat malondialdhehyde (MDA) ELISA Kit CAT No:YHB0708Ra). Doku örneklerinin sonuçları nmol/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise, nmol/ml olarak verildi.

3.1.6.2. Süperoksit dismütaz (SOD) aktivite tayini

Molgen Biyoteknoloji Lab.'tan temin edilen YH Biosearch Laboratory firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı (Rat Super Oxidase Dimutase (SOD) ELISA Kit CAT No:YHB1021Ra). Doku örneklerinin sonuçları ng/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise, ng/ml olarak verildi.

3.1.6.3. Katalaz (CAT) aktivite tayini

Molgen Biyoteknoloji Lab.'tan temin edilen YH Biosearch Laboratory firmasının ticari kiti kullanılarak çalışıldı (Rat CATalase (CAT) ELISA Kit CAT No:YHB0207Ra). Doku örneklerinin sonuçları ng/mg protein olarak, serum örneklerinin sonuçları ise, ng/ml olarak verildi.

3.2. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 18. 0) paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ standart sapma ya da ortanca (en küçük–en büyük) olarak gösterildi. Gruplar arasında ortalamalar bakımından farkın önemliliği One-Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) ile ortanca değerler bakımından farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testi ile araştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık sınırı $p<0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Tablo 4.1. Gruplara Ait Sıçanların Ortalama Ağırlıkları (Gr $\pm$ Standart Sapma)

	Deney Başlangıcı	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta
GRUP 1	165	185	202,5 $\pm$ 2,67	210 $\pm$ 5,35	215
GRUP 2	190	195 $\pm$ 5,35	217,5 $\pm$ 2,67	220	222,5 $\pm$ 2,67
GRUP 3	150	170 $\pm$ 5,35	195 $\pm$ 5,35	197,5 $\pm$ 2,67	197,5 $\pm$ 2,67
GRUP 4	185 $\pm$ 10,69	212,5 $\pm$ 8,02	230 $\pm$ 10,69	227,5 $\pm$ 13,36	230 $\pm$ 10,69
GRUP 5	165 $\pm$ 10,69	180 $\pm$ 10,69	210 $\pm$ 10,69	202,5 $\pm$ 13,36	207,5 $\pm$ 8,02
GRUP 6	152,5 $\pm$ 8,02	165 $\pm$ 5,35	185 $\pm$ 5,35	192,5 $\pm$ 2,67	192,5 $\pm$ 2,67

4.3. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubu sıçan böbrek dokularında normal histolojik yapılar gözlemlendi. Tübüller genellikle normal görünümlü, proksimal tübül lümenine çok az miktarda epitel döküldüğü gözlemlendi (Şekil 4.1).

Grup II (0,32 ml/kg OM)'de kontrol grubuna yakın histolojik yapılar gözlemlendi. Proximal tübüller ve glomerüllerin normal yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.2).

Grup III (0,64 ml/kg OM)'te ise, Grup II'nin aksine yalnızca GM uygulanan gruptakine yakın bulgular gözlemlendi. Burada Mercanköşk yağının 0,64 ml/kg dozda uygulanması koruyucu olmamıştır (Şekil 4.3).

Grup IV (GM), mononükleer hücre infiltrasyonu, proksimal tübüllerde belirgin genişleme ve glomerüler kapiller yumak dejenerasyonu gözlemlendi (Şekil 4.4).

Grup V'te hafif hemoraji, yer yer glomerüler dejenerasyon ve çok az tübüler dilatasyon görüldü (Şekil 4.5).

Grup VI'da glomerüllerde atrofi görüldü (Şekil 4.6).

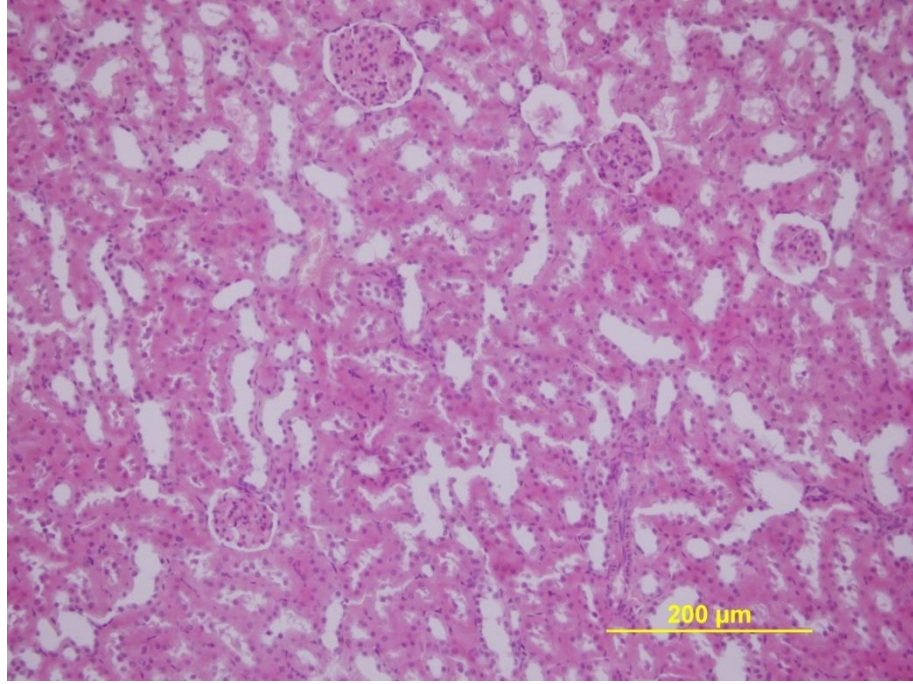
Tablo 4.2. Tübüler Hasar Değerlendirilmesi

Deney Grupları	Hasar Derecesi			
	Normal (-)	Hafif (+)	Orta (++)	Yaygın (+++)
Kontrol Grubu	-			
Mercanköşk (0,32 ml/kg)		+		
Mercanköşk (0,64 ml/kg)		+		
GM (100mg/kg)			++	
Mercanköşk (0,32 ml/kg)+ GM		+		
Mercanköşk (0,64 ml/kg)+ GM		+		

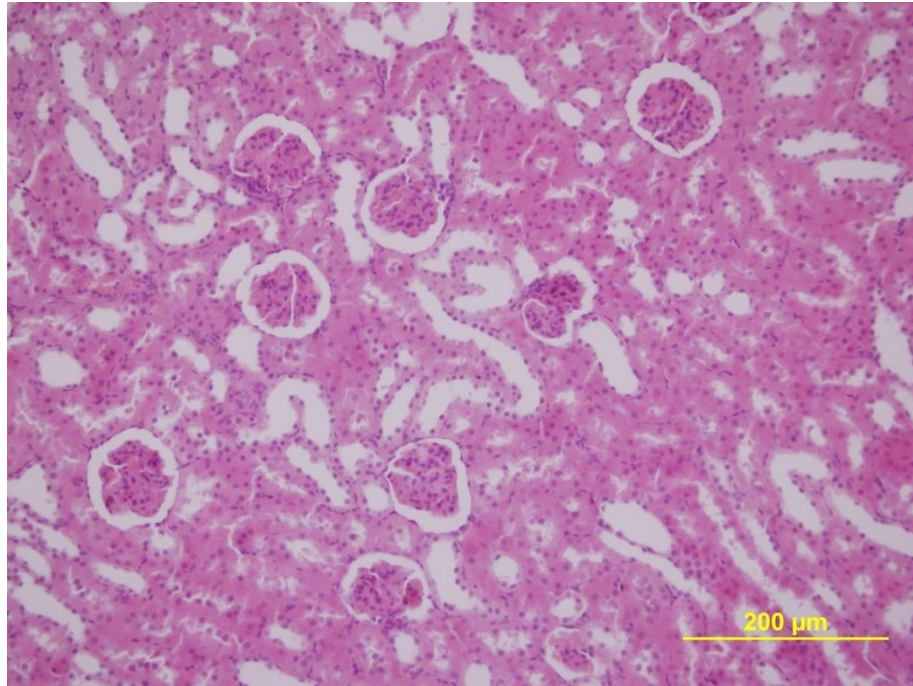
Sadece GM uygulanan grup da dahil olmak üzere, hiçbir grupta yaygın hasar görülmemiştir. Sadece GM uygulanan grupta orta derecede tübüler hasar gözlenmiştir.

Bazal membrandaki hasarı görebilmek için, PAS boyaması yapılmıştır. PAS boyama sonuçlarına göre sadece GM uygulanan grupta (Grup IV) tübül hasarı ve yer yer bazal membran dejenerasyonları gözlenmiştir (Şekil 4.10).

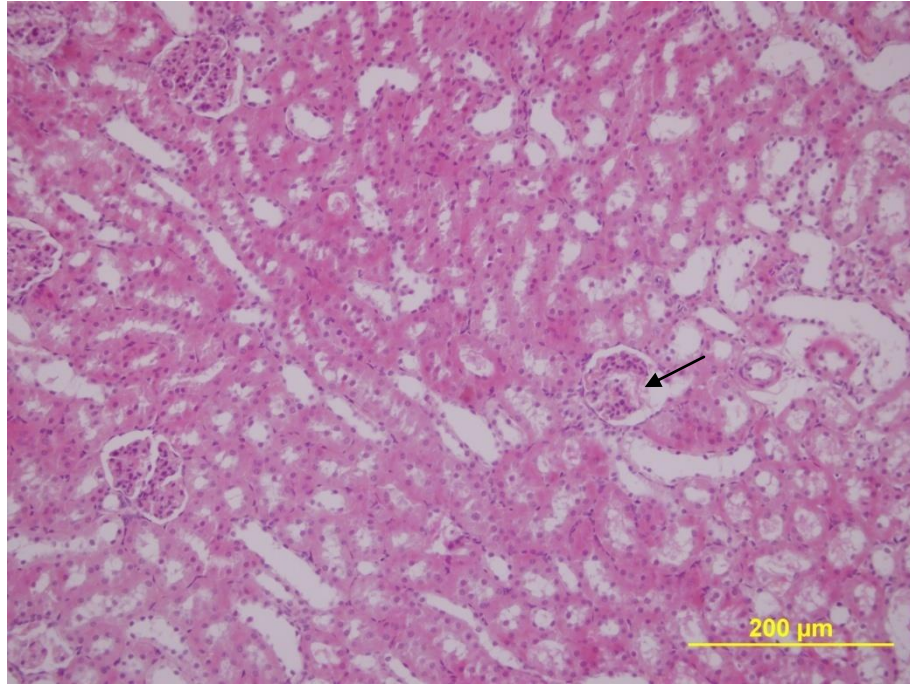
Kontrol grubu sıçan böbrek dokularında normal histolojik yapılar gözlendi. Bazal membranda dejenerasyon gözlenmemiştir (Şekil 4.7.). Grup II ve Grup III'te de kontrol grubunda olduğu gibi bazal membranda dejenerasyon, glomerüllerde atrofi ve proksimal tübüllerde dejenerasyon gözlenmemiştir (Şekil 4.8, 4.9). Grup V'te, Grup VI'a göre daha fazla kontrol grubunda görülen normal histolojik yapılar gözlenmiştir (Şekil 4.11 ve 4.12). Burada da Mercanköşk yağının 0,32 ml/kg dozda uygulanmasının daha koruyucu olduğu görülmesine karşın, 0,64 ml/kg dozda uygulanması koruyucu olmamıştır.



