



T.C.  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
TR, Balıkesir University, Institute of HealthSciences



**DENEYSEL GENTAMİSİN NEFROTOKSİSİTESİ  
OLUŞTURULAN RATLARDA *Tarantula  
cubensis* EKSTRAKTININ KORUYUCU  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

YL-20.13

**CANER EREN**

**Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı**  
Bilim Alan Kodu: 10102.08



**BALIKESİR**  
2020

**T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL GENTAMİSİN NEFROTOKSİSİTESİ  
OLUŞTURULAN RATLARDA *Tarantula cubensis*  
EKSTRAKTININ KORUYUCU ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
YL-20.13**

**CANER EREN**

**TEZ DANIŞMANI  
DOÇ. DR. DİLEK AKŞİT**

**Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner) Anabilim Dalı**

**Bilim Alan Kodu: 10102.08**

**Proje No: 2019/010 -Balıkesir Üniversitesi BAP**

**BALIKESİR**

**2020**



T.C.  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TEZ KABUL VE ONAY**

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında  
**Caner EREN** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

**“DeneySEL Gentamisin Nefrotoksitesisi Oluşturulan Ratlarda *Tarantula cubensis* Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Araştırılması”**

başlıklı tez çalışması

Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi: 07 /09 / 2020**

**TEZ SINAV JÜRİSİ**

Prof. Dr. Ferda AKAR  
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi  
(Başkan)

Doç. Dr. Dilek AKŞİT  
Balıkesir Üniversitesi  
Üye (Danışman)

Prof. Dr. İzzet KARAHAN  
Balıkesir Üniversitesi  
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi,  
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 07/10 /2020 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK  
Enstitü Müdürü

## BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi **beyan ederim.**

07/10./2020

İmza

Caner EREN

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve çalıőmam boyunca yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın **Doç. Dr. Dilek AKŞİT**'e ve Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'ndaki diğer hocalarım Sayın **Prof. Dr. İzzet KARAHAN** ve **Doç. Dr. őahver Ege HIŐMİOĐULLARI**'na tez çalıőmamda biyokimyasal analizler için yardım aldığım ve laboratuvarını kullandığım Sayın **Doç. Dr. Hasan AKŞİT**'e, histopatolojik incelemelerde yardımcı olan **Dr. Öğretim Üyesi Eren ALTUN**'a, bana her konuda yardımcı olan arkadaşlarım ve kardeşlerim **Araç. Gör. Hasan SUSAR, Dr. Öğr. Murat ÇELEBİ** ve **Dr. Öğr. Çağla ÇELEBİ**'ye teşekkür ederim.

Yaőamım boyunca varlıklarını yanımda hissettiğim, Yüksek Lisans çalıőmam boyunca yaőadıđım tüm zorluklara rağmen bana hayallerimi unutturmayan ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eőim **Saniye EREN**, canım oğlum **Mustafa Mert EREN** ve aileme teşekkürü bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

İÇİNDEKİLER .....	i
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
TABLolar DİZİNİ .....	viii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
2.1. Böbrek.....	4
2.1.1. Rat Böbreğinin Yapısı.....	7
2.1.2. Böbrek Fonksiyonları.....	7
2.2. Nefrotoksisite.....	9
2.2.1. Nefrotoksik Böbrek Hasarı.....	10
2.2.2. Aminoglikozid Nefrotoksisitesi.....	10
2.2.3. Gentamisin Nefrotoksisitesi.....	11
2.2.4. Böbrek Hasarı Tanısında Kullanılan Biyokimyasal Belirteçler.....	12
2.2.4.1. Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFR).....	13
2.2.4.2. Kan Üre Nitrojeni (BUN).....	13
2.2.4.3. Kreatinin.....	13
2.2.4.4. Ürik Asit.....	14
2.2.4.5. Elektrolitler.....	14
2.3. Homeopati.....	15
2.3.1. <i>Tarantula cubensis</i> Ekstraktı (TCE).....	16
2.4. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar.....	18
2.4.1. Malondialdehid (MDA).....	20
2.4.2. Antioksidanlar ve Antioksidan Savunma Sistemleri.....	20
2.4.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	22
2.4.2.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS).....	23
2.5. Apoptozis.....	24

2.5.1. Apoptozisin Mekanizmaları.....	26
2.5.2. Apoptozisi Uyarıcı Faktörler.....	27
2.5.2.1. Bcl-2/Bax Proteinleri.....	28
2.5.3. Apoptozisin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler.....	28
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM .....</b>	<b>31</b>
3.1. Gereç.....	31
3.1.1. Deney Hayvanı Materyali.....	31
3.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	31
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	31
3.2. Yöntem.....	32
3.2.1. Deney Hayvanları ve Uygulama Protokolü.....	32
3.2.2. Serum ve Doku Numunelerin Hazırlanması.....	33
3.2.3. Biyokimyasal Analizler.....	33
3.2.3.1. MDA Analizi.....	33
3.2.3.2. SOD Analizi.....	34
3.2.3.3. TAS Analizi.....	34
3.2.3.4. Lowry Yöntemi Protein Ölçümü.....	35
3.2.3.5. Serum Üre Analizi.....	36
3.2.3.6. Serum Kreatinin Analizi.....	36
3.2.4. Bcl-2 ve Bax'ın Histopatolojik Analiz.....	36
3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	37
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>38</b>
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	38
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	42
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>49</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>54</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>55</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>64</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>65</b>
<b>EK-1.</b> Etik Kurul Onay Belgesi.....	65
<b>EK-2.</b> BAP Proje Kabul Sözleşmesi.....	66

## ÖZET

### DENEYSEL GENTAMİSİN NEFROTOKSİSİTESİ OLUŞTURULAN RATLARDA *Tarantula cubensis* EKSTRAKTININ KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gentamisin, gram (-) bakterilerin yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan aminoglikozid türevi antibiyotiktir. Geniş etki spektrumu ve ekonomik olması sebebiyle kliniklerde sık kullanılır fakat ciddi nefrotoksik yan etkilere neden olmaktadır. Günümüzde *Tarantula cubensis* ekstraktının alkolde çözdürülerek hazırlanmış D6 formu veteriner hekimlikte demarkasyon, rejenerasyon, antiflojistik ve rezorptif etkinliğinden faydalanmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu çalışmada *Tarantula cubensis* ekstraktının Gentamisin ile oluşturulan nefrotoksiste modelinde antioksidan, antiapoptotik, koruyucu ve iyileştirici etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmada ratlar dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 0.5 ml izotonik NaCl periton içi 8 gün, Gentamisin grubuna 100 mg/kg gentamisin periton içi 8 gün, *Tarantula cubensis* ekstraktı grubuna 200 µl/kg/gün *Tarantula cubensis* ekstraktı deri altı 14 gün, Gentamisin + *Tarantula cubensis* ekstraktı grubuna 100 mg/kg gentamisin periton içi 8 gün, 200 µl/kg/gün *Tarantula cubensis* ekstraktı deri altı 14 gün uygulandı. Serumda üre, kreatinin ile böbrek ve serum numunelerinde malondialdehid, süperoksitdismutaz, total antioksidan kapasitesi analizleri; böbrek dokusunda immunohistokimyasal olarak Bcl-2 ve Bax analizleri ile histopatolojik değerlendirmeler yapıldı. Gentamisin uygulaması yapılan grupta kontrol grubuna göre malondialdehid, serum üre ve serum kreatinin seviyelerinde artış; süperoksitdismutaz ve total antioksidan kapasitesinde ise azalma gözlenmiştir. Gentamisin+*Tarantula cubensis* ekstraktı grubunda ise Gentamisin grubuna göre artan parametrelerde azalma, süperoksitdismutaz ve total antioksidan kapasitesi düzeylerinde ise artış gözlendi. Böbrek dokusunun histopatolojik incelenmesinde Gentamisin grubundaki patolojik bozukluklar ve artan apoptozisin *Tarantula cubensis* ekstraktı uygulamasıyla birlikte azaldığı belirlendi. Sonuç olarak çalışmadaki verilerin ışığında *Tarantula cubensis* ekstraktının antioksidan, antiapoptotik, koruyucu ve iyileştirici etkisinin olabileceği ve bu bulguların daha fazla çalışma ile desteklenmesi gerektiği kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, apoptozis, gentamisin, nefrotoksiste, *Tarantula cubensis*.



## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF *Tarantula cubensis* EXTRACT IN RATS WITH EXPERIMENTAL GENTAMICIN NEPHROTOXICITY

Gentamicin is an aminoglycoside-derived antibiotic used in the treatment of infections caused by gram (-) bacteria. Due to its wide spectrum of action and being economical, it is frequently used in clinics, but it causes serious nephrotoxic side effects. Today, D6 form of *Tarantula cubensis* extract prepared by dissolving in alcohol is used in veterinary medicine to benefit from demarcation, regeneration, antiphlogistic and resorptive effects. In this study, we aimed to investigate the antioxidant, antiapoptotic, protective and healing effects of *Tarantula cubensis* extract in the nephrotoxicity model created with Gentamicin.

In the study, rats were divided into four groups. Control group 0.5 ml isotonic NaCl intraperitoneal 8 days, including Gentamicin 100 mg/kg gentamicin intraperitoneally 8 days, *Tarantula cubensis* extract user 200µl/kg/day *Tarantula cubensis* extract subcutaneous 14 days, Gentamicin + *Tarantula cubensis* supplement 100 mg/kg gentamicin intraperitoneal 8 days, 200 µl/kg/day *Tarantula cubensis* extract was applied subcutaneously for 14 days. Analysis of urea, creatinine in serum and malondialdehyde, superoxide dismutase, total antioxidant capacity in kidney and serum samples; Histopathological evaluations were made by immunohistochemically Bcl-2 and Bax analyzes in the kidney tissue. There was an increase in malondialdehyde, serum urea and serum creatinine levels in the gentamicin administration group compared to the control group; A decrease was observed in superoxide dismutase and total antioxidant capacity. In the Gentamicin + *Tarantula cubensis* extract group, there was a decrease in the increasing parameters compared to the Gentamicin group and an increase in the levels of superoxide dismutase and total antioxidant capacity. In the histopathological examination of the kidney tissue, it was determined that the pathological disorders and increased apoptosis in the Gentamicin group decreased with the administration of *Tarantula cubensis* extract. In conclusion, in the light of the data in the study, it was concluded that *Tarantula cubensis* extract may have antioxidant, antiapoptotic, protective and healing effects and these findings should be supported by more studies.

**Keywords:** Antioxidant, apoptosis, gentamicin, nephrotoxicity, *Tarantula cubensis*.

## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

ATN	: Akut Tübüler Nekroz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
ALP	: Alkelen Fosfotaz
ADH	: Anti Diüretik Hormon
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: Disodyum Hidrojen Fosfat
GM	: Gentamisin
GFR	: Glomeruler Filtrasyon Hızı
GBM	: Glomerüler Bazal Membran
GSH	: Glutatyon
GSH-P <sub>x</sub>	: Glutatyon Peroksidaz
GST	: Glutatyon s-Transferaz
BUN	: Kan Üre Nitrojeni
CAT	: Katalaz
MDA	: Malondialdehid
NBT	: Nitrobluetetrazolium
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Potasyum Dihidrojen Fosfat
KCl	: Potasyum Klorür
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Serbest Radikaller
NaCl	: Sodyum Klorür
SOD	: Süperoksit Dismutaz
<i>T.cubensis</i>	: <i>Tarantula cubensis</i>
TCE	: <i>Tarantula cubensis</i> Ekstraktı
TDT	: Terminal Deoksinükleotidil Transferaz

TBA	: Tiyobarbütirik Asit
TAS	: Total Antioksidan Seviyesi
TCAA	: Trikloroasetik Asit
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Böbreğin Anatomisi .....	4
Şekil 2.2. Nefronun Kısımları .....	5
Şekil 2.3. Glomerülün Yapısı .....	6
Şekil 2.4. Glomerülün Hücresel Yapısı .....	7
Şekil 2.5. <i>Tarantula cubensis</i> .....	17
Şekil 2.6. Mitokondrial Solunum Zinciri ve ROS Oluşum Mekanizması .....	19
Şekil 2.7. ROS ile Antioksidanların Dengesi .....	21
Şekil 2.8. Enzim Savunma Mekanizması .....	23
Şekil 2.9. Apoptozis ve Nekrozisin Hücresel Görünümü .....	25
Şekil 2.10. Apoptotik Süreç .....	27
Şekil 4.1. Serum ve Böbrek Dokusunda MDA Seviyeleri.....	38
Şekil 4.2. Serum ve Böbrek Dokusu SOD Seviyeleri.....	39
Şekil 4.3. Serum ve Böbrek Dokusu TAS Seviyeleri.....	40
Şekil 4.4. Tüm Gruplarda Serum Üre Düzeyi.....	41
Şekil 4.5. Tüm Gruplarda Serum Kreatinin Düzeyi.....	41
Şekil 4.6. Gentamisin Grubu Böbrek Dokusu Patolojik Proteinli Döküntüler.....	44
Şekil 4.7. Gentamisin Grubu Böbrek Dokusu Tubulointerstisyel İnflamatuvar İnfiltratlar.....	44
Şekil 4.8. Gentamisin Grubu Böbrek Dokusu Tübüler Nekroz.....	45
Şekil 4.9. Gentamisin Grubu Böbrek Dokusu Medullar Tıkanıklık.....	45
Şekil 4.10. Kontrol Grubu Normal Görünümlü Böbrek Dokusu.....	46
Şekil 4.11. Böbrek Dokularına Ait Bcl-2 Görüntüleri .....	47
Şekil 4.12. Böbrek Dokularına Ait Bax Görüntüleri .....	48

## TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 4.1.</b> Gruplara Ait Serum ve Doku MDA Düzeyleri .....	<b>38</b>
<b>Tablo 4.2.</b> Gruplara Ait Serum ve Doku SOD Düzeyleri .....	<b>39</b>
<b>Tablo 4.3.</b> Gruplara Ait Serum ve Doku TAS Düzeyleri .....	<b>40</b>
<b>Tablo 4.4.</b> Gruplara Ait Serum Üre Düzeyleri .....	<b>40</b>
<b>Tablo 4.5.</b> Gruplara Ait Serum Kreatinin Düzeyleri .....	<b>41</b>
<b>Tablo 4.6.</b> Gruplara Ait Böbrek Dokusu Histopatoloji Sonuçları .....	<b>42</b>

## 1. GİRİŞ

Gentamisin (GM), aminoglikozid türevi olan gram negatif bakteriler üzerine etki eden ve bunların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir (Ali, 1995). Gram negatif bakterilere karşı geniş etki spektrumlu ve ekonomik olması sebebiyle kullanımı yaygındır (Maldonado ve ark., 2003). Ancak, GM oldukça ciddi yan etkisi olan nefrotoksik etkisi klinik olarak kullanımını sınırlandırmaktadır (Seçilmiş ve ark., 2005). Akut renal yetmezliği görülen vakaların %10-20'sinin sebebi GM kaynaklıdır (Erdem ve ark., 2000; Walker ve Shah, 1988). GM tedavisinde bir haftadan daha uzun süreli tedavilerin %30'unda nefrotoksik belirtiler görülebilmektedir (Paterson ve ark., 1998).