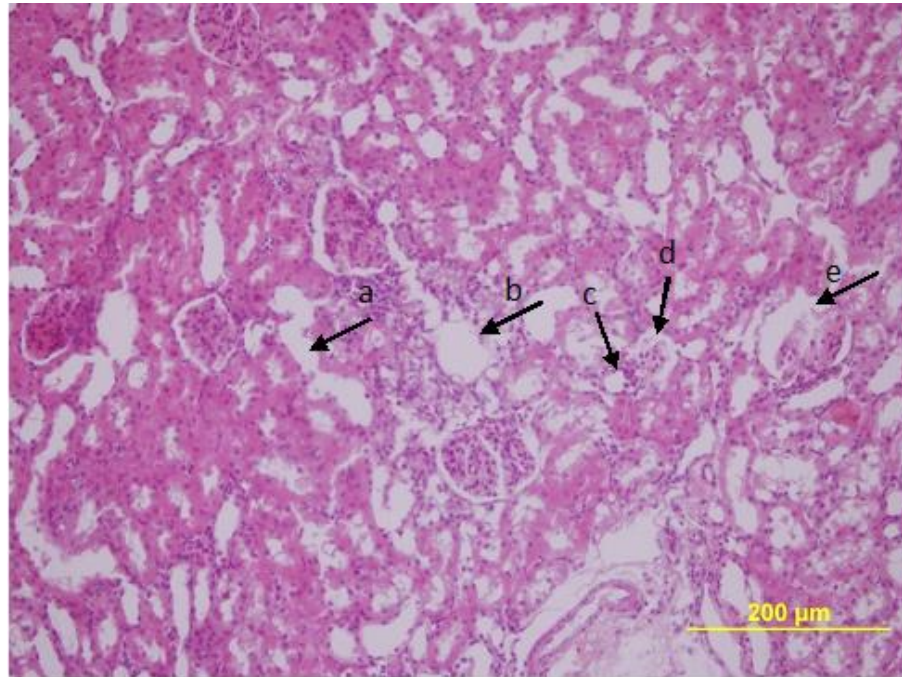
Şekil 4.1. Kontrol grubu sıçanlarına (Grup I) ait böbrek dokusu (H&EX20).



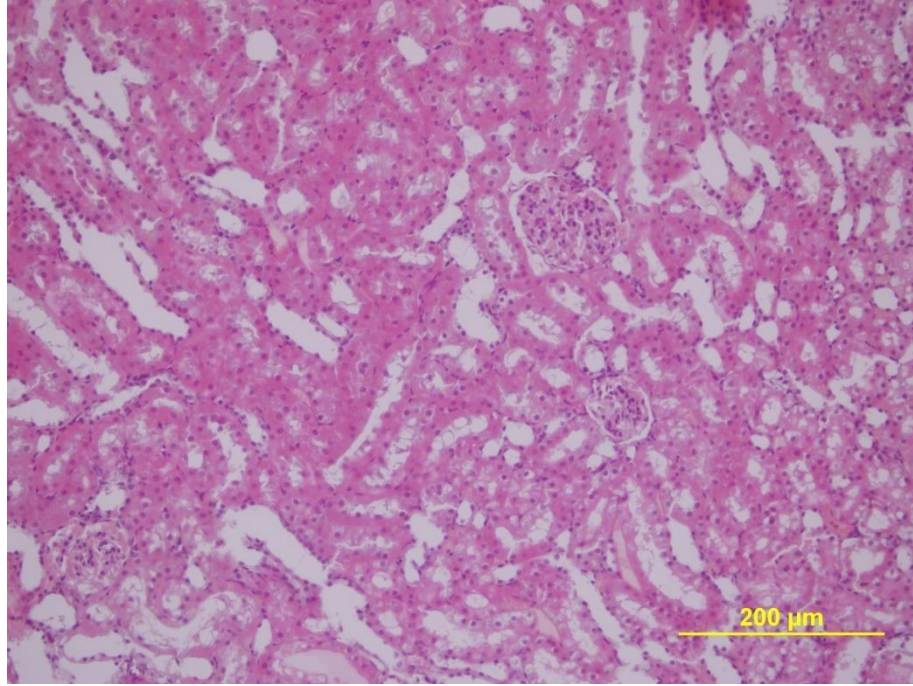
Şekil 4.2. Mercanköşk yağı (0,32 ml/kg) verilen sıçan grubuna (Grup II) ait böbrek dokusu (H&EX20).



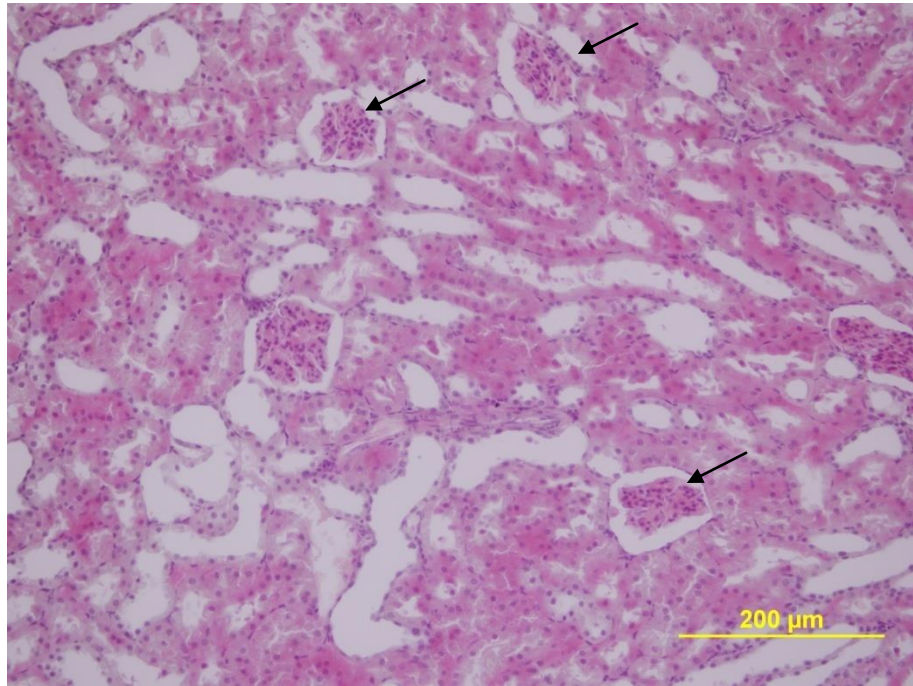
Şekil 4.3. Mercanköşk yağı (0,64 ml/kg) verilen sıçan grubuna (Grup III) ait böbrek dokusu (H&EX20). (Ok, glomerüler hasarı göstermektedir).



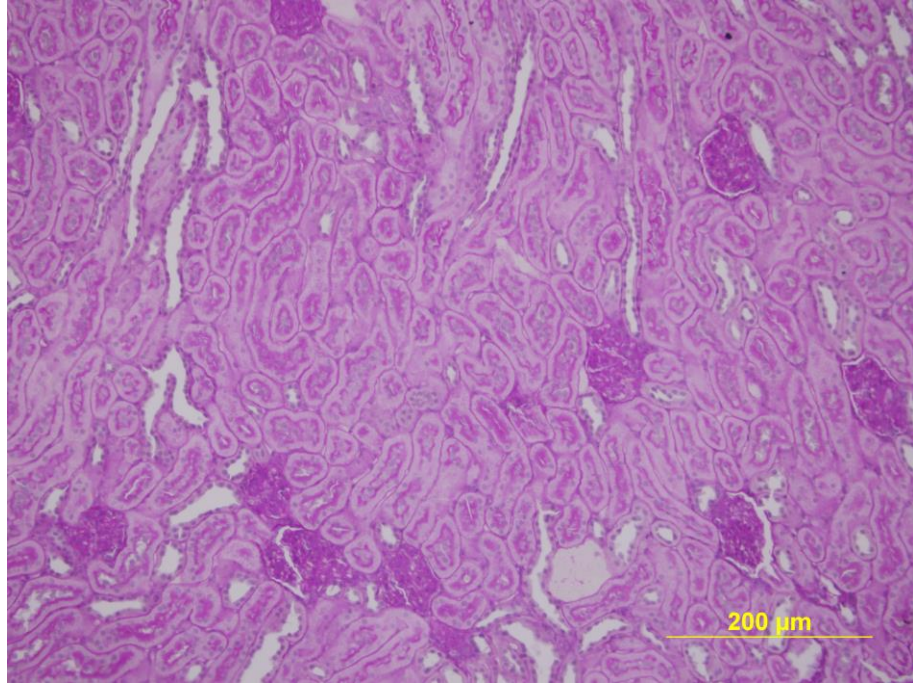
Şekil 4.4. GM uygulanan sıçan grubuna (Grup IV) ait böbrek dokusu (H&EX20).
(a:proksimal tübülde genişleme, b:glomerüler kapiller yumak dejenerasyonu,
c-d: mononükleer hücre infiltrasyonu, e:glomerüler atrofi)



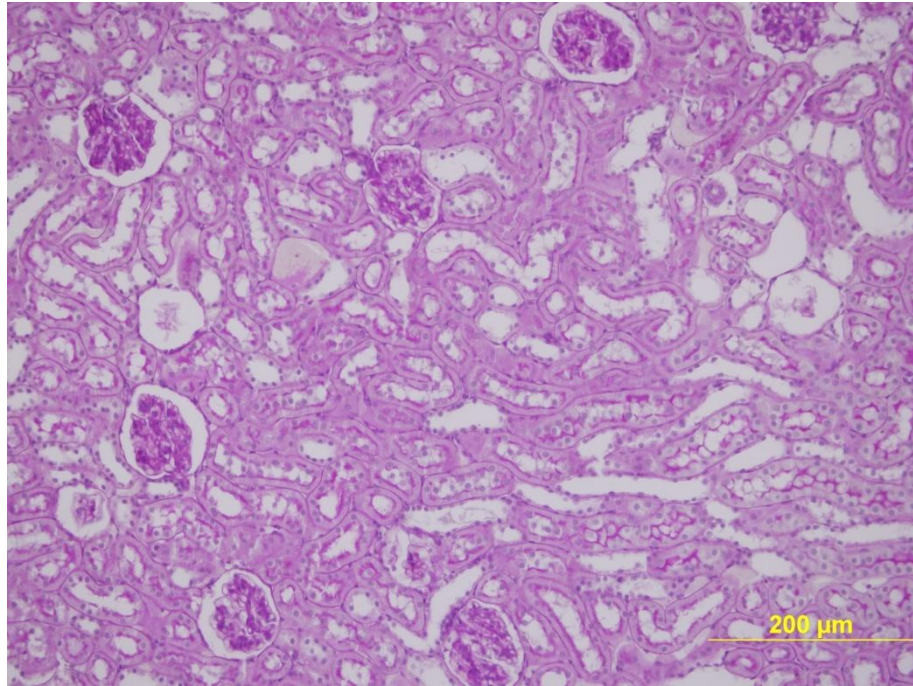
Şekil 4.5. GM'le birlikte Mercanköşk yağı (0,32 ml/kg) uygulanan sıçan grubuna (Grup V) ait böbrek dokusu (H&EX20).



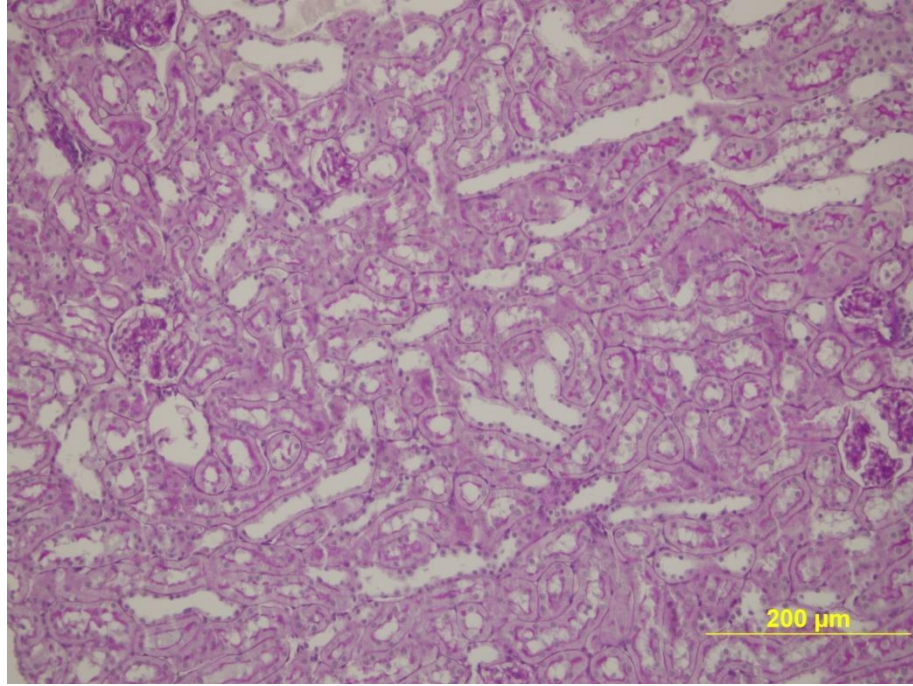
Şekil 4.6. GM'le birlikte Mercanköşk yağı (0,64 ml/kg) uygulanan sıçan grubuna (Grup VI) ait böbrek dokusu (H&EX20). (Oklar, glomerüllerdeki atrofiyi göstermektedir).



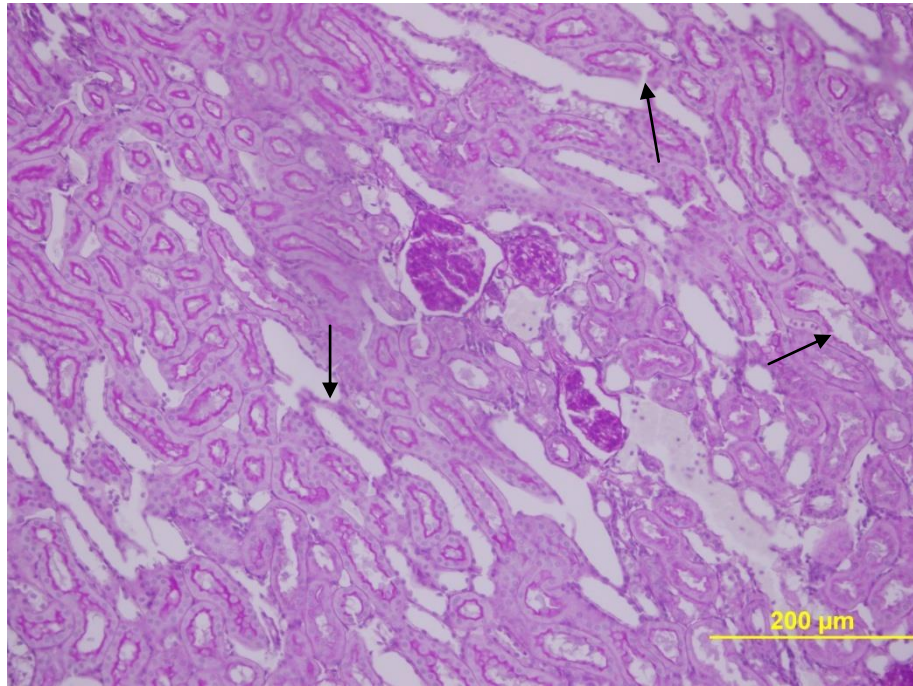
Şekil 4.7. Kontrol grubundaki sıçanların (Grup I) böbrek dokusu (PAS x20).



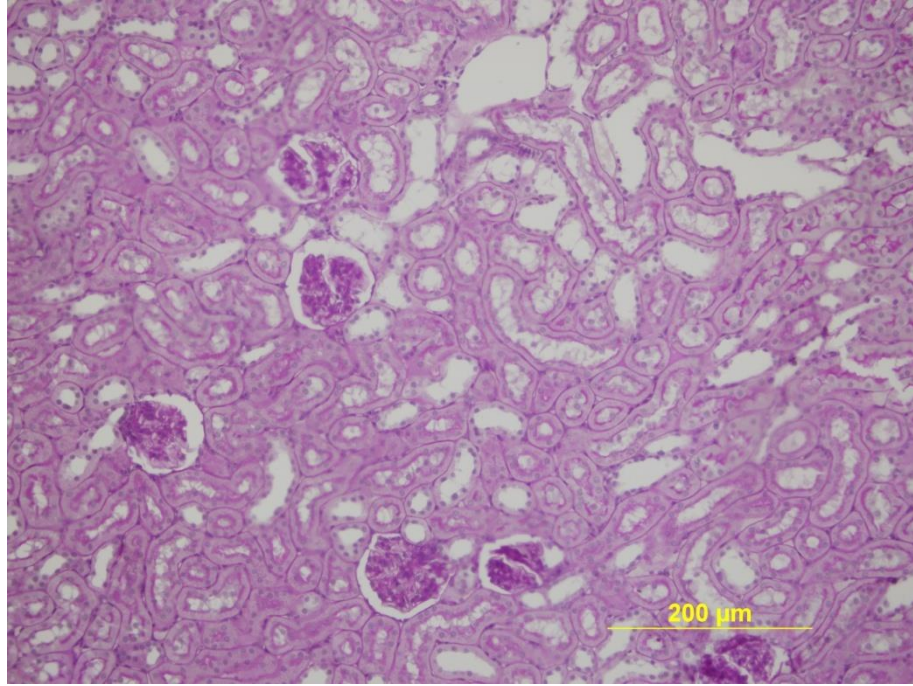
Şekil 4.8. Mercanköşk yağı (0,32 ml/kg) verilen sıçan grubuna ait (Grup II) böbrek dokusu (PASx20).



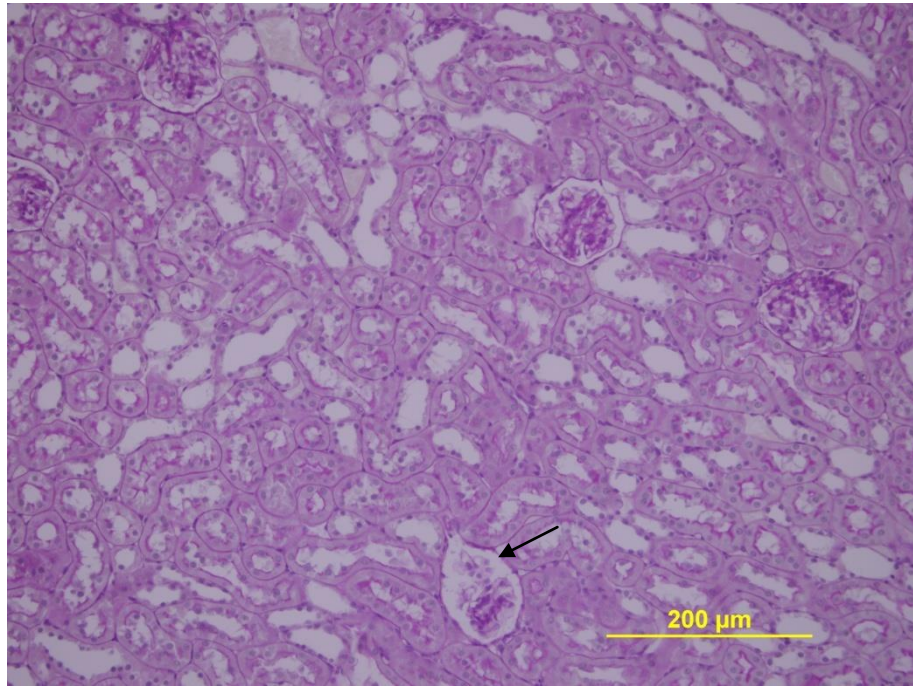
Şekil 4.9.Mercanköşk yağı (0,64 ml/kg) verilen sıçan grubuna ait (Grup III) böbrek dokusu (PASx20).