GM'nin gastrointestinal sistemden emilimi azdır, fakat kas içi ya da deri altı uygulamalarda hızlı bir şekilde emilimi gerçekleşmektedir. Affinite duyduğu organ olan böbrek korteksi dışında, diğer organ ve dokularda birikmesi oldukça düşüktür. Vücuttan atılması ise tamamen böbreklerden glomerüler filtrasyon yoluyla gerçekleşir (Ali, 1995). GM glomerüler filtrasyon ile filtre olduktan sonra proksimal tübüllerdeki lizozomlarda birikir (Li ve ark., 2008; Mingeot-Leclercq ve Tulkens, 1999). Ortaya çıkan doku hasarları; bazal membran erozyonları, proksimal tübül şişkinliği ve fırçamsı kenar kayıpları, tübüller atrofi veya dilatasyon, intersitisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve bazolateral membran kalıntılarının azalmasıdır (Tulkens, 1989; Volpini ve ark., 2006). Yapılan tetkiklerde GM'ye bağlı oluşan böbrek yetmezliğinin moleküler mekanizması tam olarak açıklanamamıştır, ancak farklı enzim aktivitelerinde değişikliklere sebep olduğu öne sürülmüştür (Seçilmiş ve ark., 2005). Bu mekanizmaların süperoksid anyonların birikimi, lizozomal enzim değişiklikleri ve mikrozomal protein sentezi inhibisyonu ile nefrotoksisiteye neden olabileceği düşünülmektedir (Can ve ark., 2000; Sharma, 2004).

Örümcek zehiri temelde akrep ya da yılan zehirlerine benzerdir ve farmakolojik olarak aktif ve inaktif materyal komplekslerinden oluşmaktadır. Örümcek zehrinin başlıca bileşenleri proteinler, peptitler, polipeptitler, enzimler,

nükleik asitler, serbest amino asitler, poliaminler, biyoaminler, monoaminler, glikoz, inorganik tuzlar ve nörotoksinlerdir (Santos ve ark., 2016).

Homeopatik ilaç yapımında kullanılan *Tarantula cubensis* ekstraktı (TCE) koyu kahverengi, tüylü Küba örümceğidir. Bu örümcekten alınan ekstrakt alkolde seyreltilerek "Theranechron<sup>®</sup>" isminde piyasaya sürülmüştür. Bu ilacın rejenerasyon, antiinflamatuvar, antioksidan etkinliğinin olduğu farklı çalışmalarda kanıtlanmıştır (Karabacak ve ark., 2015; Lotfollahzadeh ve ark., 2012).

Oksidatif stres; oksidan üretimi, antioksidan savunma ve oksidatif hasarın tamiri olarak üç gruptan oluşmaktadır. Oksidan maddelerin üretiminin artması, antioksidan savunma sistemi ve oksidatif hasarın giderilmesinin azalması, serbest radikallerin (ROS) göstergesidir (Kenneth ve ark., 1998). Antioksidan savunma mekanizmaları, ROS'ların zararlı etkilerinden organizmayı koruma görevini üstlenmektedir. Normal sağlıklı organizmada ROS'ların üretimini antioksidan savunma sistemleri karşılayabilecek durumdadır. ROS ile antioksidanlar denge halindedir. Bu dengenin ROS tarafına doğru değişmesi organizmada bazı biyokimyasal değişiklikler meydana getirebilmektedir. Hücrelerin büyük bir kısmı düşük düzeydeki oksidatif stresi tolere edebilmektedir. Bu onarım sistemleri hasarlı molekülleri bulur ve hücreden uzaklaştırır (Gutteridge ve Halliwell, 1990).

Gelişmiş sağlıklı organizmalarda hücrelerin bölünmesiyle artan hücre sayısı hücre ölümleriyle dengede tutulur. Organizmada gereksinim duyulmayan hücreler, hücre içi iletişim sistemlerini aktive ederek ölüm süreci ya da intihar sürecini başlatır. Bu sürece "Apoptozis" ya da "Programlı Hücre Ölümü" denir (Mak, 2003). Bu hücre ölümlerinin tamamı fizyolojik sınırlar içinde meydana gelir ve bu yüzden fizyolojik hücre ölümü olarak adlandırılır (Bellamy ve ark., 1995; Cohen, 1993). Bu hücre ölümleri canlının doğru organ gelişimi ve embriyonik gelişme safhasında gereklidir (Majno ve Joris, 1995). Apoptozis, organizmanın gelişimi, yaşlanma gibi organizmanın dengesini koruyabilmesi için fizyolojik bir gerekliliktir. Buna ilave olarak hastalık veya zararlı ajanlar karşısında organizmada koruyucu mekanizma olarak görev yapmaktadır (Elmore, 2007; Vaux ve Flavell, 2000).

Bu çalışmada deneysel olarak GM ile böbrek toksisitesi oluşturularak TCE'nin oksidatif stres, apoptozis, antioksidan parametreler ile böbrekler üzerinde

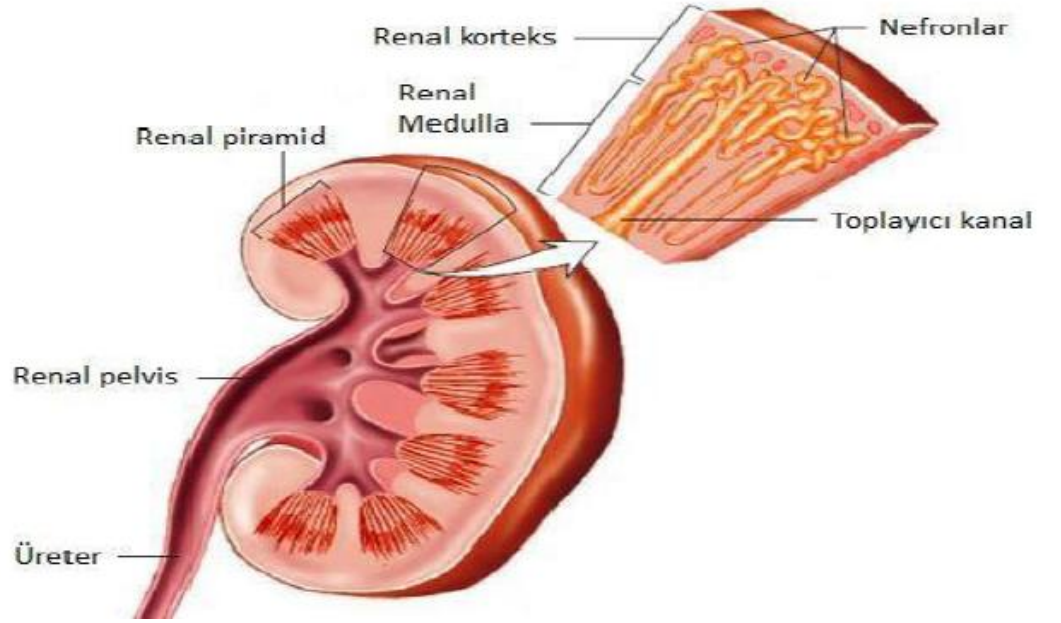
koruyucu etkisinin olup olmadığının biyokimyasal, histopatolojik ve immunokimyasal yöntemlerle belirlenmesi hedeflenmektedir. Böyle bir çalışmanın yapılması ile bu alandaki önemli bir literatürel boşluğun doldurulması amaçlanmaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Böbrek

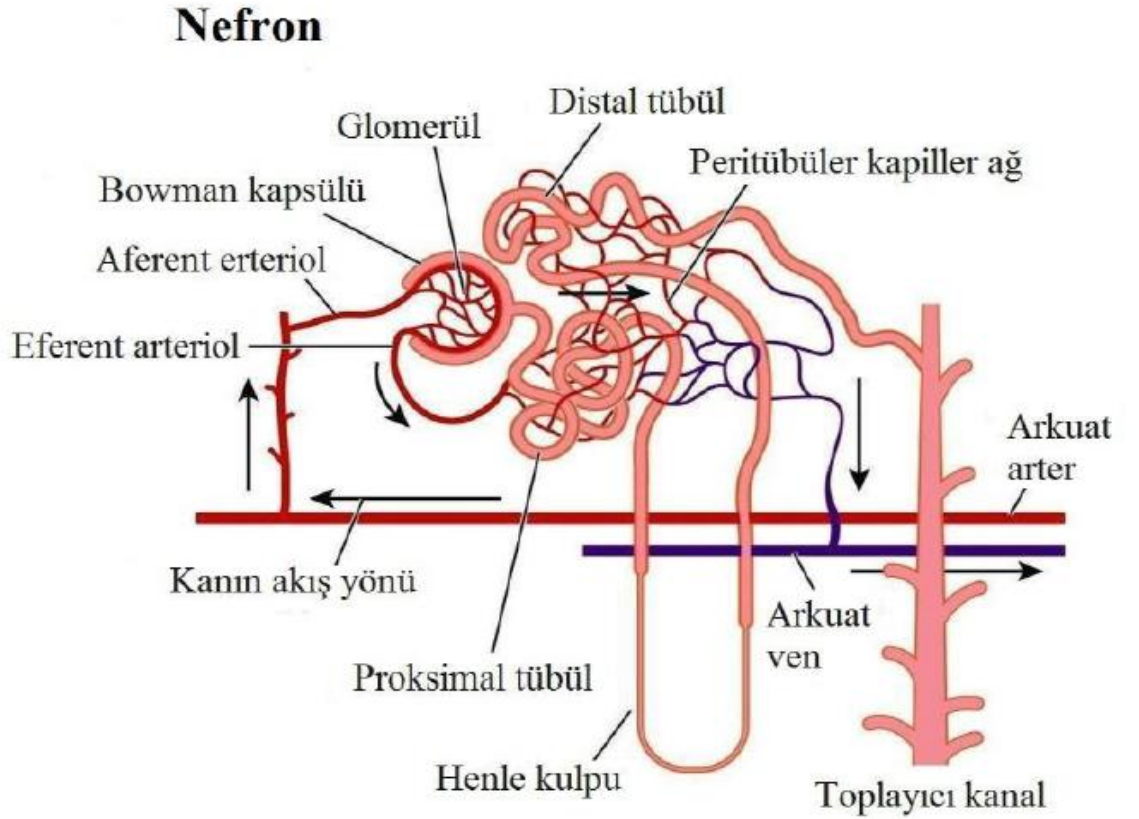
Böbrekler, retroperitoneal alanda T12-L3 vertebra seviyesinde ve sağlı-sollu her iki yanda yerleşmiş, sağlıklı yetişkin bir insanda yaklaşık uzunluğu 12 cm ve 130-150 gr arasında değişebilen bir organdır (David, 2005).



Şekil 2.1. Böbreğin anatomisi (David, 2005).

Her bir böbrek dıştan fibröz tabaka ile sarılıdır. Bu tabakanın altında dıştan içe doğru korteks ve medulla tabakası bulunur. Medulla tabanı kortekse oturan ve uç kısımları (papilla) böbreğin kaliksleri içine uzanan pyramides renalis oluşturur. Piramitlerin arasında renal korteksin uzantısı olan columna renalis yer alır. Böbreğin ortasında sinus renalis adında boşluk bulunur. Bu boşlukta ise 2-3 küçük kaliksin birleşmesinden oluşan major kaliksler bulunur. Major kaliksler birleşerek renal pelvisi oluşturur ve renal pelviste üreterle birleşir. Sinus renaliste ayrıca sinirler ve damarlar bulunmaktadır (Arıncı ve Elhan, 1997; David, 2005).

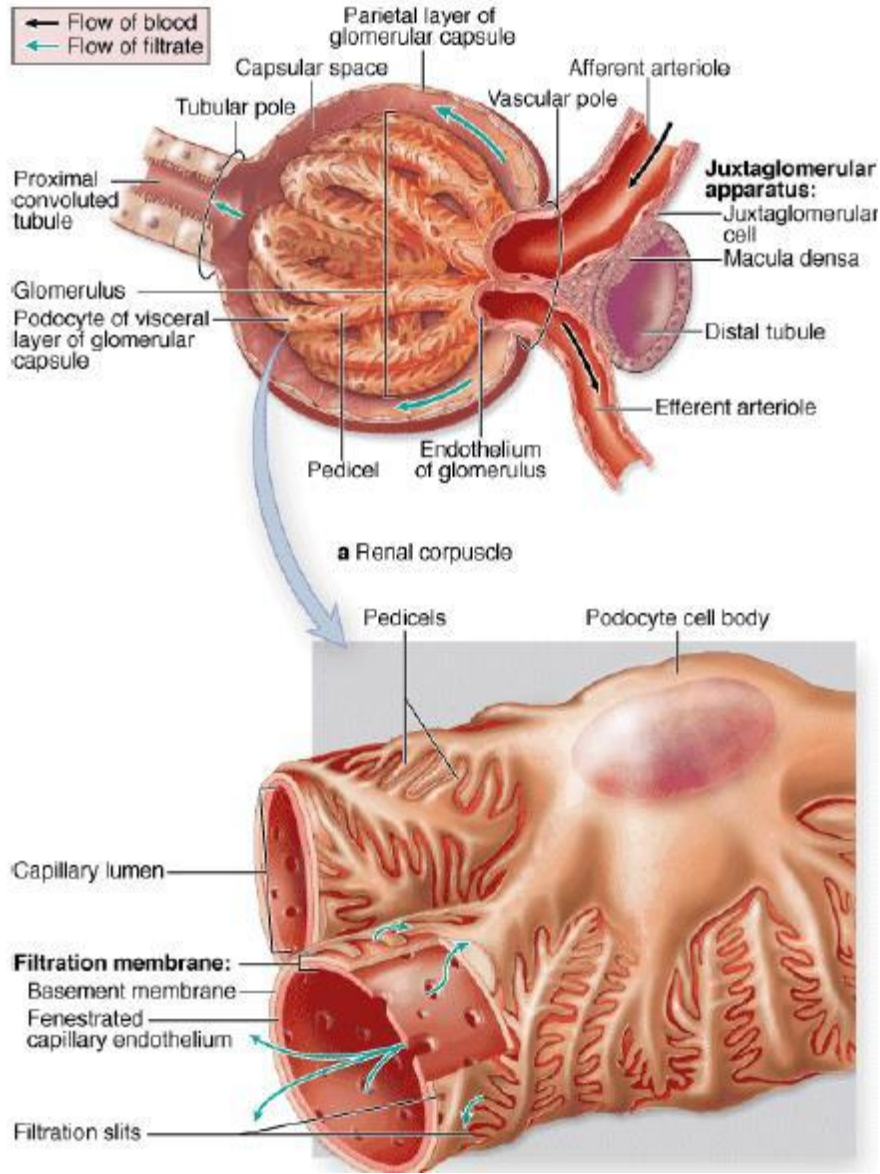
Böbreğin asıl işlev gördüğü birimi nefrondur. Yetişkin bir insanda 1 milyona yakın nefron bulunmaktadır. Nefronlar, epitel hücrelerin bulunduğu tübül şeklinde uzanmış ve boşaltıcı duktus ile birleşip sonlanmaktadır. Her bir nefron glomerül, Bowman kapsülü ve tübüller (proksimal tübül, henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı kanal) olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (Çavuşoğlu, 2015; Etkigenç ve Şenol, 2013; Törüner ve Büyükgönenç, 2013).