Şekil 4.10.GM verilen sıçan grubuna ait (Grup IV) böbrek dokusu (PASx20). (oklar, bazal membran dejenerasyonlarını göstermektedir).

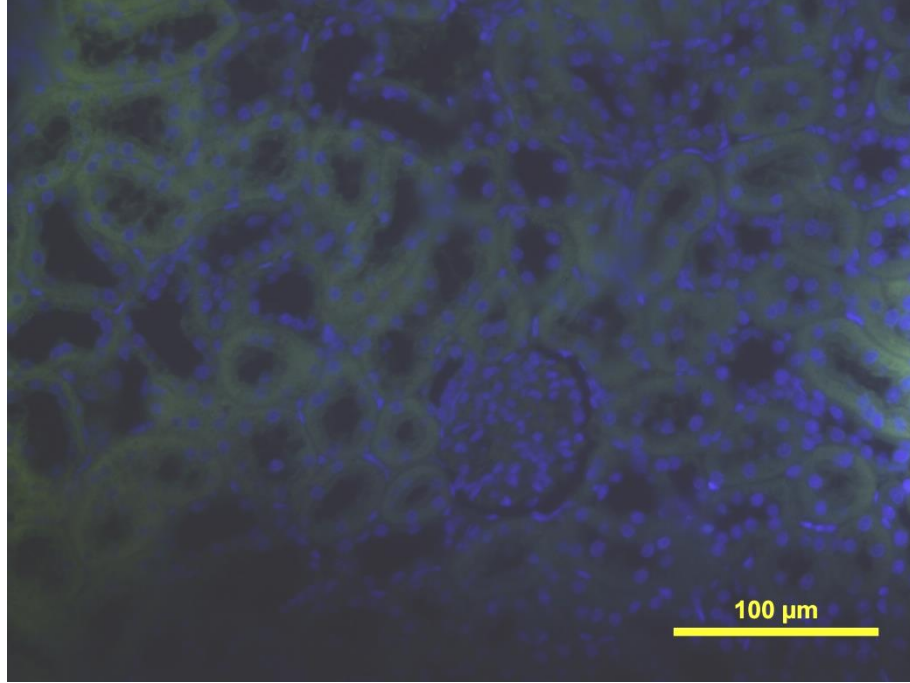


Şekil 4.11.GM’le birlikte Mercanköşk yağı (0,32 ml/kg) uygulanan sıçan grubuna (Grup V) ait böbrek dokusu (PASx20).

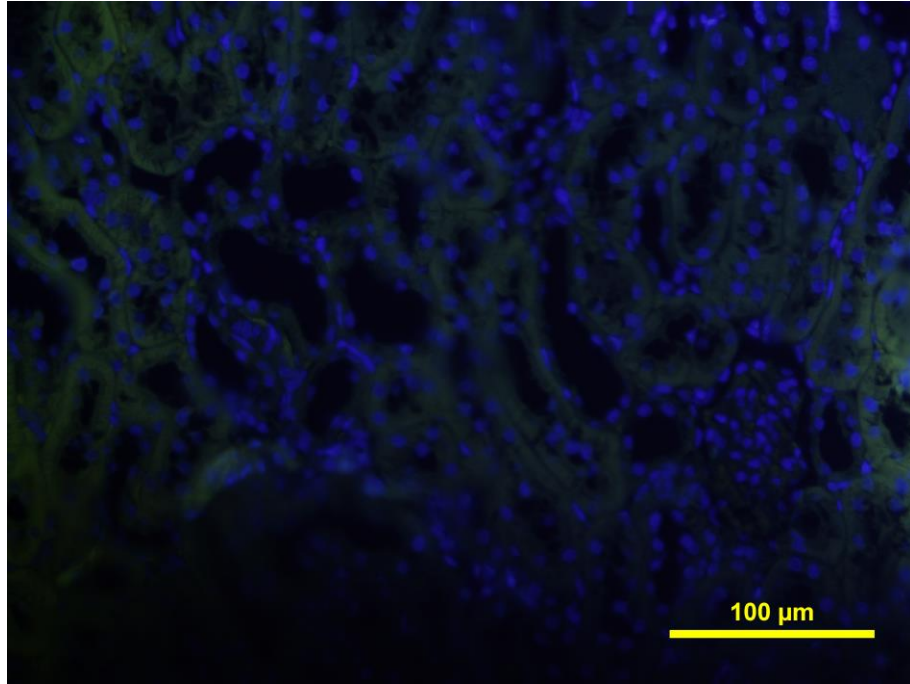


Şekil 4.12.GM’le birlikte Mercanköşk yağı (0,64 ml/kg) uygulanan sıçan grubuna (Grup VI) ait böbrek dokusu (PASx20). (ok, glomerüler atrofiyi göstermektedir).

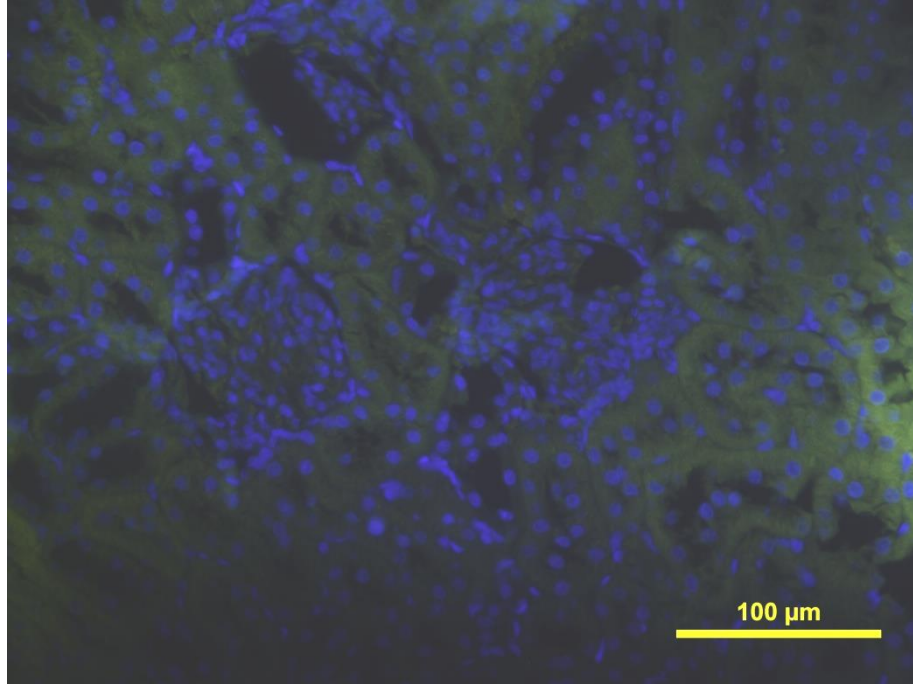
4.4. Apoptoz Sonuçları



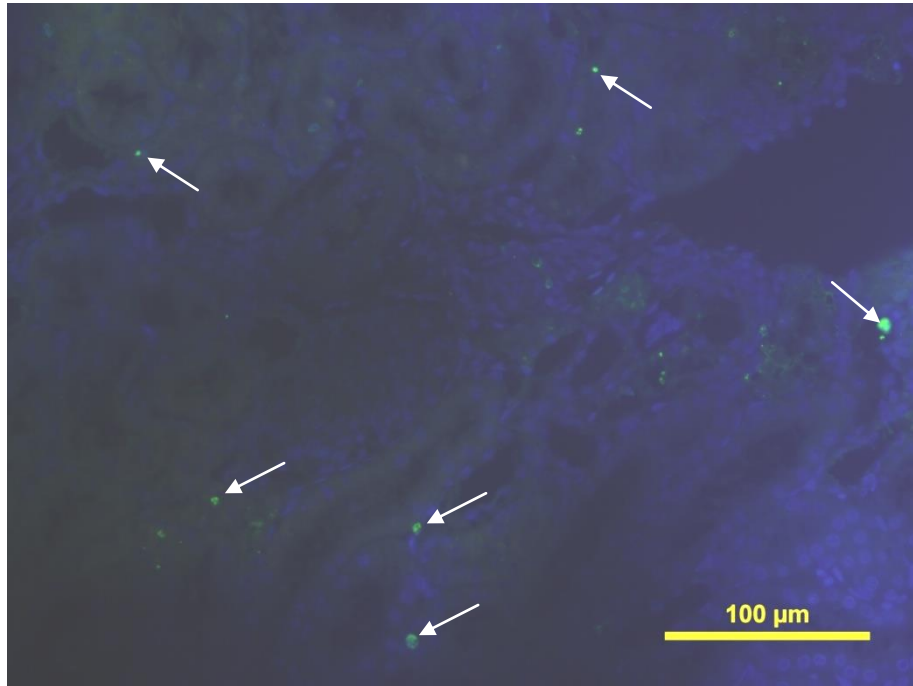
Şekil 4.13. Kontrol grubuna (Grup 1) ait böbrek kesitinde TUNEL boyama.



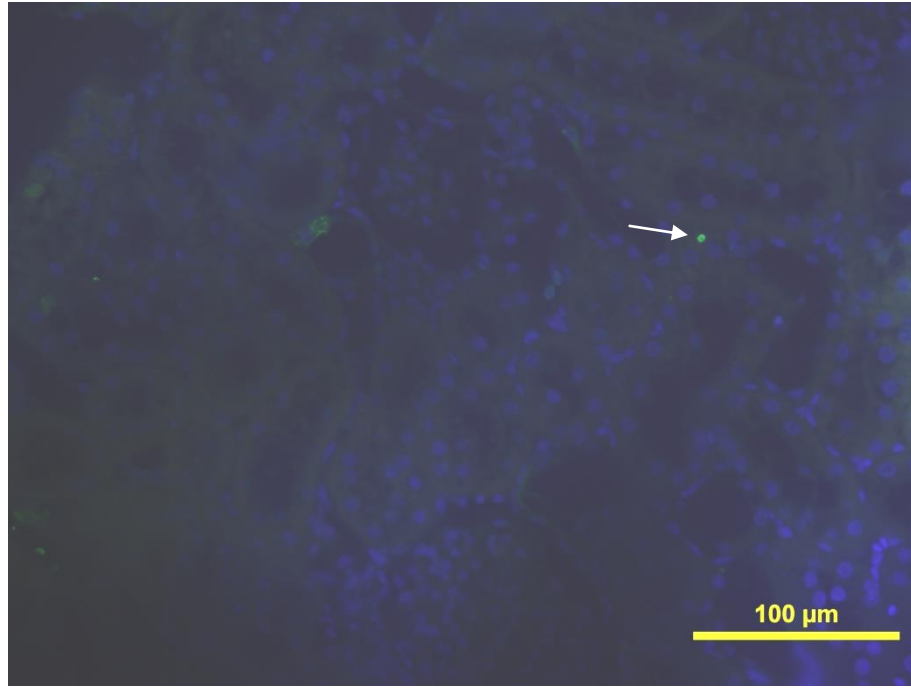
Şekil 4.14. Mercanköşk yağı verilen (0,32 ml/kg) gruba ait (Grup II) böbrek kesitinde TUNEL boyama.



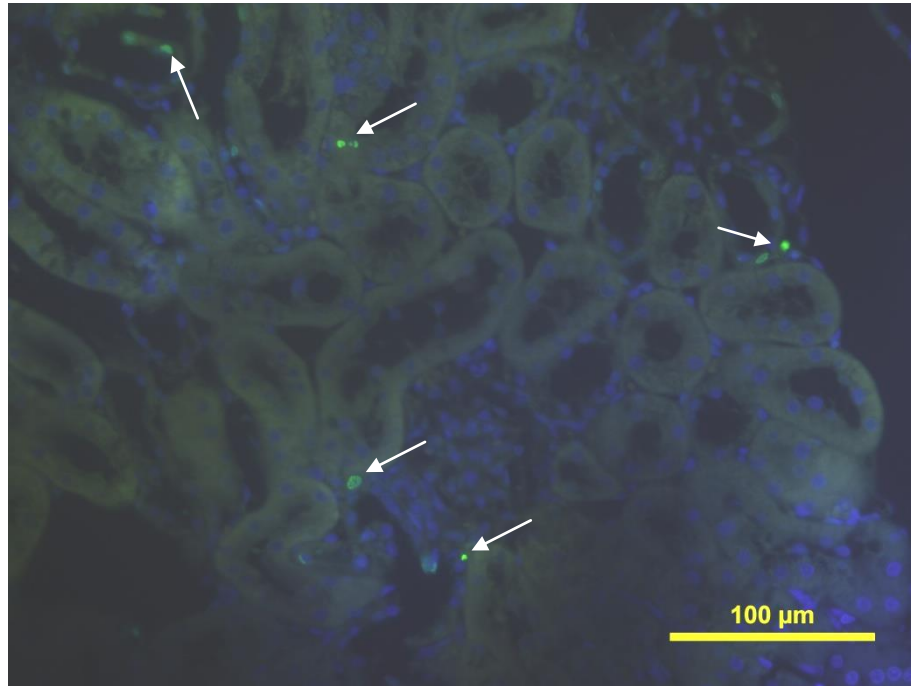
Şekil 4.15. ... Mercanköşk yağı verilen (0,64 ml/kg) gruba ait (Grup III) böbrek kesitinde TUNEL boyama.



Şekil 4.16. GM verilen gruba ait (Grup IV) böbrek kesitinde TUNEL boyama (Oklar apoptotik hücreleri göstermektedir).



Şekil 4.17. GM'le birlikte Mercanköşk yağı verilen (0,32 ml/kg) gruba ait (Grup V) böbrek kesitinde TUNEL boyama (Oklar apoptotik hücreleri göstermektedir).



Şekil 4.18. GM'le birlikte Mercanköşk yağı verilen (0,64 ml/kg) gruba ait (Grup VI) böbrek kesitinde TUNEL boyama (Oklar apoptotik hücreleri göstermektedir).

4.1. Apoptotik Bulgular

Kontrol grubu ve yalnızca Mercanköşk yağı verilen gruplarda apoptoz gözlenmemiştir. Yalnızca Mercanköşk yağı verilen gruplarda kontrol grubuna yakın değerler elde edilmiştir. Ancak GM ve GM ile birlikte Mercanköşk yağı verilen gruplarda apoptoz gözlenmiştir. Bu nedenle apoptoz görülen gruplar kendi aralarında Eşleştirme (Paired) metoduyla analiz edilmiştir. Bu gruplar arasındaki ilişki Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Apoptoz görülen grupların istatistiksel açıdan değerlendirilmesi

Grup Çiftleri	Gruplar	Aritmetik Ortalama	Standart Sapma	p Değeri
Çift 1	GM	3,33	3,390	0.001
	GM+0,32 OM	1,25	1,591	
Çift 2	GM	3,33	3,400	0.004
	GM+0,64OM	2,01	2,630	
Çift 3	O32+GM	1,25	1,591	0.020
	O64+GM	2,01	2,630	

Sadece GM verilen grupta bariz apoptoz gözlenmişken, GM ile birlikte 0,32 ml/kg Mercanköşk yağı verilen grupta çok az apoptoz gözlenmiştir. Sadece GM verilen grupta bariz apoptoz gözlenirken, GM'le birlikte 0,32 ml/kg Mercanköşk yağı verilen grupta apoptozda azalma gözlenmiştir ($p<0,05$).

Sadece GM verilen grupta bariz apoptoz gözlenmişken, GM ile birlikte 0,64 ml/kg Mercanköşk yağı verilen grupta apoptozda azalma gözlenmiştir ($p<0,05$).

GM'le birlikte 0,64 ml/kg Mercanköşk yağı verilen grupta, GM'le birlikte 0,32 ml/kg Mercanköşk yağı verilen gruba göre bir miktar daha fazla apoptoz gözlenmektedir ($p<0,05$).

Burda dikkatimizi çeken nokta; GM'le birlikte 0,32 ml/kg dozda Mercanköşk yağı uygulanması durumunda daha az apoptoz gözlenmektedir. Ancak GM'le birlikte 0,64 ml/kg Mercanköşk yağı uygulandığında apoptozda artış gözlenmektedir. Bu durum da 0,32 ml/kg doz Mercanköşk yağı uygulanmasının daha koruyucu olduğunu göstermektedir. Fazla dozda Mercanköşk yağı uygulanması koruyucu olmamaktadır.

Gruplara göre apoptotik hücre sayıları Tablo 4.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Deney Gruplarında Görülen Apoptotik Hücre Sayıları

Deney Grupları		Tünel Pozitif Hücre Sayısı (n=100)
Kontrol Grubu	(Grup I)	0
Mercanköşk (0,32 ml/kg)	(Grup II)	0
Mercanköşk (0,64 ml/kg)	(Grup III)	0
GM (100mg/kg)	(Grup IV)	333
Mercanköşk (0,32 ml/kg)+ GM	(Grup V)	125
Mercanköşk (0,64 ml/kg)+ GM	(Grup VI)	201

Apoptoz verilerine ulaşmak için, her gruba ait 100'er alan taranarak (n=100) sayım yapılmıştır. Tabloda da görüleceği üzere, ilk 3 grupta hiç apoptoz gözlenmemiştir.

4.2. Biyokimyasal Analiz Bulguları

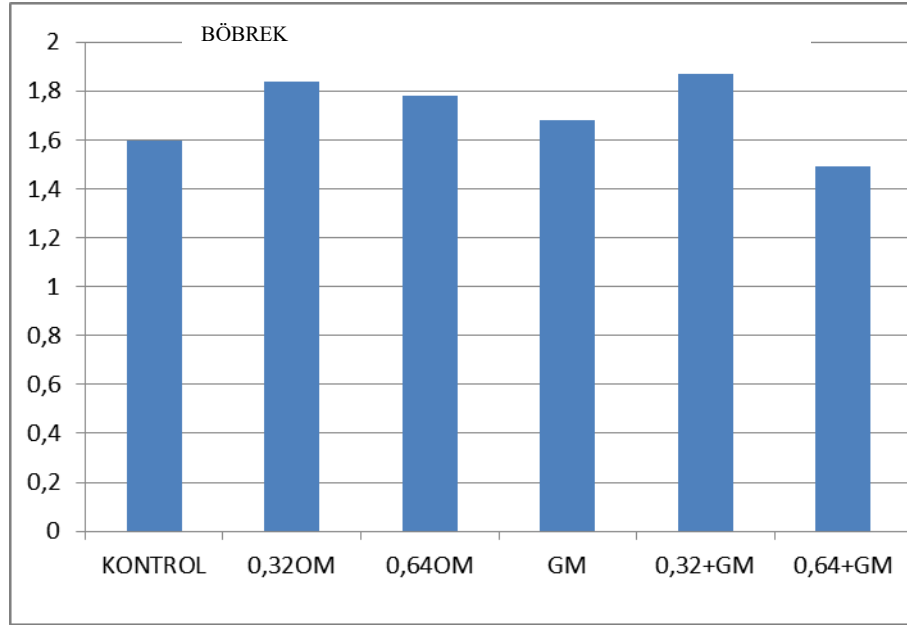
Daha sağlıklı sonuç alabilmek için, böbreklerdeki kimyasal analizlere bakılmıştır. Gruplar arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada Non Parametrik test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Anlamlılık sınırı olarak ($p<0,05$) kabul edilmiştir.

Bu sonuca göre, gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiştir (Tablo 4.5.).