**Şekil 2.2.** Nefronun kısımları (Rang ve ark., 1999).

Glomerüller, bowman kapsülünün ortasındaki kılcal ağ damarlarının oluşturduğu yumaktır (Çavuşoğlu, 2015; Etkigenç ve Şenol, 2013; Yıldız ve Halis, 2016). Yarım ay şeklinde olan bowman kapsülüyle çevrili olan glomerül, efferent ve afferent arterioller arasında bulunan damar ağından meydana gelmektedir. Afferent arteriol, yaklaşık elli kapillerden meydana gelmektedir. Efferent arteriol de kanı glomerülden peritübüller kapillere taşımaktadır. Bu damarların meydana getirdiği damar ağından kanı glomerülden peritübüler kapillere taşıyan efferent arteriyol

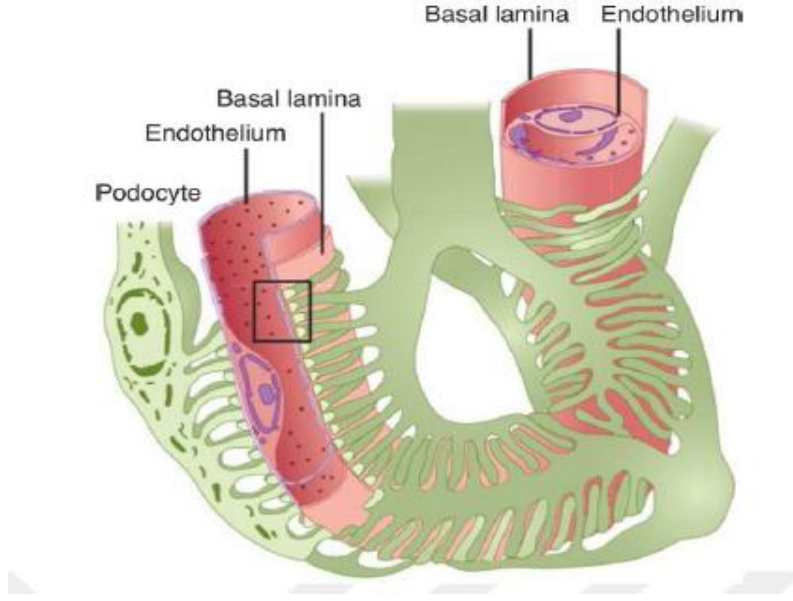
meydana gelir. Efferent arteriyol, glomerülden çıktıktan sonra proksimal (inen) tüp çevresinde zengin bir damar ağı oluşturur (Çavuşoğlu, 2015; Yıldız ve Halis, 2016).



**Şekil 2.3.** Glomerülün yapısı (Junqueira ve Carneiro, 2009).

Bowman kapsülünde filtrat ve kan iki ayrı tabaka ile birbirinden ayrılmaktadır. Bunlar; kapiller endotel ve podosit denilen tübülüs epitelleridir. Bu iki hücre tabakası arasında ise “glomerüler bazal membran” (GBM) yer almaktadır. Endotel hücreleri ile bazal membran arasında ise glomerüller hücresel matriksi ve destek yapısını oluşturan mezenşim hücreleri bulunmaktadır (Rajj ve Keane, 1985). Renal tübül hareketi, bowman kapsülünde başlar ve toplayıcı kanalda son bulur. Renal tübül, nefronun içine doğru ilerlerken proksimal tübülü, Henle kulpunu ve distal tübülü oluşturur. Toplayıcı kanal ise renal piramidin içinden geçer, kalikse

açılan papiller kanallarla birleşir ve toplayıcı kanallar aracılığı ile böbrek pelvisine boşalır (Çavuşoğlu, 2015).



**Şekil 2.4.** Glomerülün hücresel yapısı (Ganong, 1985).

### 2.1.1. Rat Böbreğinin Yapısı

Ratlarda da insanlardaki gibi bir çift (sağlı-sollu) böbrek vardır. Dorsal karın bölgesinin retroperitoneal kısmında bulunurlar. Sol taraftaki böbrek sağ taraftaki böbrekten biraz daha arkada bulunup, böbrekler tek papillalıdır ve fibröz yapıda bir kapsula ile sarılmış şekilde yağ dokusunda gömülü şekildedir. Renal korteks içinde, glomerüller ve kortikal labirentler denilen medulla içine kadar uzanmış kıvrımlı yapılar vardır. Glomerüller, bowman kapsülü ile sarılmıştır. Medulla bölümü ise medullar radiuslar ve en altta papilladan oluşur. Bu bölgede üst, orta, alt ve toplayıcı kanallar bulunur. Papillar kanallar pelvis renalise, sonrada üreterlere açılır. Ratlarda renal besleyici damarlarının organa giriş ve dallanma şekli diğer memeli türlerine benzemektedir (Soylu, 2012).

### 2.1.2. Böbrek Fonksiyonları

Böbrekler, vücutta homeostazisi ayarlayan (asit-baz ve sıvı-elektrolit dengesi) ve metabolik atıkları dışarı atan organlardır. Böbreklerin fonksiyonları; organizmada homeostazisin devam ettirilmesini sağlamak, sıvı ve elektrolit dengesinin sağlamak,

metabolizma sonucu oluşan artıkların (üre, ürik asit, kreatinin) atılması, ilaçlar, toksinler ve metabolitlerin detoksifikasyonu ve atılması, hormonal kan basıncının ve hücre dışı sıvı hacminin düzenlenmesi, eritropoetin, D vitamini gibi hormonların sentezine ve metabolizmasına destek sağlamak, insülin, glukagon gibi peptit hormonların yıkımlanması,  $\beta$ 2-mikroglobulin ve benzeri küçük molekül ağırlıklı proteinlerin yıkımı, glukoneogenez, lipid metabolizmasına metabolik etkiler sağlamak gibi önemli görevleri bulunmaktadır (Akpolat ve ark., 1996).

Böbreklerin hayati öneme sahip olan işlevlerden biri elimine olan toksik ajanların vücuttan uzaklaştırılmasıdır. Böbreklerde atılım görevi glomeruluslar ile olmaktadır. Bunların vasıtasıyla tübüler lümeninden, plazmanın filtre edilmesiyle suda eriyen maddelerin kana geçişi ve madde taşınması tübüler hücrelerden lümenine doğru olmaktadır (David, 2005).

İdrar, hafif asidik, steril, karakteristik kokusu olan açık sarı renkte bir sıvıdır. İçinde hücre parçalarının yanı sıra çözülmüş organik ve inorganik bileşikler bulunur. Ayrıca kristaller, proteinli atıklar ve üriner sistem hücreleri de bulunabilmektedir. Farklı tubulus bölgeleri farklı işlemler yapmak için değişimlere uğramıştır. Glomeruluslarda filtrasyona uğrayan glikozun hepsi ve birçok amino asit burada reabsorpsiyona uğrar. Normal idrarda glikoz bulunmaz. Sebebi ise filtre edilen glikozun hepsi tekrar reabsorpsiyonla geri emilmesidir. Henle kulplarında klor iyonu ve daha fazla su içermeyen sodyum iyonu geri emilerek dilue idrar şekillenir. Antidiüretik hormon (ADH) yani vazopressin tarafından suyun reabsorpsiyonu distal tubuluslarda ve toplayıcı kanallarda ayarlanır (David, 2005; Guyton ve Hall, 2001).

Plazma elektrolitlerinin dengesi ve plazma asit-baz seviyelerinin ayarlanması distal tubuluslar olan nefronun işlev kazanmış en aktif bölgesinde olmaktadır. Bu bölgede absorpsiyon ve reabsorpsiyon işlemleri sodyum, potasyum ve hidrojen iyonlarının arasında gerçekleşmektedir. Tüm bunların asıl sebebi plazmadaki bikarbonat iyonunun seviyesinin düşürülmesi ve kan-plazma pH'sının normal sınırlar içinde tutulmasıdır (Guyton ve Hall, 2001; Mazzon ve ark., 2001). Tubulusdaki sıvının içeriğinde bulunan suyun yaklaşık %70'i proksimal tubulda, %5'i Henle kulpunda, %10'u distal tubulda, geriye kalan kısım ise toplayıcı kanallardan geri emilir (David, 2005; Ricos ve ark., 1994).

Proteinlerin yıkımlanmasıyla artık ürün olarak açığa çıkan üre, kreatinin ve ürik asit böbrekler aracılığıyla organizmadan atılır. Kan üre-nitrojeni (BUN) düzeylerindeki artış, karaciğerde aşırı miktarda protein parçalanmasına bağlı olarak kan-plazma üre seviyesinin artışı ile gerçekleşmektedir. Oluşan ürenin proksimal tubuluslardan yarısına yakın kısmı reabsorbe edilmektedir. Çizgili kaslardan, non-enzimatik dehidrasyon vasıtasıyla kreatinden kreatinin meydana gelmektedir. Kreatinin glomerulustan çok kolay geçebilmektedir ve kreatinin klirensi glomeruler filtrasyon hızı (GFR) hesabında tubuluslardan reabsorbe edilmediğinden kullanılmaktadır (Guyton ve Hall, 2001).

## **2.2. Nefrotoksisite**

Nefrotoksisite; “akut glomeruler nefritis”, “interstisyel nefritis” “nefrotoksik renal yetmezlik”, gibi farklı isimlerle tanınmaktadır (Pfaller ve Gstraunthaler, 1998). Böbrekler kimyasalların ve toksik maddelerin neden olduğu etkilere en fazla maruz kalan organlardan biridir. Ayrıca salgılama, yeniden emilim ve idrarın oluşum mekanizması gibi fonksiyonlarından dolayı, böbrek tubulus hücrelerinin organizmadaki diğer doku ve hücrelere oranla daha fazla oranda toksik yoğunluklarla karşı karşıya kalmaktadır. Bu nedenle böbrekler diğer organlara oranla toksik maddelerden etkilenmeleri daha fazladır. İlaç toksisitesi nedeniyle tedavi edilen hastaların %20’sinden fazlasında, akut böbrek hasarı şekillendiği bildirilmiştir (Anderson ve Barry, 2004).

Tubuler nekroz, nefrotoksisite varlığında ortaya çıkar ve akut tübüler nekroz (ATN) olarak tanımlanmaktadır. Nefrotoksisite sırasında oluşan değişimler, kimyasal ajanların renal kortekste birikmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Mıstık, 2000).

Proksimal nefronun epitelyum hücreleri, birçok taşıyıcı mekanizma barındırmaları nedeniyle çok sayıda toksik madde için ana hedef halinde olabilirler. Ancak bu dokularda bulunan glutatyon (GSH) ve GSH ilişkili enzimlerin varlığı oksidatif hasara karşı korunmaya yöneliktir ve bu enzimlerin intrasellüler yoğunlukları çok fazladır. Medullar kısımlara kıyasla proksimal tubulusun oksidatif

hasara karşı dayanıklı olması, GSH ve GSH ile ilgili enzim varlığının yüksek seviyelerde olmasına bağlı olduğu belirtilmektedir (Parlakpınar ve ark., 2013).

Nefrotoksisite oluşumunda asıl etmenin, renal dokunun toksik ajanlara yeterli süre ve dozda maruz kalması olduğu bildirilmektedir (Lameire ve ark., 2005).

### **2.2.1. Nefrotoksik Böbrek Hasarı**

Nefrotoksisite, akut böbrek hasarına sebep olan en önemli nedenlerden sadece biridir. Böbrekler filtrasyon ve normal görevlerini sürdürebilmek için sistemik kan dolaşımından, diğer organlara göre daha fazla kan akımına maruz kalmaktadırlar. Bu nedenle böbrekteki yapılar (kan damarları, tubuluslar, glomerulus ve intertisyel dokulardaki hücreler) kanda bulunan toksik ajanlarla daha fazla karşılaşmaktadır. Nefronda meydana gelen su ve çözülmüş madde geri emilimi ile herhangi bir hasara karşı aşırı hassas olan tubul epitel hücreleri, yüksek seviyedeki toksik ajanlara maruz kalmaktadırlar (Ferguson ve ark., 2008).

İlaç kullanımına bağlı olarak son günlerde akut böbrek hasarı aşırı artış göstererek morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır (Patzer, 2008). Farklı kaynaklara göre kimyasal ajanların çoğunun nefrotoksisiteye neden olduğu kanıtlanmıştır. Başta yaşlı bireylerde görülen nefrotoksik hastalıkların kaynağının %60'lık kısmının ilaçlar olduğu bildirilmiştir. Geçmiş yıllara kıyasla günümüzde ilaç kullanımı yaygınlaşarak artmış ve bu sebeple çok daha fazla bireyde böbrek fonksiyon bozuklukları görülmüştür. İlaçlar, akut böbrek yetmezliği, kronik böbrek yetmezliği ve nefrotik sendromlara yol açabilmektedir (Parlakpınar ve ark., 2013).

### **2.2.2. Aminoglikozid Nefrotoksisitesi**

Aminoglikozidler, ortalama pH'sı 7.8 olan katyonik moleküllerdir. Yağda az çözümleri polar yapılarından dolayı kaynaklanmaktadır. Bu yüzden biyolojik zarlara çok az geçerler. Plazma proteinlerine çok az bağlanmaktadır. Yetişkin bireylerde elimine edilme süresi yaklaşık olarak 2 saattir ve hızlı bir şekilde böbreklerden herhangi bir değişime uğramadan vücuttan uzaklaştırılırlar (Bennet, 1986).

Gram (-) bakteri kaynaklı enfeksiyonlarda etkin bir şekilde kullanılan aminoglikozitlerin güvenli kullanım aralığı dardır. Aminoglikozid kullanımını engelleyen en büyük sebep toksik ve özellikle nefrotoksisite, ototoksisite ve nöromusküler blokaja neden olmalarıdır. Bu etkilerin varlığı doza bağımlı olarak ortaya çıkmaktadır (Kayaalp, 2009). Aminoglikozid kaynaklı nefrotoksisite bulguları çoğunlukla reversibldır. Ancak bunun yanında ototoksisite (işitme ya da denge organı üzerine olan bozukluklar) bulguları irreversibl olarak görülmektedir (Dökmeci, 2000).

Aminoglikozid kaynaklı nefrotoksisite bulguları klinik olarak yavaş gelişir. Aminoglikozidler kullanımından birkaç gün sonra serum kreatininde yavaş bir artış ile nonoligürik ve hipoozmolar idrar oluşmaktadır. Bulguların erken tanısında nefrojenik diabete bağlı izostenüri, idrarda bileşiminde magnezyum, sodyum ve potasyum eksiklikleri tespit edilmektedir (Edelstein ve Schrier, 2003).

Aminoglikozidlerin uygulama süresi ve dozu, geçmişte bilinen karaciğer ya da böbrek hastalığı, potasyum ve magnezyum azlığı, sıvı kaybı, yaş, çeşitli organ yetmezlikleri gibi sebepler aminoglikozidlerin neden olduğu toksisite ihtimalini artırmaktadır. Böbrek yetmezliği, uzun süreli aminoglikozidlerin kullanımına bağlı olarak ilacın böbreğin korteks kısmında toksik miktarlarda birikmesinden kaynaklanmaktadır (Koç ve ark., 2006; Parlakpınar ve ark., 2013).

Aminoglikozidlerin oluşturduğu nefrotoksisitenin ATN şeklinde meydana geldiği gösterilmiştir. Oluşan bu hasarın etkisi proksimal tubullerde görülmektedir (Barclay ve ark., 1994; Deamer ve Dial, 1996).

### **2.2.3. Gentamisin Nefrotoksisitesi**

GM, aminoglikozid grubunda yer alan ve geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Bu grup içinde, amikasinin sonra en fazla antibakteriyel etki gücüne sahip ve spektrum olarak en geniş olan antibiyotiktir. GM'nin kimyasal özelliğinden kaynaklı büyük çoğunluğu ekstrasellüler sıvıda bulunmaktadır ki bunun sebebi plazma proteinlerine bağlanma oranının çok düşük olmasındandır (Kayaalp, 2009).



GM organizmada herhangi bir değişikliğe uğramadan direkt olarak böbreklerden atılır ve bu sebepten dolayı serumdaki yoğunluğundan 10 ila 100 kez fazla yoğunlukta idrarda bulunur (Mycek ve Howland, 2004).

GM kullanılarak tedavi edilen hastaların tedavi sürecinin bir haftadan daha uzun sürmesi sonucu hastaların %30'luk kısmında BUN, proksimal tubulus hücrelerinde nekrozlar, kan-serum kreatininde artış ve akut böbrek hasarı ile kendini gösteren nefrotoksisite belirtileri izlenmiştir (Kaya, 2010).

GM'nin sebep olduğu nefrotoksisitede birçok mekanizmanın rol aldığı bildirilmektedir. Bunlar arasında renal tubuluslardaki toksik etkiler, GFR ve böbreklerdeki kan akım hızında azalma olarak sıralanabilir. Fakat bunlar arasında en önemli olan renal tubuluslardaki toksisitedir (Wargo ve Edwards, 2014). Renal tubuluslardaki toksisitenin oksidatif stres artışıyla bağlantılı olduğu bildirilmektedir (Walker ve ark., 1999).

#### **2.2.4. Böbrek Hasarı Tanısında Kullanılan Biyokimyasal Belirteçler**

Hücrelere çok ciddi etki yapan ve son derece toksik madde olan amonyak proteinlerin yıkımlanması sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu amonyak karaciğerde üre haline getirilir. Organizmada bunun gibi toksik maddeler idrar ile uzaklaştırılır (Thadhani ve ark., 1996). Böbreklerin herhangi bir hasarı söz konusu olması durumunda organizmanın nitrojen metabolizmasının son ürünleri birikmektedir. Böbreklerdeki hasarı tespit etmek için idrar ve kanda çeşitli analizler yapılmaktadır. İdrar tahlili bize böbreklerin yoğunlaştırma yeteneği, idrarda proteinin varlığı hakkında bilgi verir iken kan tahlili filtrasyon hızına bakarak böbrek fonksiyonları hakkında tahminlerde bulunmayı sağlamaktadır (Maden ve Köse, 2015).

Böbrek fonksiyonlarının belirlenmesinde BUN, üre ve kreatinin seviyelerine de ihtiyaç duyulabilmektedir. Bahsi geçen analizlerin idrar ve serumdaki ölçümleri klinik tablo göstermeyen bozuklukların da açığa çıkarılmasında faydalı olmaktadır. GFR'deki düşüşün nedenleri arasında asit-baz dengesi ve elektrolit kaybı olabilir ve bunlarla ilgili gerekli ölçümlere ihtiyaç duyulabilir (Yüzkollar Süzülmüş, 2018).

#### **2.2.4.1. Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFR)**

GFR böbrek hasarını belirlemede en etkili ve en işe yarar belirteçler arasındadır. GFR bize her bir böbrekteki fonksiyonel nefron sayısını verir. Nefronun filtrasyon hızındaki düşme ya da herhangi sebeple fonksiyon dışı kalması GFR'nin düşmesine neden olur (Yüzkollar Süzölmüş, 2018).

#### **2.2.4.2. Kan Üre Nitrojeni (BUN)**

Karaciğerde üretilen protein metabolizması soncunda oluşan ve glomerulustan rahatça filtrasyona uğrayan atık üründür. Böbrek fonksiyon testlerini değerlendirmede önemli bir göstergedir. En önemlisi akut böbrek yetmezliği gibi ciddi renal hastalıklarda ve diyaliz vakalarının takibinde sıkça kullanılır. BUN seviyesi karaciğer ve böbreklerin ne kadar sağlıklı olduğunun göstergesi olarak kabul edilir. Bu organlar için önemli bilgiler sunar ve kandaki atık ürün olan üre-nitrojen miktarını ölçer (Arınsoy ve ark., 2017).

BUN; prerenal (aşırı üretim, azalmış kan akımı), renal (parankimal böbrek hasarı) ve postrenal (üriner sistem obstrüksiyonları) nedenlere bağlı olarak değişmektedir. BUN, açlık veya aşırı doku hasarıyla beraber asıl önemli olan renal fonksiyon kaybında normal seviyelerinin üzerine çıktığı yapılan araştırmalarda belirlenmiştir. BUN yüksek seviyelerde ise böbrekler ile ilgili bir soruna işaret etmektedir. BUN düşük seviyelerde ise karaciğer ile ilgili bir probleme işaretler. Ancak bu değer karaciğer rahatsızlıkları için kesin tanı değeri taşımaz (Corbett, 2008).

#### **2.2.4.3. Kreatinin**

Çizgili kaslarda enerjiden sorumlu olan kreatin fosfat metabolizması sonucu ortaya çıkar ve kan-plazma düzeyleri sürekli dengeli durumdadır (Yuegang ve Chengjun, 2008). Böbrek hasarlarının tespitinde yaygın olarak kullanılan belirteçler arasındadır (Corbett, 2008).

Kreatinin klirens testi böbrek yetmezliğinin saptanması, derecesi ve seyrinin izlenmesi ile tedavisinde kullanılan ilaçların doz ayarlamasında en sık kullanılan yöntemdir (Akpolat ve ark., 1996).

#### **2.2.4.4. Ürik Asit**

Pürinlerin yıkımlanması sonucu son ürün olarak ortaya çıkmaktadır. Ürik asitlerin çok büyük kısmı nükleik asit yıkımından kaynaklanmaktadır. Vücuttan atılmasının büyük bir kısmı idrarla beraber böbreklerle olur. Çok az kısmı ise bakteriyel ürikoliz ile barsaklardan olur. Ürik asidin kan-plazma proteinlerine bağlanması çok azdır. Plazmadaki üratın yaklaşık olarak %95'lik kısmı glomerüllerden serbestçe fitre edilebilir. Filtrasyona uğrayan kısmının tamamına yakını da reabsorbsiyona uğrar ve filtre edilen üratın %10'luk kadar kısmı idrarla atılır. Bu yüzden glomerüler filtrasyon, tübüler sekresyon ve absorbsiyon yeteneklerinde ürat klirensi bir belirteç olarak kullanılmaktadır (Ruilope ve ark., 1989).

#### **2.2.4.5. Elektrolitler**

Elektrolitler, asit-baz dengesizliğini belirlemek ve seçilen tedavi yönteminin organ fonksiyonuna olan etkisini izlemekte kullanılmaktadır. Elektrolitler için test, renal endokrin, asit baz, su dengesi ve diğer birçok durumun teşhis ve yönetimi için potasyum klorür ve sodyum bikarbonatın ölçümünü içerir (James ve Mitchel, 2006).

Potasyum, hücre içi sıvının temel iyonudur. Vücuttaki K kaynakları; besinlerin yıkımı ile dokuların ve eritrositlerin parçalanması sonucu açığa çıkan potasyumdur. İntrasellüler alanda normal sıvı ve elektrolit dağılımının sürdürülmesine yardım eder. Sinir impulslarının iletiminde ve kas aktivitesinde görev alır (Çavuşoğlu, 2015; Özelsancak, 2016). Böbrekler doğal bir K iyon düzenleyicisidirler ve K genellikle böbrekler vasıtasıyla idrarla atılır. Bu K atılımı insülin ve aldosteron ile ayarlanmaktadır. Her iki hormon hücre içi K salınımına etki eder (Guyton ve Hall, 2001).

Sodyum, hücre duvarından çok kolay geçebilen Na hücre dışı sıvının temel ve en fazla bulunan katyonudur. Hücre dışı sıvının osmotik basıncının ayarlanmasında temel iyon iken vücut-sıvı hacminin belirlenmesinde görevlidir. Yani organizmanın su dağılımının ayarlanmasında görev alır. Ayrıca Na, kas hücrelerinin elektrik potansiyeli ile hücre membran geçirgenliğinin ayarlanmasında da önemlidir. (Akdemir ve Birol, 2005; Guyton ve Hall, 2001).

Elektrolit değerleri arasında vücudun sıvı dengesinin düzenlenmesi sadece Na ile olmaktadır (Curley ve Harmon, 2001; Çavuşoğlu, 2015).

Böbreklerde aktif olarak Na emilimi gerçekleşmektedir. Böbreklerde başta aldosteron ve ADH etkisi altında böbrek fonksiyonlarını düzenler ve bu sebeple Na dengelenir. Serum Na düzeyi düştüğünde aldosteron, böbreklerden Na'un reabsorpsiyonunu düzenler, ADH böbreklerden su emilimini uyarır. Tutulan sıvı ekstrasellüler alanda Na'u normal yoğunluğa getirir (Guyton ve Hall, 2001; Çavuşoğlu, 2015).

### **2.3. Homeopati**

Homeopati; benzerlik kuralı, yaşam gücü kuralı, tek ilaç kuralı ve minimum doz kuralı adı altında 4 temel kural üzerinde oluşturulmuştur (Pekmezci ve Gültiken, 2015).

Homeopatik tedavinin kurucuları arasında olan Samuel Hahnemann (1755-1843) sıtma hastalığında kullanılan “kinin” maddesini incelemiştir. Bu inceleme sonucunda “kinin” etken maddesinin sıtma hastalarında semptomların düzeldiği ancak sağlıklı normal bireylerde ateş ve titreme gibi sıtma hastalığının semptomlarına neden olduğunu belirlemiştir. Bu etkilere dayanarak benzeri benzerle tedavi etme şeklinden yola çıkarak kinin maddesinin hastalarda işe yaradığı sağlıklı kişilerde ise hastalık oluşturduğunu belirlemiştir. Böylece homeopatik tedavinin temelleri de atılmıştır (İlhan, 2018).

Homeopati tamamen anamneze göre tanı ya da tedavi için zararsız ve doğal yöntemler kullanılan tedavi sistemidir. Kronikleşmiş ya da modern tıbbın tanı ve

tedavide yetersiz kaldığı durumlarda başarılı geri dönüşler alınan tedavi modelidir. Bu tedavi şeklinde organizmadaki dengenin yeniden kurulması için kişiye özel karışımlar (ajanlar), genellikle tek doz şeklinde uygulanır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafında da kabul edilen en yaygın tamamlayıcı ve alternatif yöntemdir. Homeopatik tedavide kullanılan karışımlar bitkilerden, metallere, hayvan salgılarından veya enfeksiyon geçirmiş kişilerden elde edilir. Akut hastalık durumunda semptomları gidermenin yanında asıl amaç en düşük tek doz ilacın uygulanması ve nüks olayının tekrar etmemesidir. Bu tedavide asıl eleştirilen nokta özel hazırlanan maddelerdeki etken madde yoğunluğudur. Bazı bilim insanları etken maddenin çok fazla dilüe edilmesi ile o maddenin bilimsel anlamda kaybolduğunu idda etmektedirler. Homeopatik tedavi prensibine göre ise de o maddenin enerjisi, öğretisi, iyileştirici gücünün bulunmasıdır. Bu sebepten dolayıdır ki henüz belirlenmiş hiçbir yan etkisi bulunmamaktadır. Etken madde ne kadar fazla dilüe edilirse etki gücü de o kadar arttığı düşünülmektedir (Başar, 2014).

Homeopatik tedavi modern tıba göre daha az bilinen ve yeni yöntemler geliştirilmeye açık bir alandır. Modern tıba alternatif bir sistemdir (İlhan, 2018).

### **2.3.1. *Tarantula cubensis* Eksrakıtı (TCE)**

*Tarantula cubensis*, Mygale cinsi örümcek türüdür. Şekil 2.5’de görüldüğü gibi fare büyüklüğünde kıllı bir örümcektir. *Loxosceles* cinsinin örümceklerinin venomları ciddi araknoidizme, böbrek yetmezliği, şiddetli intravasküler pıhtılaşma, trombositopeni, koma ve konvülsiyonlar da dahil olmak üzere tehlikeli bir sistemik reaksiyona neden olur (Hatipoğlu, 1996).



**Şekil 2.5.** *Tarantula cubensis* (Anonim, 2020).

*Tarantula cubensis* örümceğinin zehri bazı canlılarda paralis yapmakta ve öldürücü boyutlarda etkileri olabilmektedir. TCE'nin laboratuvar şartlarında alkol ile dilüe (genellikle 6 kez saflaştırma-D6) edilerek hazırlanmış ticari formu “Theranechron<sup>®</sup>” veteriner sahada bir çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Dolapçioğlu ve ark., 2013).

TCE'nin etkinliği sulandırılma dereceleri ile ifade edilmektedir. Onluk sistem sulandırmalar, 1:10 oranında yapılan sulandırmalar şeklindedir. Bu sistemde; 1 kısım ana maddeden alınıp 9 kısım sulandırma sıvısına eklenirse D1 kuvveti elde edilir. D1'den 1 kısım alınıp, 9 kısım sulandırma sıvısına ilave edilirse D2 seyreltiği hazırlanmış olur ve sulandırmalar bu şekilde sürdürülür. Homeopatiklerin bu seyreltimleri D1, D2, D3, .... olarak adlandırılmaktadır (Dündar ve Aslan, 1999; Hatipoğlu, 1996).

TCE'nin patolojik ve normal hücreleri birbirinden ayırmasında dolayı belli hastalıkları tedavi etmede tercih edilmektedir. Çok hızlı rejenerasyon özelliğinden dolayı immun sistemi aktive ettiği düşünülmektedir (Dolapçioğlu ve ark., 2013). Çiftlik hayvanlarında yapılan bir araştırmada TCE'nin yara iyileşmesi ve kapanmasında etkili olduğu ve süreci hızlandırdığı ispatlanmıştır (Sardari ve ark., 2007). Yine ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada aflatoksin ile karaciğer hasarı oluşturulan ratların TCE ile antioksidan savunma sistemini aktive ederek aflatoksinin etkilerini azaltabileceği ve karaciğer hasarının giderilebileceği kanıtlanmıştır (Karabacak ve ark., 2015).

TCE uygulamasının oksidatif stres, hemogram, rutin biyokimyasal parametreler, sitokinler ve akut faz proteinleri üzerine etkisinin olmadığı belirlenirken, miyokardiyal iskemi ve hipoksiye sebep olabileceği ve bu nedenle EKG’de değişimlerin gözlenebileceği belirtilmiştir (Gönül ve ark., 2015; Çorum ve ark., 2016; Dik ve ark., 2014). Ayrıca TCE uygulaması sonrasında hematokrit, hemoglobin, alyuvar sayısı, total protein, glikoz, kolesterol, kan üre nitrojen, kreatinin, bilirubin, ALT ve ALP düzeylerinde artışlara neden olabileceği ifade edilirken, klinik kullanımda herhangi bir yan etkiye sahip olmadığı bildirilmiştir (Sardari ve ark., 2014).

TCE’nin 4 ana özelliği vardır. Bunlar;

1. Demarkasyon, hasar almış bölgede her türlü canlı ve ölü hücresel elementlerin birbirinden ayrılması, ölü yabancı, patolojik dokuların vücuttan atılmasıdır.

2. Rejenerasyon, iyileşmesi gereken tüm dokularda ya da atılan ölü dokularda hızlı bir şekilde iyileşme ve canlanma görülmesidir.

3. Rezorpsiyon, dokulardaki iyileşmeyi hızlandırmak için buralarda biriken ödem, şişlik ve apseleri elimine etmektedir.

4. Antiflojistik, ciddi inflamasyon oluşumunu engelleyerek yangılı dokuların normal haline dönmesine katkı sağlanmasıdır. Bu özelliği sayesinde yangı oluşumu engellenir ve bundan kaynaklı semptomlar engellenir (Çaycı, 2006).

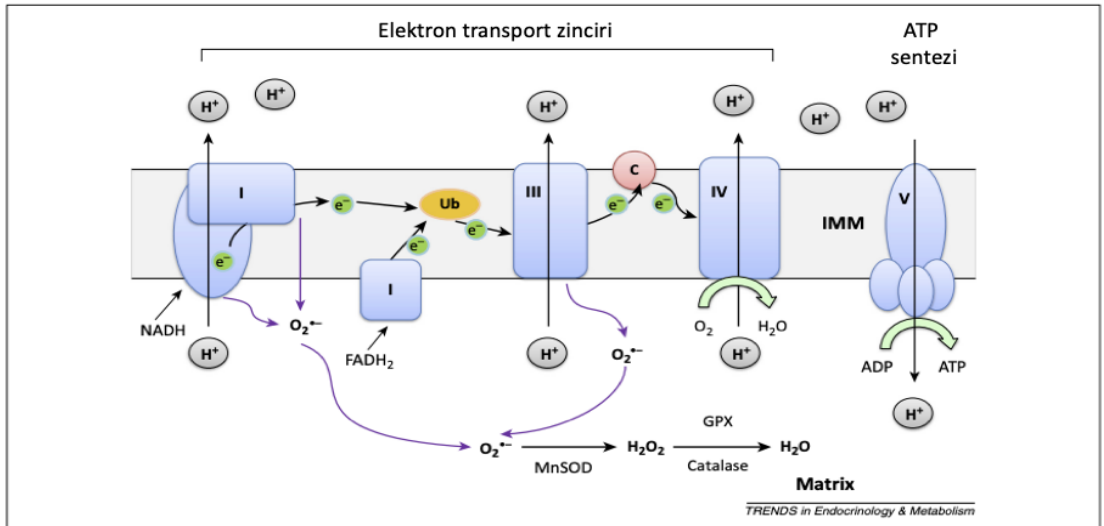
#### **2.4. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar**

ROS’lar organizmanın fizyolojisinin gereği olan aktiviteler sonucu ortaya çıkan ürünlerdir (Dündar ve Aslan, 1999). Bunlar reaktif molekül olmasının yanında son derece dayanıksızdırlar. Oksidatif stresi yani hasarı hücredeki diğer moleküller ile ROS elektronları etkileşime girerek oluştururlar. Bu ROS hücrenin normal metabolizması sırasında oluşabileceği gibi farklı dış etmenler aracılığıyla da oluşabilmektedir (Kopani ve ark., 2006). Oksidatif stres, oksidan maddeler ile

antioksidan maddeler arasındaki dengenin oksidanlar tarafına doğru bozulması olarak da tanımlanabilir. Yani vücuttaki toplam antioksidan düzeyinin oluşan prooksidan maddeleri karşılayamayacak düzeyde olmasıdır (Puppel ve ark., 2015).