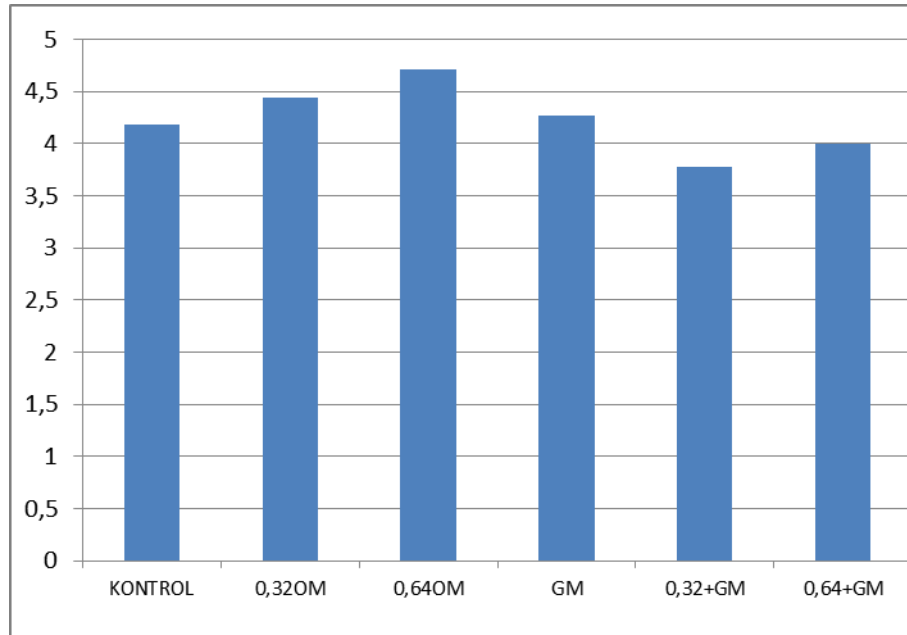
Tablo 4.5. Böbrek dokusundaki MDA, SOD, CAT enzimlerinin istatistiksel analizi

MDA	Böbrek	p=0,46	p>0,05
SOD	Böbrek	p=0,18	p>0,05
SOD	Böbrek	p=0,41	p>0,05

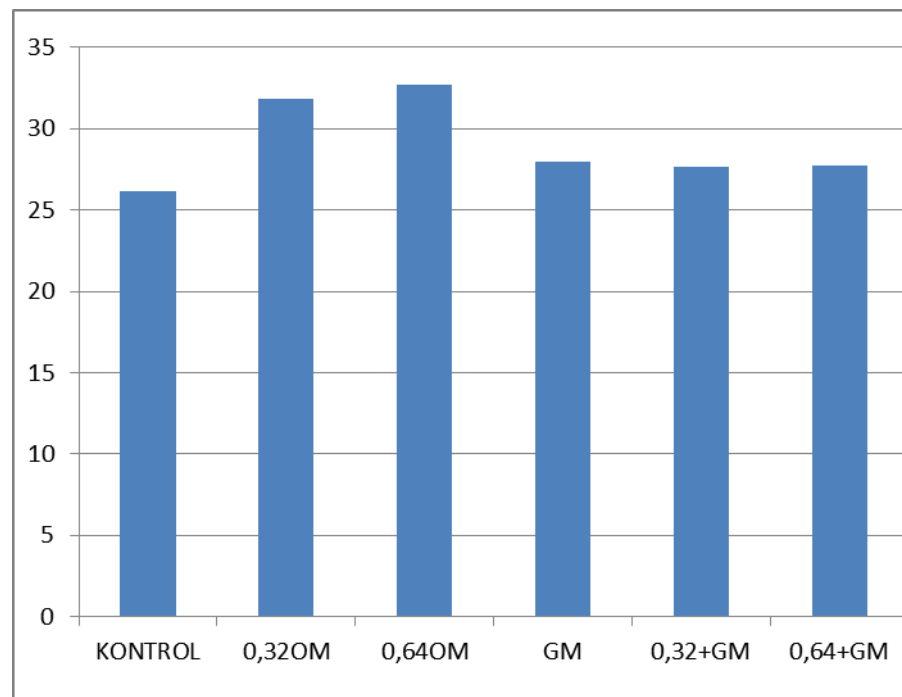
Grafik 4.1. Böbrek dokusunda MDA analiz sonuçlarının grafik üzerinde gösterilmesi



Grafik 4.2. Böbrek dokusunda SOD analiz sonuçlarının grafik üzerinde gösterilmesi



Grafik 4.3. Böbrek dokusunda CAT analiz sonuçlarının grafik üzerinde gösterilmesi



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

GM, şeker ve polikasyonik yapıda ve 6 üyeli bir aminosiklitol halkasına glikozidik bağlarla bağlı bir antibiyotiktir (48-51). GM suda çözünür ancak organik çözücülerde çözünmez ve çok az lipofilik özelliği yüzünden yağ içeren zarlardan geçişi sınırlıdır (52,53). Aynı zamanda plazma proteinlerine de bağlanmaz. Böbreklerde yıkıma uğramadan atıldığı, burada glomerüler filtrasyona uğrayıp proksimal tübülüslerden reabsorbe edildiği, aynı zamanda en önemli yan etkisinin de nefrotoksisite olduğu bilinmektedir (54). Aminoglikozid'e bağlı nefrotoksisite, direkt tübüler hasar ve glomerüler filtrat oranının azalması şeklinde olur. Bazı çalışmalarda aminoglikozidin antibiyotiklere bağlı akut renal yetmezlik ve membran lipid peroksidasyonuna doğrudan dahil olabileceği gösterilmiştir (55).

GM özellikle gram negatif bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde önemli yeri olan bir ilaçtır. Ancak antibiyotik kullanımını gerektiren klinik durumlar, yüksek oranda böbrek yetmezliği olasılığını içerebilir. Bu durum da GM'in klinik kullanımını kısıtlamaktadır (56). Glomerüler filtratta ve konsantrasyon yeteneğinde azalma, ayrıca BUN değerlerindeki ve serum kreatinin düzeyindeki artış, nefrotoksisite olarak değerlendirilmektedir. Çoğunlukla nonoligürik bir nefrotoksisite gelişir. Nefrotoksisitede; renal konsantrasyon bozukluğu, akut tübüler nekroz veya renal yetmezlik gibi patolojiler bulunmaktadır. Bunun nedeni de GM'in kortekste birikme özelliğinden kaynaklanmaktadır (57).

Singh ve arkadaşlarına göre; Mercanköşk yağının koruyucu etkisi sadece büyük bileşenlerine atfedilemez. Küçük bileşenlerinin de koruyucu aktivitede önemli rolü vardır. Ayrıca sinerjistik etkilerinin de olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle OM yağının böbrekleri muhtemel koruyucu mekanizması; lipid peroksidasyonuna engel olan ve böbrekteki antioksidan-detoksifikasyon sistemine yardımcı olan serbest radikalleri süpürme ve temizleme etkisinden kaynaklanmaktadır (58).

Origanum yapraklarının tip 1 ve tip 2 diabette kullanıldığı bilinmektedir (59-61). İki hafta boyunca günlük 20 mg/kg OM yağının kullanımı, ciddi diabetik sıçanlarda kan glukoz seviyesinin normale dönmesi için yeterli olmuştur (62). OM yağının anti-hiperglisemik etkisinin çok güçlü ve birikimli olduğu söylenebilir. Buna ilaveten bitki özütü böbrek tübüler glukoz emiliminin bir önleyicisi olarak görev yapabilir (63). OM'nın bilinen temel bileşenlerinin **linalol, alkoller, fenoller ve terpenler** gibi uçucu bileşikler olduğu gösterilmiştir (64,65). Karvakrol ve timol içeren OM yağı; enfeksiyonlarla mücadelede, sindirim sistemini rahatlatmak için besin takviyesi olarak ve deriyle ilişkili problemlerde kullanılmaktadır (66). Temel bileşenlerinin hepsi de antibakteriyel ve antioksidan olarak görev yapar (67,68). Ayrıca flavonoidler veya polifenollerin birçok şifalı bitkilerdeki ve doğal ürünlerdeki aktif bileşenleriyle insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri vardır (69).

Talib Hussain ve arkadaşları günlük 100 mg/kg olmak üzere 8 gün boyunca GM uygulayarak oluşturdukları nefrotoksisiteye karşı *Solanum xanthocarpum* meyve ekstraktı uygulamışlardır. GM uygulanan grupta SOD ve CAT enzimleri, kontrol grubuna göre belirgin bir artış göstermiştir (70). Ancak karaciğer ve böbrek dokularını ayrı ayrı değerlendirdiğimiz bu çalışmamızda, yapılan istatistiksel karşılaştırmada gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Bunun yanında grafiksel açıdan değerlendirdiğimizde MDA ve CAT enzim seviyelerinde benzerlik bulunmaktadır. Böbreklerdeki MDA değeri; 0,64 mg/kg OM, GM ile birlikte verildiğinde kontrol grubuna yakın bir değer oluşmuştur. Karaciğerdeki CAT enzim seviyesi de; 0,32 mg/kg OM GM ile birlikte verildiğinde kontrol grubuna yakın bir değere ulaşmıştır.

Talib Hussein ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre patolojik bulgular değerlendirildiğinde yalnızca GM verilen sıçan böbreklerinde; dejenerasyon, deskuamasyon, tübüllerde nekrozis, intertübüler hemoraji, tübüllerde hyalin yapılar, glomerüllerde kızarıklık ve genişleme görülmüştür (70). Polat ve arkadaşları (71) ile Sayed-Ahmed ve arkadaşları (72) tarafından yapılan başka çalışmalarda da aynı bulgular gözlenmiştir. GM uygulanan diğer çalışmalarda da birbirine yakın bulgulara rastlanmıştır (73,74).

Bizim çalışmamızda da benzer histolojik bulgulara rastladık; yalnızca GM verilen grupta (Grup IV); mononükleer hücre infiltrasyonu, tübüllerde belirgin genişleme ve glomerüler kapiller yumak dejenerasyonu gözlemledik.

Soliman ve arkadaşlarının Cisplatin ile sıçanlarda oluşturdukları nefrotoksisitede OM kullanımından sonra; serum kreatinin, üre, ürik asit ve BUN değerlerinin kontrol grubu seviyelerine yaklaştığı gözlenmiştir. Ayrıca renal korpüsküllerin ve tübüllerin kendini oanarabildiği (yenilendiği) gözlenmiştir. OM'nın böbrek antioksidan durumunu iyileştirebileceği bildirilmektedir. Bu durum MDA seviyelerindeki önemli düşüş ve SOD ve CAT enzimlerindeki önemli artışla uyumludur (75).

Desouky ve arkadaşları OM'nın böbrek üzerindeki hasar düzeltici etkisinin, yapısındaki serbest radikallerden ve antioksidan kapasiteden kaynaklandığını düşünmektedirler. OM'nın serbest radikalleri önleyici etkisini, yaptıkları çalışmalarda doğrulamışlardır. Bu serbest radikal önleyici aktivite, elektron verici aktiviteyi ve OM'nın indirgeyici potansiyelini düşündürmektedir (76). OM, lipid peroksidasyonunu inhibe edici ve glutasyonla birlikte diğer antioksidan enzimlerin hücre içi konsantrasyonunu arttırıcı etkiye sahiptir. Üstelik antioksidanların kemoterapiye bağlı bazı toksisite tiplerini azaltabileceği bildirilmiştir (77,78). Ayrıca bitki özündeki flavonoidlerin hasarlı organ dokusu üzerinde tamir etkisine sahip oldukları ve suda çözünür özellikleriyle oksidatif hücre hasarını önledikleri rapor edilmiştir (79).