ROS nükleik asit, lipid ve protein gibi hücrenin temel komponentlerinde herhangi bir hasara yol açabilmektedirler. Bu hasarların sonucunda bir çok farklı hastalığın nedeni olduğu ve biyolojik yaşlanmada rol aldığı araştırmalarda kanıtlanmıştır (Kopani ve ark., 2006).

Oksidatif strese karşı organizma enzimatik ve/veya enzimatik olmayan antioksidanlar ile karşı koymaya çalışır. Bunlar katalaz, GSH döngüsü, süperoksit dismutaz (SOD)'dır. Doğal antioksidanlar olarak isimlendirilir (Chow, 1991).



**Şekil 2.6.** Mitokondrial solunum zinciri ve ROS oluşum mekanizması

(Emma ve Bennett, 2014).

Organizmada en çok ROS'ların oluştuğu zaman hücresel solunumun gerçekleştiği (Şekil 2.6.) elektron taşınması sırasında olduğu bildirilmiştir. Serbest oksijen radikallerinde temel olan oksijenin kendisi, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit, süperoksiddir (Akkuş, 1995).



### **2.4.1. Malondialdehid (MDA)**

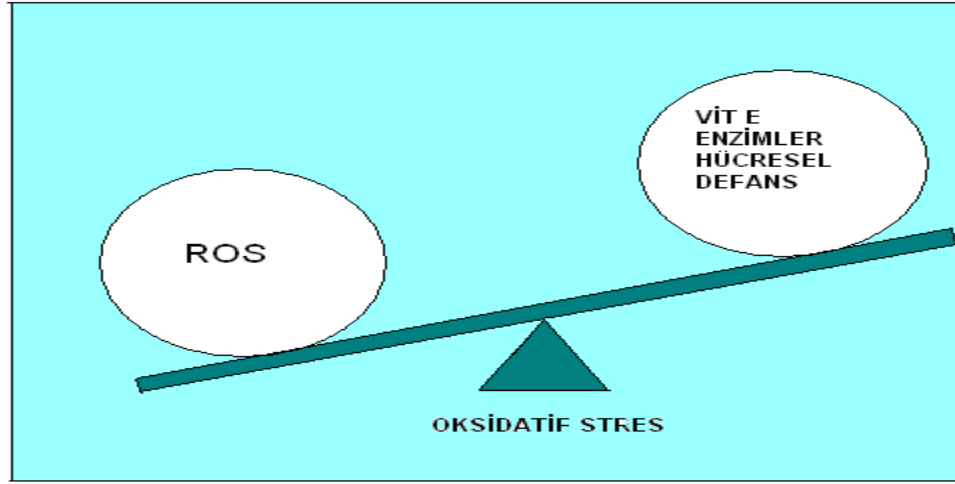
Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelir. MDA, yaygın olarak oksidatif stres ölçümünde kullanılmaktadır. Hem idrarda hem de kanda tespiti yapılabilmektedir. Yağ asitlerinin oksidasyonunda özel bir gösterge olmamasına istinaden lipit peroksidasyonu derecesiyle iyi bir korrelasyon göstermektedir. Bu sebeple MDA'nın tespiti lipit peroksit düzeylerinin göstergesi olarak kullanılır. Tiyobarbitürik asit testi yardımıyla ölçülür. Bu yöntem lipit peroksidasyonunun belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemdir. MDA, lipit peroksidasyonu sonucu oluşan aldehit ve karbonil bileşiklerin sonucusudur (Altınışık, 2001; Arlab, 2003).

MDA, hücre zarlarının geçirgenliğini arttırdığı, hücre içi iyon dengesini zarların iyon giriş-çıkışına etki ederek bozduğu, DNA yapısında bozulmalara ve baz değişikliklerine sebep olduğu, enzim aktivitelerini bozduğu kanıtlanmıştır (Aktaş ve ark., 2004).

### **2.4.2. Antioksidanlar ve Antioksidan Savunma Sistemleri**

Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve bunlardan kaynaklı hücre hasarı engellemek için vücudun oluşturduğu savunma mekanizmalarıdır. Hücrelerde oluşan reaktif oksijen ürünlerini ortadan kaldırmak için kullanılır (Altınışık, 2001; Dündar ve Aslan, 1999).

Organizmada ROS'ların oluşma hızı ile bunların elimine edilme hızı bir denge halindedir. Bu dengeye oksidatif denge denir. Bu denge sağlandığı süreçte hücreler ve organizma ROS'lardan etkilenmemektedir (Şekil 2.7). Ancak bu denge fiziksel aktiviteler, fizyolojik durumlar (gebelik gibi) ve patolojik olgularda lokal ve genel antioksidan kapasite aşıp, antioksidan savunma sistemi yetersiz kalarak denge bozulabilmektedir (Altan ve ark., 2006; Altınışık, 2001).



Şekil 2.7. ROS ile antioksidanların dengesi (Altınışık, 2001).

Antioksidanlar intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki grupta incelenir.

1. İntrasellüller antioksidanların enzimatik olanları; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon s-transferazlar (GST). Enzimatik olmayanları ise hemoglobin, miyoglobin, bilirubin, metiyonin, albümin, melatonin, seruloplazmin, ferritin ve üratır.

2. Ekstrasellüler antioksidanlar; gıda antioksidanları, ilaçlar, vitaminler olarak sıralanabilir (Karadeniz ve Tosun, 2005; Aksakal ve Yüce, 2007).

Antioksidanlar iki şekilde etkilerini gösterirler;

1. ROS oluşumunun önlenmesi:

- a. Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki,
- b. Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki,
- c. Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.

2. Oluşan ROS'ların etkisiz hale getirilmesi:

a. Toplayıcı (*scavenging*) etki: ROS'lerini etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme. (Örneğin: Enzimler.)

b. Bastırıcı (*quencher*) etki: ROS'leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olma veya inaktif şekle dönüştürme olayına bastırıcı etki denir (Örneğin: Flavinoitler, vitaminler).

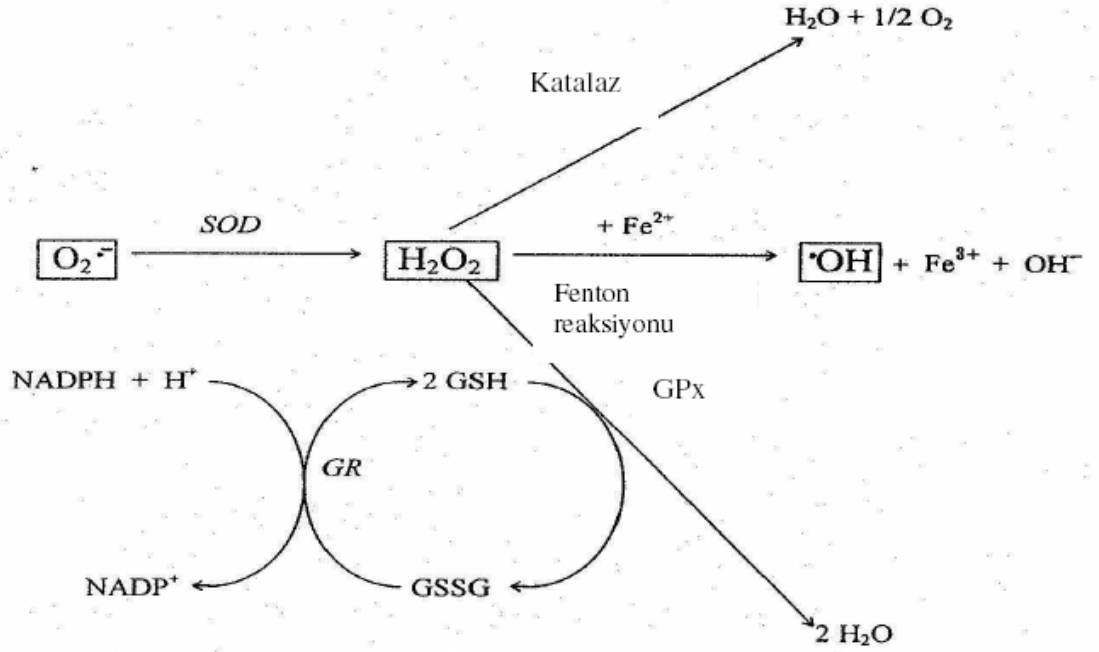
c. Onarıcı (*repair*) etki

d. Zincir kırıcı (*chain breaking*) etki: ROS'lerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğere maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki. (Örneğin: Hemoglobın, seruloplazmin, mineraller) (Harris, 1992).

#### **2.4.2.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)**

1968 yılında Fridovich ve McCord tarafında bulunan bir enzimdir. 3 tipi vardır; Mitokondride bulunan Mn-SOD, sitozolde bulunan Cu-Zn SOD ve plazmada bulunan ise Cu-SOD 'dur (Erseçkin, 2019).

Süperoksid Dismutaz (SOD)'ın fizyolojik fonksiyonu süperoksid radikallerinin zararlarına karşı oksijen kullanan hücreleri korumaktır. Bunu yaparken lipit peroksidasyonu da engellenmektedir. Çok fazla oksijen kullanan doku ya da hücrelerde SOD etkinliği buna bağlı olarak yüksektir. Ayrıca bağışıklık sistemi hücrelerinden olan lenfositlerde çok fazla bulunan SOD, bakterilerin hücre içinde öldürülmesinde görev almasından dolayı buralarda etkinliği fazladır (Memişoğulları, 2005).



Şekil 2.8. Enzim savunma mekanizması (Armstrong, 1998).

#### 2.4.2.2. Total Antioksidan Seviyesi (TAS)

Antioksidanlar, ROS'ların meydana getirdiği zararlı etkilerden dokuları koruyan ve oksidatif stresi dengeleyen karmaşık sistemler birleşimidir. Organizmada TAS'a en fazla katkı plazmadaki antioksidanlardan gelir. Plazma, diyetle alınan antioksidanları organizmada her yere dağılmasını sağlar. Ayrıca farklı kan bileşimlerine sahip olmasından dolayı oksidatif strese karşı koyabilmektedir. Plazma oksidatif strese karşı koymakta basit bir kimyasal sistem olmamakla beraber zincir kırıcı antioksidanları da bulundurur. Vit-C (askorbik asit), ürik asit ve albumin total antioksidan kapasitesine katkı yapar. Antioksidan savunma sisteminde, bireysel antioksidanlar özel olmasına rağmen bunlar oksidatif hasara karşı organları korumak için beraber hareket edebilir. Bu sebeple antioksidan savunma sistemin değerlendirilmesi için toplam seviyeyi ölçmek daha doğru olmaktadır (Vural ve ark., 2007).

ROS oluşumu, total antioksidan kapasiteyi aşar ise birçok metabolik ve fonksiyel hasarlar meydana gelir. ROS olarak bilinen oksijenden köken alan ve çok reaktif olan hidroksil, süperoksid, peroksidlerin fazla olması hücre bütünlüğünü

DNA, RNA, proteinler, fosfolipidler gibi molekülleri de tehdit altına alırlar. Birçok biyolojik olayda (iltihaplanma, kanser, yaşlanma, antibakteriyel savunma vb.) yine ROS devrededir. Özellikle hücre içinde yükselen ROS antioksidan savunma sisteminin azalmasına ve oksidatif stresin yükselmesine neden olmaktadır (Sırmatel ve ark., 2009).

## 2.5. Apoptozis

Yunancadan türetilmiş olan apoptoz kelimesi ilk olarak 1972 yılında Currie, Wyllie ve Kerr tarafından yayınlanan bir makalede o zamana kadar tanımlanmamış ve nekrozdan çok farklı morfolojisi olan bir hücre ölümünü tarif etmiş olup bunu da "apoptozis" olarak tanımlamışlardır (Gültekin ve ark., 2008).

Apoptozis kelime anlamı olarak programlanmış hücre ölümü ya da hücre intiharı olarak tanımlanmaktadır. Apoptozis kelimesini biraz daha açmak gerekirse organizmanın gereksinim duymadığı, biyolojik anlamda görevini tamamlamış ya da bir şekilde hasar almış hücrelerin zararsız bir şekilde yok edilmesini sağlayan ve genetik yönden kontrollü olan hücre ölümüdür (Öztürk, 2002; Öktem ve ark., 2001; Hıkım ve ark., 1995). Apoptozis organizmada hücrelerin gelişme ve yaşlanma süreçlerini kontrol ederek hücre popülasyonunun devamı ve dokularda homeostazisi sağlamaktadır. Aynı zamanda zararlı ajanlar veya herhangi bir hastalık etkenine karşı immun sistem gibi savunma rolü üstlenmektedir (Norbury ve Hickson, 2001).