Mercanköşk yağının ana bileşeni olan karvakrol ve diğer bileşenleri üzerine pek çok çalışma yapılmıştır (79-85). Gedara tarafından yapılan bir araştırmada, karvakrolün fare lösemisinde önemli sitotoksik aktivite ürettiği gösterilmiştir (79). Yine Slamenova ve arkadaşları tarafından karvakrolün sitotoksik ve DNA koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (80). Yin ve arkadaşları karvakrolün HepG2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri üzerinde apoptozun rol oynadığını kanıtladılar (81). Arunasree, MDA-MB 231 insan metastatik meme kanseri hücrelerinde karvakrol kaynaklı hücre ölümü mekanizmasını araştırdı ve bu bileşiğin doz bağımlı bir şekilde apoptozu indüklediğini göstermiştir (82). Tüm bu sonuçlar, mercanköşk yağı ve karvakrolün önemli antitumörjenik etkisi nedeniyle kanseri önlemede farmakolojik bir öneme sahip olduğunu göstermektedir (83).

Özkan ve arkadaşları, timolün antioksidan aktivitesi ve kanser oluşumunu azaltma potansiyelini göstermişlerdir (84).

Bizim çalışmamızdaki apoptoz sonuçlarında Mercanköşk yağının koruyucu etkisini gördüğümüzü söyleyebiliriz. Kontrol (Grup I), 0,32 OM mg/kg (Grup II) ve 0,64 OM mg/kg (Grup III) gruplarından alınan histolojik kesitlerde apoptoza rastlanmamıştır. Sadece GM uygulanan grupta (Grup IV) bariz apoptoz görülmüştür (Şekil 4.16). GM'le birlikte Mercanköşk verilen gruplarda ise (Grup V ve Grup VI) apoptozda azalma olduğu gözlenmiştir. Özellikle; Grup VI'ya göre Grup V'te daha az apoptoz gözlenmiştir. Bu sonuç Rafaie ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki 0,32 mg/kg OM verilen gruptaki sonuçla benzerlik göstermektedir. Rafaie ve arkadaşları 0,16 mg/kg OM uygulamasını günde 2 defa olmak üzere yapmışlardır (7). Biz ise çalışmamızda daha güvenilir sonuçlar alabilmek amacıyla, 0,32 mg/kg OM'yı günlük tek doz olarak uyguladık. Bunun sonucunda; günlük 0,32 mg/kg OM uyguladığımız gruptaki sonuçlar, günde 2 kez 0,16 mg/kg OM uygulanan grupla benzerlik göstermektedir. Bizim çalışmamızla benzer çalışmaların sonuçları arasındaki bazı farklılıkların bu uygulamadan kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sunduğumuz bu çalışmamızda, GM'le böbreklerde oluşturmaya çalıştığımız nefrotoksisite üzerine (tubuler ve glomeruler hasar), oral yolla uyguladığımız Mercanköşk yağının koruyucu etkisinin olup olmadığı incelenmiştir.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular neticesinde Mercanköşk yağının antioksidan özelliğe sahip bir madde olduğunu söyleyebiliriz. GM'in sıçanlarda oluşturduğu nefrotoksisiteye karşı, GM'le birlikte Mercanköşk yağının verilmesinin hem histopatolojik, hem de bazı biyokimyasal parametreler (MDA, SOD, CAT) üzerinde meydana getirdiği olumlu değişimlere bakarak GM ile oluşturulan hasara karşı Mercanköşk yağının böbrek dokusunu koruyucu özelliğinin bulunduğu ve nefrotoksik hasarı azalttığı söylenebilir.

6. KAYNAKLAR

1. Elisenber JM, Koffer H, Glick RA, Cornvell ML et al. What is the cost of nephrotoxicity associated with aminoglycosides? Ann Intern Med 1987; 107:900–9.
2. Al-Majed AA, M. Mostafa A, Al-Rikabi A and Al-Shabanah OA. Protective effects of oral arabic gum administration on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Department of Pharmacology 2002; 46: 445-45.
3. The Merck Manual, 14. Baskı'dan çeviri, Türkçe 1. Baskı, İstanbul 1986, s.1687
4. Novak, J., C. Bitsch, J. Langbhn, F. Pank, M. Shoula, Y. Gotsiou & C. Franz: Ratios of cis- and trans- Sabinene hydrate in *Origanum majorana* L. and *Origanum microphyllum* (Benth) Vogel. Bioch. Syst. Ecol. 2000, 28, 697–704.
5. Yaman I, Balikci E. Protective effects of *Nigella sativa* against gentamicin induced nephrotoxicity in rats. Exp Toxicol Pathol 2010; 62: 183-190
6. Karahan I, Atessahin A, Yilmaz S. Ceribasi AO, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. Toxicology 2005; 215: 198-204.
7. Mossa AH, Refaie AA, Ramadan A, Bouajila J. Amelioration of prallethrin induced oxidative stress and hepatotoxicity in rat by the administration of *Origanum majorana* essential oil. Asian Pac J Trop Med 2014: S506-S513
8. Refaie AE, Ramadan A, Mossa ATH. Oxidative damage and nephrotoxicity induced by prallethrin in rat and the protective effect of *Origanum majorana* essential oil. J Trop Med 2014: S506-S513
9. El-Ashmawy IM, El-Nahas AF and Salama OS. Protective Effect of Volatile Oil, Alcoholic and Aqueous Extracts of *Origanum majorana* on Lead Acetate Toxicity in Mice. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology 2005; 97: 238–243.
10. Anonim 2011a. <http://www.ekutuphane.teb.org.tr/pdf/eczaciodasiyayinlari/antibiyotikler/9.pdf>.

11. Junqueira L.C., Carneiro J. Çev. Ed: Aytekin Y, Solakoğlu S.: Temel Histoloji. NOBEL TIP. S:383-400
12. Barger AC., Herd JA: The renal circulation. N ENGL J Med 1971; 284:482.
13. <http://docplayer.pl/docs-images269224922images5-0.png>
14. Farquhar MG: The glomerular basement membrane: a selective macromolecular filter. In; Hay ED: Cell Biology of Extracellular Matrix. Plenum Press, 1981.
15. Friis UG et al: Exocytosis and endocytosis in juxtaglomerular cells. Acta Physiol Scand 2001; 168:95
16. Ganong WF: Formation and excretion of urine. In: Review of Medical Physiology, 20th ed. McGraw-Hill, 2001.
17. Wilke A, Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. Aminoglikozidler. Güncel Bilgiler Eşliğinde Antibiyotikler. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 46, 313-324.
18. Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. J Ethnopharmacol, 1991; 35:77-82.
19. Sudina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. 1993:329, 21-24.
20. Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, Di Paola R, Britti De sarro A, Pierpaoli S, Caputi AP, Masini E, Salveminirole D. A role for superoxide in gentamicin-mediated nephropathy in rats. Eur J Pharmacol, 2002;450:67-76.
21. Mhairi G, Martha D, Mary MK (2002). Avery's Neonatology. Pathophysiology and Management of the Newborn. Renal Disease, 42, 980-1065.
22. Maldonado PD, Barrera D, Rivero I, Mata R, Medina-Campos ON, Hernandez Pando Retal. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. Free Radical Biol Med, 2003;35:317-324.
23. Kayaalp OS (2002) Rasyonel Tedavi Yönünden Tibbi Farmakoloji, 10. Baskı, Ankara, Hacettepe-Tas Kitapçılık Ltd. Şti.
24. Sehirli AO, Sener G, Satiroğlu H, Ayanoğlu-Dülger G. Protective effect of Nacetylcysteine on renal ischemia-reperfusion injury in the rat. J Nephrol 2003;16:75-80.
25. Mycek MJ, Howland RD. Lippincott Illustrated Review of Pharmacology, 3rd Ed. Philadelphia, Williams & Wilkins, 2004:130-171.

26. Li D, Li H, Ni X, Zhang H, Xia H. Construction of a gentamicin C1a-overproducing strain of *Micromonospora purpurea* by inactivation of the *gacD* gene. *Microbiol Res.* 2013 Jun 12;168(5):263-7
27. Pfaller W, Gstraunthaler G (1998). Nephrotoxicity testing in vitro: what we know and what we need to know. *Environmental Health Perspectives*, 106, 559.
28. Guder WG, Morel F. Biochemical characterization of individual nephron segments. In *Handbook of Physiology. Section 8: Renal Physiology*, 1992;2:2119-2164, Oxford: Oxford University Press.
29. Reiter RJ, Tan D, Sainz RM. Melatonin reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *J Pharm Pharmacol*, 2002;5:1299-1321.
30. Erdem A, Gundogan NU, Usubutun A. The protective effect of taurine against gentamicin-induced acute tubular necrosis in rats. *Nephrol Dial Transplant*, 2000;15, 1175- 1182.
31. Pedraza-Chaverri J, Maldonado PD, Mediana-Campos ON. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. *Free Radic Biol Med*, 2000;29:602-611.
32. Smetana S, Khalef S, Nitsan Z. Enhanced urinary trypsin inhibitory activity in gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Clin Chim Acta*, 1988;76:333-342.
33. De la Cruz Rodriguez LC, Araujo CR, Posleman SE, Rey MR. Attenuation of gentamicin induced nephrotoxicity: trimetazidine versus N-acetyl cysteine. *J Appl Toxicol* 2010; 30: 343–353.
34. Zaske DE, Ewans WE, Schentag JJ, Jusko WJ. Aminoglycosides. In:, Eds. *Applied Pharmacokinetics. Principles of Therapeutic Drug Monitoring*. 3rd Ed, Vancouver: Applied Therapeutics, 1992: 14-47.
35. Leung, A. Y: *Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics*. John Wiley & Sons Inc., New York. 1980.
36. Assaf, M. H, A. A. Ali, M. A. Makboul, J. P. Beck & R. Anton: Preliminary study of phenolic glycosides from *Origanum majorana*; quantitative estimation of arbutin; cytotoxic activity of hydroquinone. *Planta Medica* 1987, **53**, 343–345.
37. Kelly, W. J: *Herbal medicine handbook*. Lippincott Williams Wilkins A Wolters, Kluwer Co, 2004, pp. 289–290.