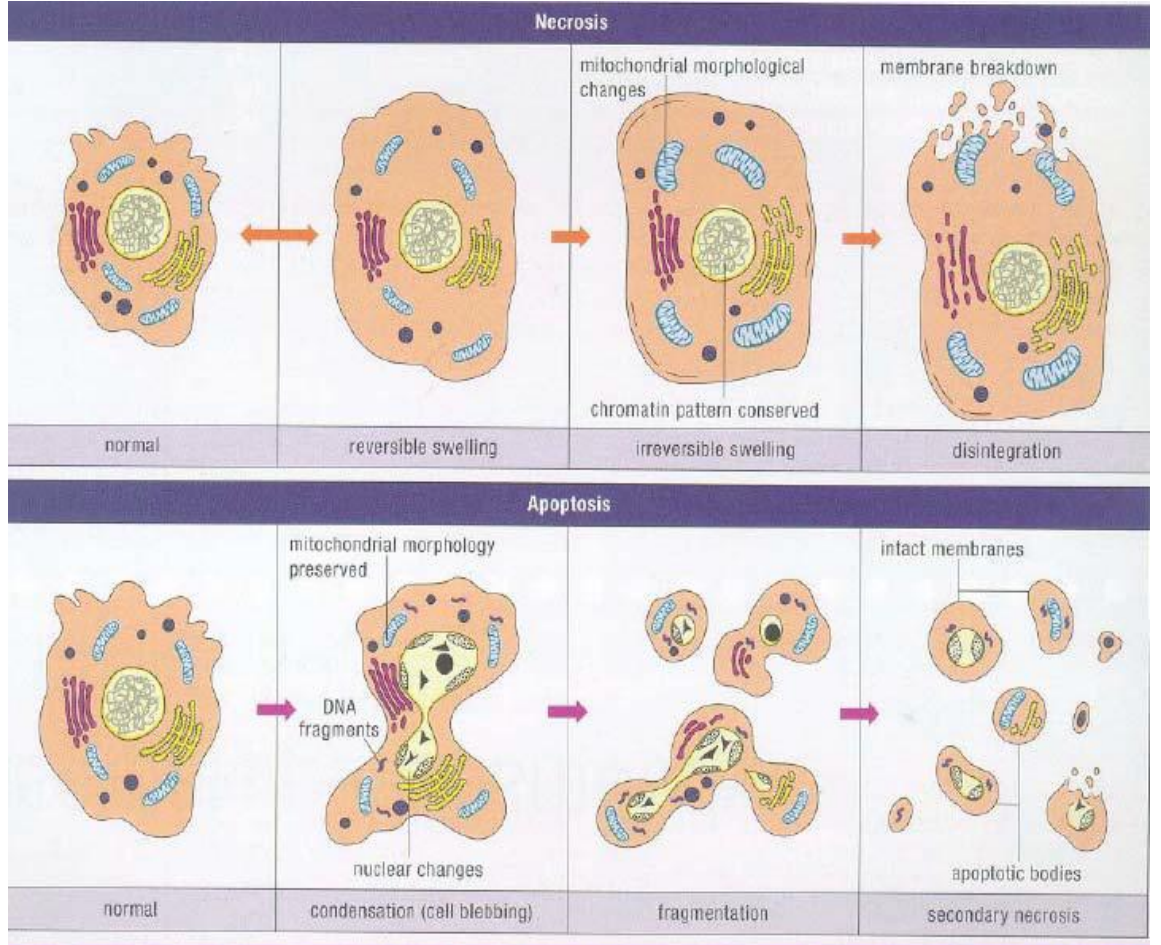
Bazı durumlarda hücrede indükleyici faktörün tipine ya da derecesine göre apoptozis veya nekroz oluşur. Düşük dozda sıcaklık, radyasyon, hipoksi ve sitotoksik kanser ilaçları gibi faktörler apoptozisi uyarabilmektedir. Ancak bunun tam tersi yani yüksek dozlarda olur ise nekroz şekillenebilir (Elmore, 2007).

Canlılık faaliyetlerini sürdüren hücreler iki farklı şekilde ölürler. Bunlar nekroz ve apoptozis'dir.

1. Nekroz; Çok fazla ısı değişimleri, toksik maddeler, hipoksi gibi hücre dışından gelen çeşitli kimyasal ya da fiziksel etmenler sonucu oluşan hücre ölümüdür.

2. Apoptozis; Fazla üretilmiş, düzensiz gelişmiş, yaşlanmış, görevini yitirmiş, veya genetik olarak bozuk olan hücrelerin yok edilmelerini sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür.

Nekroz patolojik bir olaydır. Apoptozis ise patolojik ya da fizyolojik uyarılar sonucu oluşabilir (Thompson, 1995).



**Şekil 2.9.** Apoptozis ve nekrozisin hücresel görünümü (Ulukaya, 2003).

Yaşayan hücrelerin yaşam döngülerinde yapım ve yıkım bir denge içindedir ve apoptozis ile bu denge korunur. Örneğin; bağırsak kriptlerinin devamlı yenilenmesi, menstruasyon döngüsünde uterusun yenilenmesi, hücre DNA'sında meydana gelen mutasyonlar sonucu hasar oluşması ve öldürülmesi bunlara bir örnektir. Apoptozis, organizmada hücrelerin kendi biyolojik saatlerine uygun olarak çok çeşitli ve sayıları bir hayli fazla olan bir dizi mediyatörler tarafından

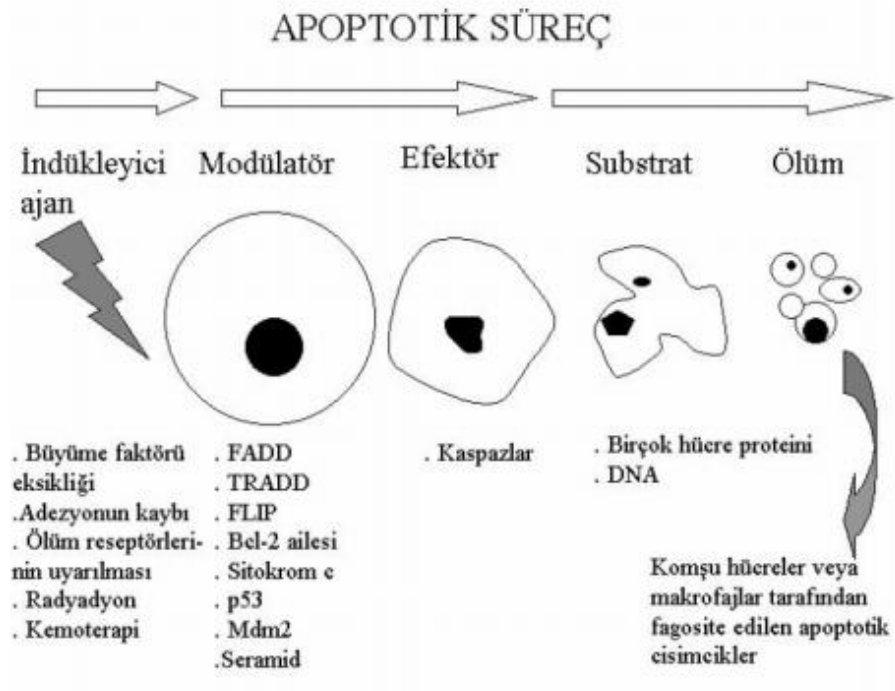
düzenlenmektedir. Bunlar; genler (c-myc), bazı iyonlar (kalsiyum), proteinler (bcl-2/bax) hatta organeller (mitokondri)'dir (Erdoğan, 2003).

### **2.5.1. Apoptozisin Mekanizmaları**

Apoptoziste kaspazların aktif olduğu iki ana mekanizma vardır. Bunlardan birincisi mitokondrial (intrinsik) yol ile olan, ikincisi ise ölüm reseptörü (ekstrinsik) yolu ile olandır (MacFarlane ve ark., 2000).

Mitokondriyal/İntrinsik yol, yeterli düzeyde sitokrom-c salındığında mitokondriyal bozulma tetiklenir (MacFarlane, 2003). Bu serbestlenen sitokrom-c apoptozisde kaspaz-3 enzimlerinin aktivasyonunda önemli görev alır (Crowe ve ark.,1997; Li ve ark., 2000). Bu yol bcl-2 proteinleri tarafından düzenlenmektedir (Green ve Reed, 1998).

Ölüm reseptör yolu/Ekstrinsik yol ise kaspaz-kaskad'ın aktivasyonunu başlatan ölüm reseptörleri de denilen ligandların hücre yüzeyine bağlanmasıyla oluşur (Ashkenazi ve Dixit, 1998). TNF (tümör nekroz faktörü) geniyle benzer özellikler gösteren ölüm reseptörleri apoptozise hızlı ve etkin bir yol çizmektedir. Ölüm reseptörleri sisteinden olukça zengin hücre dışında bir ortam ve ölüm zonu olarak da tanımlanan hücre içi stoplazmik alan içerir ve tip-1 transmembran proteinleridir. Apoptozis için mutlak gerekli olan proteinlerdir. Nedeni ise ligandların yani ölüm reseptörlerinin birbiriyle bağlanması için kaspaz olarak bilinen protezların harekete geçmesini sağlayan süreci etkilemektedir (Kumar ve ark., 2005).



**Şekil 2.10.** Apoptotik süreç (Ulukaya, 2003).

### 2.5.2. Apoptozisi Uyarıcı Faktörler

Apoptozisi indükleyen etmeler üç grup altında toplanabilir;

1. Büyüme Faktörleri
2. Onkogenler
3. Tümör Supresör Genler

Normal hücreler canlılığını devam ettirebilmeleri için ortamda uygun büyüme faktörlerinin bulunması gereklidir. Ortamda bu faktörlerin azalması çoğunlukla apoptozis ile sonuçlanmaktadır (Williams ve ark., 1990). Monositlerde TNF, interlökin-1 ve M-CSF, liposakkaritler ve interferon apoptozisi engeller. Özellikle liposakkaritlerin apoptozisi engellemesi, monositlerin yangı alanında olma sürecini uzatmakta ve de enfeksiyona karşı bir direnç oluşturmaktadır (Mangan ve ark., 1991).

Onkogenler organizmada ve hücrede antiapoptotik ve proapoptotik olarak önemli görev almaktadırlar. Antiapoptotik genler; c-myc, p-53 ve bcl-2 ailesi ve bunların aynı isimle ürettikleri proteinlerdir (Choi ve ark., 2001; Newton ve Strasser,



1998). Proapoptotik genler ise Bax, Bad ve Bid 'dir (Miyashita ve ark., 1994; Wingrave ve ark., 2003).

### **2.5.2.1. Bcl-2/Bax Proteinleri**

Bu protein ailesi apoptotik reaksiyonlar dizisinin (kaskadın) kontrolünde en önemli gruptur. Fazla sayıda üyesi vardır (Lu ve ark., 2000). Bunlardan bazıları apoptotik aktiviteyi (BAX) etkiler iken bazıları da antiapoptotik aktiviteyi etkiler (Newton ve Strasser, 1998).

Bcl-2 proteinlerinin hücrede etkilediği organel mitokondridir. Bcl-2 güçlü bir antiapoptotik proteindir (Newton ve Strasser, 1998). Mitokondriden sitokrom-c salınımı engelleyerek görev yapar. Bcl-2 mitokondri membranı dışında endoplazmik retikulumda ve nüklear membranlarda bulunur. Ayrıca Bcl-2, Raf-1 ve kalsinorine bağlanır (Choi ve ark., 2001; Miyashita ve ark., 1994).

Bax, sağlıklı ve normal bir hücrede sitozolde bulunur. Sitozolde bulunan Bax proteini apoptotik uyarı ile mitokondriye geçer. Çeşitli etkileşimler sonucu Bax'ın hidrofobik-c terminal ucu açığa çıkar ve sitokrom-c salımına neden olur (Miyashita ve ark. 1994, Wingrave ve ark., 2003).

### **2.5.3. Apoptozisin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler**

Apoptozis belirlemede birçok yöntem ortaya konmuştur. İlk olarak 1972 yılında apoptozis terimi tanımlandıktan sonra hücrenin morfolojik değerlendirmeye göre bir belirleme yöntemi geliştirilmiştir. Ancak günümüzde morfolojik değerlendirmenin yanı sıra sadece apoptozise özel olduğu saptanmış bir takım aktivitelerin (kaspaz-3 tayini gibi) belirlenmesi yöntem olarak geliştirilmiştir (Stassi, 2006).

Bu yöntemler sırasıyla;

1. Işık mikroskobu; morfoljik değerlendirme en kolay ve maliyet açısından da en ucuz olanıdır. Hematoksilen boyamayla boyanan preparatlar incelenir. Apoptik hücrelerin belirlenmesinde ilk metod olarak başlanabilir (Mehmet, 2006).

2. Floresan mikroskobu; floresan boyaların DNA'ya bağlanabildiklerinden dolayı hücrenin kromatini yani nükleusunun görülebilir hale gelmesidir (Vairetti ve ark., 2005).

3. Elektron mikroskobu; morfoljik olarak değişimlerin en net ve doğru gözlemlendiği yöntemdir. Hatta hücre içi ayrıntılı gözlemlenebilir (mitokondri durumu, hücre zarının durumu gibi) (Ulukaya, 2003).

4. Faz kontrast mikroskobu; bu yöntemle sadece hücre kültür ortamında çalışmaları incelemek için kullanılır (Yılmaz, 2005).

5. Annesin V yöntemi; sağlıklı normal hücrelerde, hücre zarının stoplazmik tarafında fosfolipidler yer almaktadır. Eğer ki hücre apoptozise başlar ise iç yüzeyde bulunan fosfolipidler zarın dışına yerleşirler. Buradaki fosfolipidleri floresan madde olan annesin V kullanılarak görülür hale getirilir. Bunların görünmesiyle de apoptozis belirlenmiş olur (Vairetti ve ark., 2005).

6. TUNEL yöntemi; in situ olarak DNA kırıklarının tanınması sağlanır. İn situ DNA kırıkları, TdT (terminal deoksinükleotidil transferaz) aracılı floresan-dUTP işaretleme (TUNEL) yöntemiyle belirlenir. Apoptik hücrelerin görülebilmesi için peroksidaz substrat 3-diaminobenzidin kullanılır. Nüklear boyama için %0,5 lik methyl green kullanılır. TUNEL pozitif olan hücreler ışık mikroskobunda incelenir (Watanabe ve ark., 1999).

7. M30 yöntemi; apoptotik hücrelerin sitokeratin-18'in kaspazlar etkisiyle kırılması ile oluşan yeni antijen alanın immuno-histokimyasal yöntem ile boyanması ile belirlenir (Yılmaz, 2005).

8. Kaspaz-3 yöntemi; yalnız apoptotik hücrelerden oluşan kaspaz-3 İHC yöntemiyle belirlenir (Antar, 2005).

9. Agaroz jel yöntemi; DNA fragmentasyonlarının gösterildiği farklı bir metoddur. Apoptozis karakteristik olarak merdiven (ladder pattern) görüntüsü şeklindedir. Bu görüntü DNA'nın 180 baz çifti ve katlarından kırılmalar oluştuğu için karakteristiktir (Hekim, 2003).

10. Western blotting yöntemi; apoptozise özel proteinlerin kendini gösterip göstermedikleri (Bcl-2'nin eksprese olması gibi) yada kırılıp kırılmadıklarını belirlemek mümkündür (Liu ve ark., 2006).

11. ELISA yöntemi; apoptozis sonucu parçalarına ayrılmış ve stoplazmaya geçmiş DNA kırıklarını belirlemek için kullanılır (Brugere ve ark., 1999). Hücre kültüründe büyük ölçüde normal, nekrotik ve apoptotik hücrelerin hepsi bir arada bulunur (Hekim, 2003). Çalışma santrifüjle başlar ve nekrotik hücreler oluşan süpernatantlardan uzaklaştırılır. Ortamda kalan apoptotik ve normal hücrelerin stoplazmik nükleozomları, plazma membranı permeabilize edilir. Sonuç olarak stoplazmik materyalde nükleozomlar ELISA ile tespit edilir (Frankfurt ve Krishan, 2001).

GM nefrotoksisitesinde böbrek hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin yıkımlayıcı etkisinin rol aldığı bilinmektedir. Çalışmanın amacı özellikle gram (-) basillerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ve vücutta serbest radikal oluşumunu tetikleyen ilaçlardan birisi olan GM'nin bu olumsuz etkilerine karşı TCE'nin muhtemel koruyucu etkilerini oksidatif stres, apoptozis ve antioksidan parametreler yönüyle araştırmaktır.

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

##### **3.1.1. Deney Hayvanı Materyali**

Bu çalışma 10-12 haftalık, 280-420 gr. ağırlıklarında 40 adet Sprague Dawley cinsi erkek ratlarda yapıldı. Ratlar Balıkesir Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim, Bakım, Uygulama ve Araştırma Merkezinde (BAUN DEHAM) standart ışık (12 saat aydınlık/12 saat karanlık), ısı (22°C) ve kafeslerde ad libitum beslenme ile barındırıldı. Çalışma, Balıkesir Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunda (HADYEK) değerlendirilerek 28.02.2019 tarih ve 2019/2-3 sayılı karar ile onaylanmıştır.

##### **3.1.2. Kullanılan Cihazlar**

Analizler sırasında Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan; ELISA okuyucusu (Thermo Multiskan FC, USA), Santrifüj (Hettich Universal 320 R), Homojenizatör (Stuart SHM 1, UK), Spektrofotometre (Shimadzu UV-1800, Japan), Otoanalizör (Sinnova D280, Nanjing, China), Vortex (Stuard SA-7), Manyetik karıştırıcı (IKA-CMAC HS7) Otomatik pipetler (Brand 2-20µl, 20-200 µl, 5-50 µl, 100-1000 µl), pH metre (Hanna pH 211, USA) Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan Vakumlu mikrotom (Leica 2245, Nussloch, Germany) kullanılmıştır.