38. Bagamboula, C. F., M. Uyttendale & J. Debevere: Antimicrobial effect of spices and herbs on *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. *J. Food Prot.* 2003, **66**, 668–673.
39. Velluti, A., V. Sanchis, A. J. Romas, J. Egido & S. Marin: Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oil on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *Int. J. Food Microbiol.* 2003, **89**, 145–154.
40. Nostro, A., A. R. Blanco, M. A. Cannatelli, V. Enea, G. Flamini, I. Morelli, R. A. Sudano & V. Aloazo: Susceptibility of methicillinresistant *Staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbl. Lett.* 2004, **230**, 191–195.
41. Van Den Broucke, C. O. & J. A. Lemli: Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. *Planta Med.* 1980, **38**, 317–331.
42. Chung, Y. K., H. J. Heo, E. K. Kim, T. L. Huh, Y. Lim, S. K. Kim & D. H. Shin: Inhibitory effect of ursolic acid purified from *Origanum majorana* L. on the acetylcholinesterase. *Mol. Cells* 2001, **11**, 137–143.
43. Heo, H. J., H. Y. Cho, B. Hong, H. K. Kim, T. R. Heo, E. K. Kim, S. K. Kim, C. J. Kim & D. H. Shin: Ursolic acid of *Origanum majorana* L. reduces Abeta-induced oxidative injury. *Mol. Cells* 2002, **13**, 5–11.
44. Lin, L. T., L. T. Liu, L. C. Chiang & C. C. Lin: In vitro antihepatoma activity of fifteen natural medicines from Canada. *Phytother. Res.* 2002, **16**, 440–444.
45. Campanella, L. A. Bonanni, G. Favero & M. Tamassetti: Determination of antioxidant properties of aromatic herbs, olives and fresh fruit using an enzymatic sensor. *Anal. Bioanal. Chem.* 2003, **375**, 1011–1016.
46. Zeytinoglu, H. Z. Incesu & K. H. Baser: Inhibition of DNA synthesis by carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human NRAS oncogene. *Phytomed.* 2003, **10**, 292–299.
47. Dorman, H. J. O. Bachmayer, M. Kosar & R. Hiltunen: Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. *J. Agric. Food Chem.* 2004, **52**, 762–770.
48. Hancock RE, Raffle VJ, Nicas TI. Involvement of the outer membrane in gentamicin and streptomycin uptake and killing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1981, **19**, 777–785.

49. Hancock RE, Wong PG. Compounds which increase the permeability of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane. *Antimicrob Agents Chemother*, 1984,26, 48-52.
50. Peterson AA, Hancock EW, Mcgraoarty EJ. Binding of polyCATionic antibiotics and polyamines to lipopolysaccharides of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1985, 164, 1256-1261.
51. Balsam L, Nikbakht N. L-Arginine inhibits vasopressin-stimulated mesangial cell Ca^{2+} . *J Am Soc Physiol*, 1998,275, C352-C357.
52. Gilbert DN, Mandell GL, Benet JE, Dolin R. Aminoglycosides. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Churchill and Livingstone, 2000, 1, 307-336.
53. Arman D, Dizbay M. Yeni aminoglikozid antibiyotikler. *Antimikrobiyal tedavide yenilikler*. Modern Tıp Seminerleri, 2000, 40-50.
54. Mycek MJ, Howland RD. *Lippincott Illustrated Review of Pharmacology*, 3rd Ed., Philadelphia, Williams & Wilkins, 2004,130-171 .
55. Fauconneau B, Tallineau C, Huguet F, Piriou A (). Gentamicin induced kidney damage and lipid peroxidation in rats. *Toxicology Lett*, 1995, 76, 127-134.
56. Hardman JG, Goodman Gilman A, Limbird LE (2005). *Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York, Mc Graw-Hill.
57. Zaske DE, Ewans WE, Schentag JJ, Jusko WJ. Aminoglycosides. In:, Eds. *Applied Pharmacokinetics. Principles of Therapeutic Drug Monitoring*. 3rd Ed, Vancouver: Applied Therapeutics, 1992:14-47.
58. Singh VK, Dixit P, Saxena PN. Cybil induced hepatobiochemical changes in wistar rats. *J Environ Biol* 2005; 26: 725-727.
59. Lemhadri A, Zeggwagh NA, Maghrani M, Jouad H, Eddouk M. Anti hyperglycaemic activity of aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafilate region. *J. Ethnopharmacol*. 2004; 92: 251–256.
60. Mohamed NA, Nassier OA. The Antihyperglycaemic Effect of the Aqueous Extract of *Origanum vulgare* Leaves in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Jordan J. Biol. Sci*. 2013; 6: 31–38.
61. Eddouks M, Jouad H, Maghrani M, Lemhadri A, Burcelin R. Inhibition of endogenous glucose production accounts for hypoglycaemic effect of *Spergularia purpurea* in diabetic mice. *Phytomedicine*. 2003; 10: 594–599.

62. Ismail TA, Soliman MM, Shima TA. Adiponectin regulation in type 2 diabetic rats: effects of insulin, metformin and dexamethasone. *Am. J. Pharmacol. Toxicol.* 2013; 8: 197–208.
63. Maghrani M, Lemhadri A, Jouad H, Michel JB, Eddouks M. Effect of the desert plant *Retama raetam* on glycaemia in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 87: 21–25.
64. Garcia , MA , J Sanz. Analysis of *origanum vulgare* volatiles by direct thermal desorption coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2001; 918: 189–194.
65. Mockute D, Bernotiene G, Judzentiene A. The essential oil of *Origanum vulgare* L ssp *vulgare* growing wild in vilnius district (Lithunia) *Phytochemistry.* 2001; 57: 65–69.
66. Giannenas I, Florou-Paneri P, Papazahariadou M, Christaki E, Botsoglou NA, Spais AB. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Arch. Tierernähr.* 2003; 57: 99–106.
67. Harpaz S, Glatman L, Drabkin V, Gelman A. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea fish (*Lates calcarifer*) *J. Food Prot.* 2003; 66: 410–417.
68. Burt SA, Reinders RD. Anti-bacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett. Appl. Microbiol.* 2003; 36: 162–167.
69. Wollenweber E. Occurrence of flavonoid aglycones in medicinal plants. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1988; 280: 45–55.
70. Hussain T, Gupta RK, Sweetey K, Eswaran Bavani, Vijayakumar M, Rao CV. Nephroprotective activity of *Solanum xanthocarpum* fruit extract against gentamicin-induced nephrotoxicity and renal dysfunction in experimental rodents. *J Trop Med* 2012;686-691.
71. Polat A, Parlakpinar H, Tasdemir S, Colak C, Vardi N, Ucar M, et al. Protective role of aminoguanidine on gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Acta Histochem* 2006; 108: 365-371.
72. Sayed-Ahmed MM, Nagi N. Thymoquinone supplementation prevents the development of gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 399-405.

73. Can C, Sen S, Boztok N, Tugular I. Protective effect of oral l-arginine administration on gentamicin-induced renal failure in rats. *Eur J Pharmacol* 2000; 390: 327–34.
74. Kumar KV, Shifow AA, Naidn MUR, Ratnaker KS. Carvedilol: a beta-blocker with antioxidant property protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Life Sci* 2000; 66: 2603–11.
75. Soliman A.M, Desouky S, Marzouk M, Sayed A. A. *Origanum majorana* Attenuates Nephrotoxicity of Cisplatin Anticancer Drug through Ameliorating Oxidative Stress. *Nutrients* 2016; 8(5): 264.
76. Desouky S., Marzouk M., Soliman A.M., Sayed A.A. Modulatory effect of *Origanum majorana* extract against cisplatin-induced dyslipidemia in rats. *Int. J. Curr. Res. Life Sci.* 2015;4:228–234.
77. Ladas EJ, Jacobson JS, Kennedy DD, Teel K, Fleischauer A, Kelly KM. Antioxidants and cancer therapy: a systematic review. *J Clin Oncol.* 2004 Feb 1; 22(3):517-28.
78. Park JY, Lee D, Jang HJ, Jang DS, Kwon HC, Kim KH, Kim SN, Hwang GS, Kang KS, Eom DW. Protective Effect of *Artemisia asiatica* Extract and Its Active Compound Eupatilin against Cisplatin-Induced Renal Damage. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015:483980.
79. Dragan T., Milena N.T., Stephanie V., Jelena B., Stojanovi V.V.B. Extraction of flavonoids from garden (Salvia officinalis L.) and glutinous (Salvia glutinosa L.) sage by ultrasonic and classical maceration. *J. Serb. Chem. Soc.* 2007; 72: 73–80.
80. Gedara S. R. Terpenoid content of the leaves of *Thymus algeriensis* Boiss. *Mansoura Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2008; 24: 133–143.
81. Slamenová D, Horváthová E, Sramková M, Marsáľková L. DNA-protective effects of two components of essential plant oils carvacrol and thymol on mammalian cells cultured in vitro. *Neoplasma.* 2007; 54(2): 108-12.
82. Yin QH, Yan FX, Zu XY, Wu YH, Wu XP, Liao MC, Deng SW, Yin LL, Zhuang YZ. Anti-proliferative and pro-apoptotic effect of carvacrol on human hepatocellular carcinoma cell line HepG-2. *Cytotechnology.* 2012; 64(1): 43-51.
83. Arunasree KM. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine.* 2010 Jul; 17(8-9): 581-8.

84. Ipek E., Zeytinoglu H., Okay S., Tuylu B. A., Kurkcuoglu M., Baser K. H. C. Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. Food Chemistry. 2005; 93(3): 551–556
85. Ozkan A., Erdogan A. A comparative evaluation of antioxidant and anticancer activity of essential oil from Origanum onites (Lamiaceae) and its two major phenolic components. Turkish Journal of Biology. 2011; 35: 735–742.

EK 1. ETİK KURUL KARARI

ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Şeyh Abdullah ÖZDAŞÇI

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 4 Nisan 1972, Adıyaman

Medeni Durumu: Evli

Tel: +90 536 687 54 06

email: aozdasci@gmail.com

Yazışma Adresi: Halide Nusret Zorlutuna Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi Dirimit 1.
Sok /Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	EÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2017
Lisans	MÜ Sağlık Eğitim Fakültesi	2009
Lise	Sağlık Meslek Lisesi, Kırklareli	1990

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2017- Halen	Milli Eğitim Bakanlığı	Okul Müdür Yardımcısı
1990–1996	Sağlık Bakanlığı	Sağlık Memuru

YABANCI DİL

İngilizce, Fransızca

YAYINLAR

- 1.
- 2.