##### **3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Analizler sırasında kimyasal madde olarak Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Disodyum hidrojen fosfat) (Merck, 159323), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Potasyum dihidrojen fosfat) (Merck, 4871), NaCl (Sodyum klorür) (Merck, 6400), Formol (Merck, UN2209), Etil alkol (Smyras,

2050500), Ksilol (Carlo Erba, 492306), İzofluran (Primal Critical Care, Lot.:NDC 667994-017-25), Metanol (%96) (Merck, 106009), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Merck, UN2014), Bcl-2 (Santa Cruz, E1904), Bax (Santa Cruz, G0104), Sekonder antikor (Dako Cytomation, E0431), Hemalum boyası (Hematoxylin) (Merck, 1043020025), Faramount (Dako, 2972) TAS kiti (Total Antioxidant Status Assay kit, Rel Assay Diagnostics, Turkey), Üre kiti (Archem, A2332, İstanbul, Turkey), Kreatinin kiti (Archem, A2162, İstanbul, Turkey), Potasyum klorür (Merck, 4935), Ksantin (Sigma, X- 0626), Ksantin oksidaz (Sigma, X-1875), Triklorasetik asit (Merck, 0810), Tiyobarbutirik asit (Sigma, T-5500), N-butanol (Merck, 0988), Sodyum hidroksit (Merck, 6462), Bakır sülfat (Sigma Cas: 7758-98-7), Nitroblue tetrazolium (Serva, 30550), Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Sigma, E-5513), Bakır klorür (Merck, 2733) Sodyum tartarat (Sigma Cas:6106-24-7), Folin-Fenol reaktifi (Sigma Mdl: MFCD00132625), Gentamisin sülfat (Goldbio Cas:1405-41-0), Theranekron<sup>®</sup> (Richter Pharma ag. Welss/Australia) kullanılmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Deney Hayvanları Grupları ve Uygulama Protokolü**

Hayvanlar çalışma başlamadan iki hafta önce standart kafeslerde ortama alışması için beklenildi. Çalışmada her biri 10 hayvandan oluşan 4 grup oluşturuldu.

Gruplara aşağıdaki işlemler uygulandı.

1. Grup: Kontrol (K); 0.5 ml izotonik NaCl i.p., 8 gün, GM grubuyla aynı gün başlandı. 8 gün uygulandı.

2. Grup: TCE (T); 200 µl/kg/gün s.c., 14 gün, GM grubuna yapılan uygulamadan 3 gün önce başlanıp, uygulama bitişinden 3 gün sonra daha devam edildi. 14 gün uygulandı.

3. Grup: Gentamisin (G); 100 mg/kg i.p., 0.5 ml izotonik NaCl ile 8 gün uygulandı.

4. Grup: Gentamisin+TCE (G+T); GM grubuna yapılan uygulamadan 3 gün önce başlanıp, uygulama bitişinden 3gün sonra daha devam edildi. 14 gün uygulandı.

### **3.2.2. Serum ve Doku Numunelerinin Hazırlanması**

Son enjeksiyondan 24 saat sonra izofluran anestezisi altında serum tüplerine kan alınarak 2500×g'de 15 dk. santrifüj edilip serumu ayrılarak analiz edilinceye kadar -80°C'de saklandı. Böbrek dokusundan alınan örneklerin yarısı immunohistokimyasal ve histopatolojik analizler için formol içerisine konularak parafin bloklar hazırlandı, örneklerin diğer yarısı ise MDA, SOD ve TAS analizleri için -80 °C'de saklandı.

### **3.2.3. Biyokimyasal Analizler**

Böbrek doku örnekleri %0.9 NaCl çözeltisi ile yıkanıp %1.15 KCl çözeltisi ile homojenize edildi (1 dakika için 2.000 rpm/dak, 1:10 w/v). Homojenizatın yarısı MDA analizi için ayrıldı, diğer yarısı 4°C'de 60 dakika boyunca 5000×g'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar SOD ve TAS analizlerinde kullanıldı. Araştırmada böbrek dokusundaki protein düzeyleri Lowry (1951) yöntemine göre belirlendi.

#### **3.2.3.1. MDA Analizi**

Lipid peroksidasyonu ürünlerinden biri olan MDA'nın tiyobarbütirik asit (TBA) ile reaksiyonu sonucu oluşan kırmızı-pembe rengin spektrofometrede değerlendirilmesi esasına dayanır. Homojenat ve serumdaki MDA seviyeleri belirlemek için Yoshioika ve ark. (1979)'nın bildirdikleri metod uygulandı. Bu amaçla, test tüplerine sırasıyla 0.5 ml doku homojenat veya serum, 2.5 ml trikloroasetik asit çözeltisi (TCAA) (%20) ve 1 ml TBA (%0.67) ile karıştırıldı. Kör tüpe ise sadece 2,5 ml TCAA ve 1 ml TBA ilave edildi. Daha sonra test tüpleri 95C°'de 30 dakika kaynar su banyosuna alındı. Çeşme suyu altında soğutulduktan sonra kör tüp ve test tüplerine 4 ml n-bütanol ilave edildi. Tüpler çalkalanıp 3000 rpm.'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrasında üstte kalan tabakaların absorbansları spektrofotometrede 535 nm'de ölçüldü. Son olarak, MDA

konsantrasyonu MDA-TBA kompleksinin absorbans katsayısı (absorbans katsayısı  $\epsilon=1.56 \times 10^5 / \text{M/cm}$ ) ile hesaplandı ve süpernatantta  $\mu\text{mol/mg}$  doku proteini veya serumda  $\mu\text{mol/L}$  olarak tanımlandı.

### **3.2.3.2. SOD Analizi**

Oksidatif yoldan enerji üretilmesi sırasında oluşan süperoksid radikallerinin ortamdaki nitrobluetetrazoliyum (NBT)'u indirgemesinin, numunedeki SOD tarafından engellenmesi esasına dayanır. Süpernant ve serumda SOD analizi Sun ve ark. (1988)'nin geliştirdikleri metoda göre yapıldı. Radikaller nitrobluetetrazoliyum (NBT) ile tepkimeye girerek indirgenir. Sonuçta maksimum absorbansı 560 nm'de veren formazon meydana gelir. Ortama eklenen SOD enzimi, ortamdaki radikalleri dismutasyona uğratar. Bununla beraber NBT redüksiyon tepkimesi yavaşlar ve spektrofotometredeki değer düşer. Dolaylı olarak formazon oluşumunun inhibisyonunun tespiti ile SOD miktarını vermektedir. Test tüpleri, kör tüp işaretlendi ve herbirine 2,45 ml reaktif karışımı konuldu. Kör tüpe 0,5 ml distile su, test tüplerine örneklerden 1 ml alınıp üzerine 0,3 ml kloroform ve 0,5 ml etanol ilave edildi. Test tüpleri 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. 0,5 ml alınarak test tüplerine konuldu. Üzerine 50  $\mu\text{l}$  ksantin oksidaz çözeltisi eklenerek vortexde karıştırıldı. 25°C sıcaklıkta 20 dakika boyunca su banyosunda bekletildi. Bekletme sırasında  $\text{CuCl}_2$  eklenerek tepkime sonlandırıldı. Ortaya çıkan renk 560 nm'de spektrofotometre'de okundu. SOD aktivitesi daha sonra bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçüldü ve süpernatantta  $\mu\text{g/mg}$  doku proteini veya serumda  $\text{U/L}$  olarak tanımlandı.

### **3.2.3.3. TAS Analizi**

Süpernant veya serumun toplam antioksidan kapasitesi (TAS), Rel Assay (Total Antioxidant Status Assay Kit, rel Assay Diagnostics, Turkey) kitleri kullanılarak Erel (2004) tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı.

Numunedeki anitoksidanlar, ABTS radikalinin koyu mavi-yeşil rengini azaltması/indirgemesi esasına dayanır.

ABTS radikali stabil mavi-yeşil renkte standarttır. İlave edilen numulerdeki orana göre renk oluşumu inhibe oldu. Bu renk değişimi 600 nm'de spektrofotometrede okundu. TAS hesaplamasında troloks (E vitamini analogu) standart olarak belirlendi. Sonuçlar, süpernatantta mg doku proteini başına milimol troloks eşdeğeri veya serumda milimol troloks eşdeğeri/L olarak ifade edildi.

### 3.2.3.4. Lowry Yöntemi Protein Ölçümü

Alkali ortamda bakır iyonu ( $\text{Cu}^{+2}$ ) proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturur ve  $\text{Cu}^{+1}$ 'e indirgenir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan Tyr, Trp ve Cys aminoasitleri Folin-Fenol reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna neden olur. Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve 660 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür (Lowry ve ark., 1951).

1. Örnek ve standart tüplerine 1 ml protein çözeltisi ve standart çözeltiler, kör tüpe 1ml saf su konuldu.

2. Tüm tüplere 3 ml C reaktifi eklendi. (C reaktifi 100:1 oranında A ve B reaktifi karışımından oluşturulur. A reaktifi %2 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , %2 $\text{NaOH}$ , % 0.16 $\text{Na-tartarat}$ ; B reaktifi ise %4 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'dır.

3. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.

4. Tüm tüplere 300  $\mu\text{l}$  Folin-Fenol reaktifi vorteksenerek eklendi.

5. Oda sıcaklığında 45 dakika bekletildi.

6. Absorbanslar 660 nm'de köre karşı okundu.

7. Protein miktarları oluşturulan standart kalibrasyon grafiğinden yararlanarak hesaplandı.



### **3.2.3.5. Serum Üre Analizi**

Serum üre düzeyi biyokimya otoanalizatöründe hazır ticari kit (Archem, A2332) ile ölçüldü. Sonuçlar serumda mg/dl olarak ifade edildi. Bu test serum, plazma ve idrardaki ürenin kantitatif tayini için uygulanmaktadır. Üreaz, örnekdeki üreyi glutamate ve  $\text{NAD}^+$  meydana getirmek için glutamate dehidrogenaz eşliğinde 2-oksoglutarat ve NADH ile reaksiyona giren amonyum iyonlarını açığa çıkarmak için hidroliz eder. Absorbans 340 nm’de ölçüldü (Tietz, 1995).

### **3.2.3.6. Serum Kreatinin Analizi**

Serum kreatinin seviyesi biyokimya otoanalizatöründe hazır ticari kit (Archem A2162) ile ölçüldü. Sonuçlar serumda mg/dl olarak ifade edildi. Bu test, serum ve plazmadaki kreatinin konsantrasyonunun kantitatif tayini için uygulanmaktadır. Kreatin alkalimli ortamda pikrik asitle reaksiyona girerek renk kompleksi oluşturur. Kırmızı rengin oluşumu 500-520 nm’de fotometrik takip edilebilir. Sodyum tetraboratın birleşimi sürfaktanla enterferansı minimumda tutar (Tietz, 1995).

### **3.2.4. BCL-2 ve BAX’ın Histopatolojik Analizler**

Son enjeksiyondan 24 saat sonra izofluran anestezisi altında böbrek dokusu örnekleri alındı. Çıkarılan materyal %10’luk formaldehit solüsyonu içerisinde 48 saat tespit edildi. Dokular tespit solüsyonunda bekletildikten sonra makroskopik inceleme yapıldı. Böbrek dokusu horizontal olarak ikiye ayrıldıktan sonra medullar ve kortikal tüm böbrek katmanlarını içerecek şekilde örnekleme yapıldı. Alınan örnekler alkol ve ksilen solüsyonları ile yapılan rutin tespit ve takip işlemleri sonunda parafin blok haline getirildi. Hazırlanan bloklardan mikrotom aracılığıyla 3µm kalınlığında en az dört kesit 2 lam üzerine alındı. Kesitler histokimyasal olarak H&E (Hematoksilen ve Eozin) boyama yapıldı. Numuneler immunohistokimyasal analiz için primer antikor Bcl-2 ve Bax ile inkübe edildi. PBS içinde yıkama takiben universal sekonder antikor (DAB) ile inkübasyon yapıldı. Preparatlar Avidin-Biotini takiben kahverengi kromojen ile boyandıktan sonra hematoksilen ile karşı boyanma yapıldı. Yapılan

histokimyasal çalışmalarda elde edilen preparatlar ışık mikroskobu altında incelendi (Said, 2011; Kader ve ark., 2017).

### **3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme**

Elde edilen değerlerin istatistiksel analizi için SPSS (for Windows Release 17 Standart Versiyon Copyright © Spss Inc. Chicago) programı kullanıldı. Çalışma gruplarından alınan veriler ortalama  $\pm$  standard hata (Ortalama $\pm$  Sx ) şeklinde yazıldı ve istatistiki yöntem olarak da One-Way ANOVA testi (gruplar arası karşılaştırma) kullanıldı. Bu testte istatistiksel farkların anlamlılıkları ile bunların önemlilik düzeyleri Duncan ile belirlendi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Bulgular

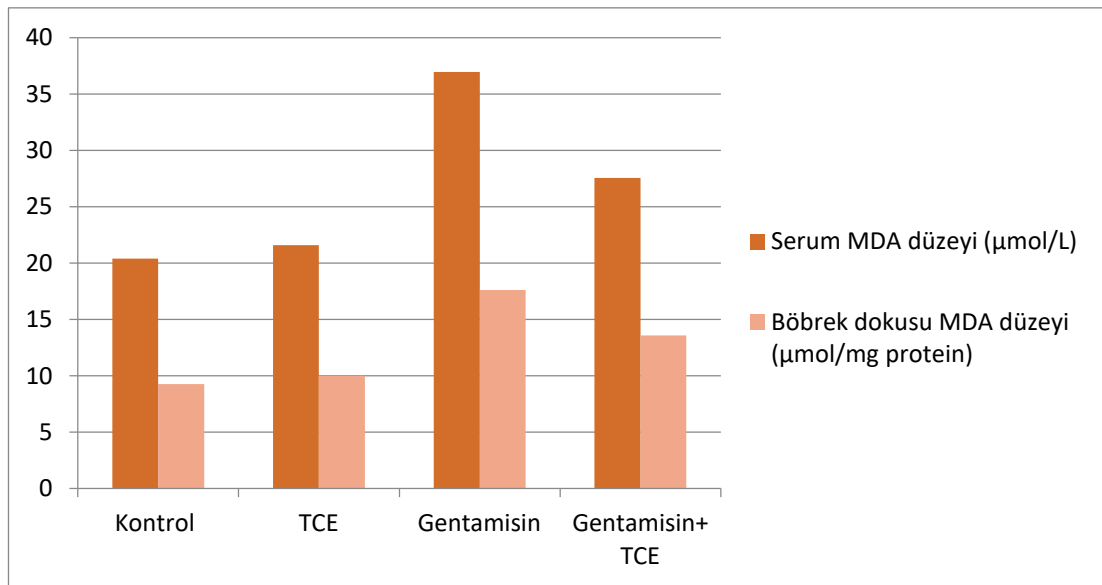
Çalışmada kullanılan rat gruplarına ait doku ve serum örneklerindeki MDA, SOD, TAS, serum üre ve kreatinin düzeyleri ayrı tablo ve grafiklerde gösterilmiştir

Tablo 4.1'deki değerlere ve Şekil 4.1'deki grafik analiz sonuçlarına göre kontrol grubuyla GM grubu karşılaştırıldığında MDA düzeyleri serum ve böbrek dokusunda arttığı, TCE uygulaması ile birlikte MDA düzeyindeki artmanın gerilediği ve bunun istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edildi. Kontrol grubu ile TCE grubu arasında istatistiksel bir fark tespit edilemedi.

**Tablo 4.1.** Gruplara ait serum ve doku MDA düzeyleri ( $X\pm SX$ )

	Kontrol	TCE	Gentamisin	Gentamisin + TCE
<b>Serum MDA</b> ( $\mu\text{mol/L}$ )	20.40 $\pm$ 0.77 <sup>c</sup>	21.59 $\pm$ 0.50 <sup>c</sup>	36.95 $\pm$ 1.45 <sup>c</sup>	27.55 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>
<b>Böbrek doku MDA</b> ( $\mu\text{mol/mg/protein}$ )	9.26 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>	10.01 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>	17.61 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	13.58 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>

a, b, c: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan grup ortalamaları arası fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.05$ ).



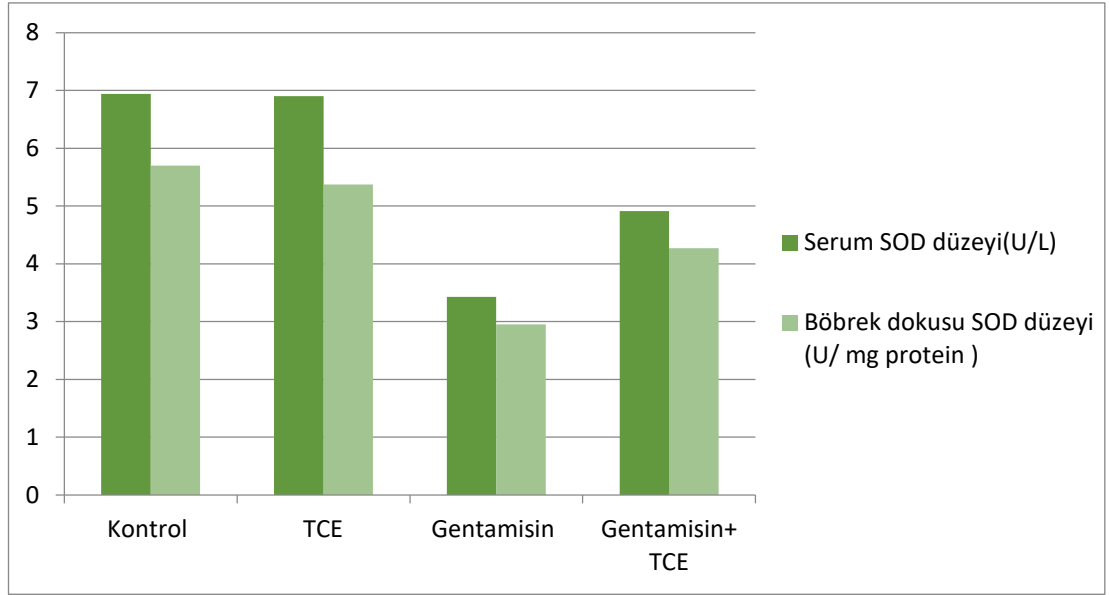
**Şekil 4.1.** Serum ve böbrek dokusunda MDA seviyeleri

Tablo 4.2'deki değerlere ve Şekil 4.2'deki grafik analiz sonuçlarına göre kontrol grubuyla GM grubuna bakıldığında SOD düzeyinin serum ve böbrek dokusunda azaldığı, TCE uygulaması ile birlikte SOD düzeyindeki azalmanın gerilediği ve bunun istatistiksel yönden önemli ( $p<0.05$ ) olduğu belirlendi. Kontrol grubu ile TCE grubu arasında istatistiksel yönden fark tespit edilemedi.

**Tablo 4.2.** Gruplara ait serum ve doku SOD düzeyleri ( $X\pm SX$ )

Parametrler	Kontrol	TCE	Gentamisin	Gentamisin + TCE
<b>Serum SOD (U/L)</b>	6.94 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	6.90 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	3.43 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	4.91 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>
<b>Böbrek doku SOD (U/ mg protein)</b>	5.70 $\pm$ 0.17 <sup>c</sup>	5.37 $\pm$ 0.19 <sup>c</sup>	2.95 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	4.27 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>

a, b, c: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan grup ortalamaları arası fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.05$ ).



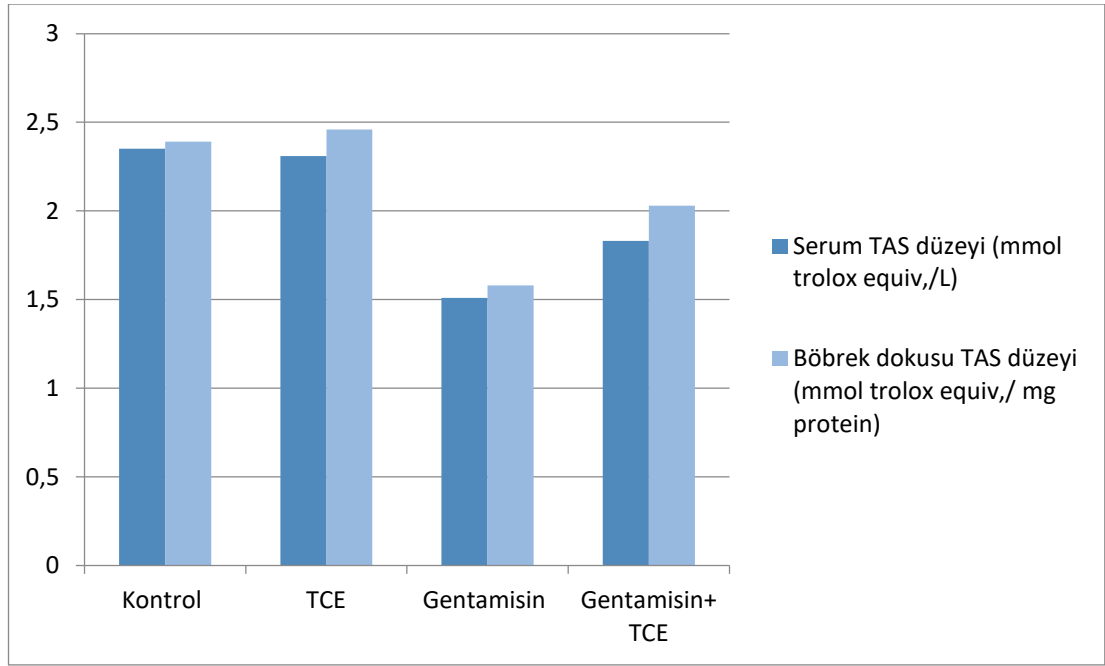
**Şekil 4.2.** Serum ve böbrek dokusu SOD seviyeleri

Tablo 4.3'deki değerlere ve Şekil 4.3'deki grafik analiz sonuçlarına göre kontrol grubuyla GM grubuna bakıldığında TAS düzeyinin serum ve böbrek dokusunda düştüğü, TCE uygulaması ile birlikte TAS düzeyindeki azalmanın gerilediği ve bunun istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edildi. Kontrol grubu ile TCE grubu arasında istatistiksel açıdan bir fark tespit edilemedi.

**Tablo 4.3.** Gruplara ait serum ve doku TAS düzeyleri (X±SX)

Parametrler	Kontrol	TCE	Gentamisin	Gentamisin + TCE
<b>Serum TAS</b> (mmol trolox equiv./L)	2.35±0.07 <sup>a</sup>	2.31±0.06 <sup>a</sup>	1.51±0.03 <sup>c</sup>	1.83±0.03 <sup>b</sup>
<b>Böbrek doku TAS</b> (mmol trolox equiv./ mg protein)	2.39±0.04 <sup>a</sup>	2.46±0.05 <sup>a</sup>	1.58±0.05 <sup>c</sup>	2.03±0.02 <sup>b</sup>

a, b, c: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan grup ortalamaları arası fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



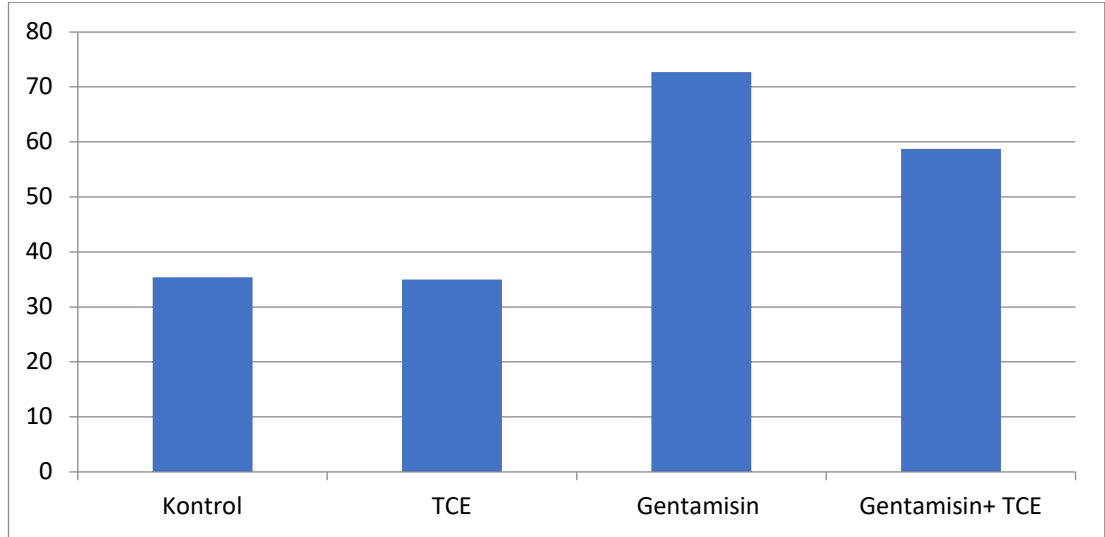
**Şekil 4.3.** Serum ve böbrek dokusu TAS seviyeleri

Tablo 4.4'deki değerlere ve Şekil 4.4'deki grafik analiz sonuçlarına göre kontrol grubuyla GM grubuna bakıldığında serum üre düzeyinin arttığı, TCE uygulaması ile birlikte serum üre düzeyi artmanın gerilediği ve bunun istatistiksel açıdan önemli (p<0.05) olduğu tespit edildi. Kontrol grubu ile TCE grubu arasında istatistiksel bir fark tespit edilemedi.

**Tablo 4.4.** Gruplara ait serum üre düzeyleri (X±SX)

Parametrler	Kontrol	TCE	Gentamisin	Gentamisin + TCE
<b>Serum üre</b> (mg/dl)	35.40±0.85 <sup>c</sup>	35.00±1.23 <sup>c</sup>	72.70±2.17 <sup>a</sup>	58.70±1.02 <sup>b</sup>

a, b, c: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan grup ortalamaları arası fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).



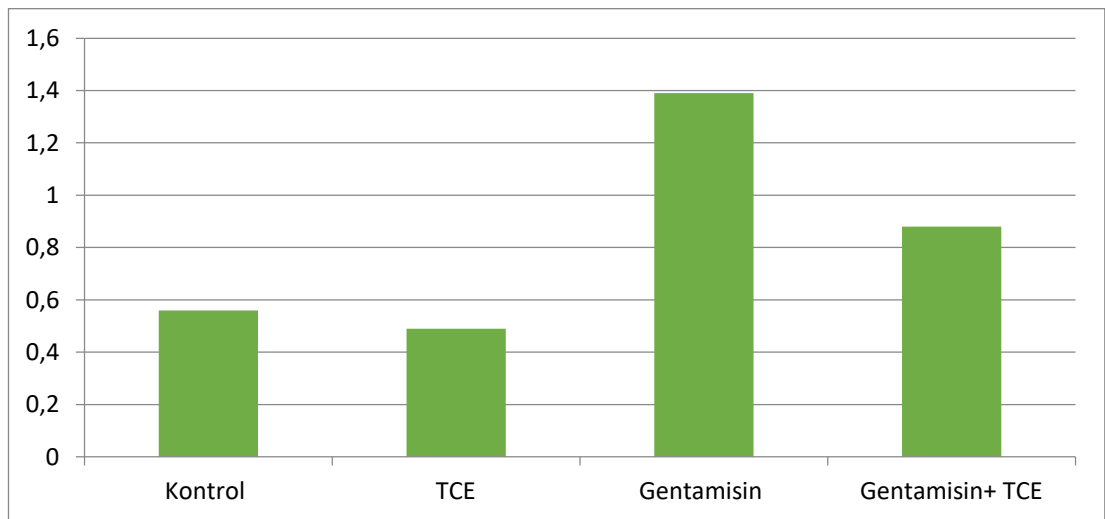
**Şekil 4.4.** Tüm gruplarda serum üre düzeyi (mg/dl)

Tablo 4.5’deki değerlere ve Şekil 4.5’deki grafik analiz sonuçlarına göre kontrol grubu ile GM grubuna bakıldığında serum kreatinin düzeyinin arttığı, TCE uygulaması ile birlikte serum kreatinin düzeyindeki artmanın gerilediği ve bunun istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edildi. Ancak kontrol grubu ile TCE grubu arasında istatistiksel bir fark tespit edilemedi.

**Tablo 4.5.** Gruplara ait serum kreatinin düzeyleri ( $X\pm SX$ )

Parametrlere	Kontrol	TCE	Gentamisin	Gentamisin + TCE
<b>Serum kreatinin (mg/dl)</b>	$0.56\pm 0.01^c$	$0.49\pm 0.02^c$	$1.39\pm 0.05^a$	$0.88\pm 0.03^b$

a, b, c: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan grup ortalamaları arası fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4.5.** Tüm gruplarda serum kreatinin düzeyi (mg/dl)

## 4.2. Histopatolojik Bulgular

Çalışmada kullanılan ratların böbrek dokularında histopatolojik incelemeler sırasında görülen değişiklikler Şekil 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 'de istatistiksel bulgular Tablo 4.6'da verilmiştir.

**Tablo 4.6.** Gruplara ait böbrek dokusu histopatoloji sonuçları (H&E) (X±SX)

Parametreler	Kontrol	TCE	Gentamisin	Gentamisin+ TCE
<b>Patolojik proteinli döküntüler</b>	0.50±0.22 <sup>b</sup>	0.70±0.21 <sup>b</sup>	1.80±0.33 <sup>a</sup>	1.30±0.30 <sup>a,b</sup>
<b>Tubulointerstisyel inflamatuvar infiltratlar</b>	0.20±0.13 <sup>b,c</sup>	0.10±0.10 <sup>c</sup>	0.80±0.29 <sup>a,b</sup>	1.20±0.29 <sup>a</sup>
<b>Tübüler nekroz</b>	0.40±0.16 <sup>b,c</sup>	0.10±0.10 <sup>c</sup>	1.20±0.29 <sup>a</sup>	0.90±0.23 <sup>a,b</sup>
<b>Medullar tıkanıklık derecesi</b>	0.80±0.25 <sup>b</sup>	1.10±0.31 <sup>a,b</sup>	1.80±0.20 <sup>a</sup>	1.40±0.16 <sup>a,b</sup>

a, b, c: Aynı satırdaki farklı harf taşıyan grup ortalamaları arası fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

Histopatolojik olarak böbrek dokusunda;

Tubulointerstisyel inflamatuvar infiltratlar (Bulgu yok = 0, interstitium = +1, içinde sınırlı leukositler ve interstitium ve tübüler epitel hücrelerine sızan lökositler = + 2 ); Patolojik proteinli döküntüler (Hasar yok = 0, hafif (tek hücreli, yamalı izole hasar) = 1, orta (%50'den az hasar) = 2, şiddetli (%50'den fazla hasar) = 3); Medullar tıkanıklık derecesi (tıkanıklık = 0, hafif (eritrositlerin ×400 büyütme ile tanımlanması ile vasküler tıkanıklık) = 1, orta (eritrositlerin×200 büyütme ile tanımlanması ile vasküler bağlantı) = 2, şiddetli (eritrositlerin ×100 büyütme ile tanımlanması ile vasküler tıkanıklık) = 3); Tübüler nekroz (normal korteks = 0, bir yada iki tübül hasarı itibariyle küçük hasar = 1, tübüler hasar korteksin %50'sine kadar = 2, tübüler hasarın daha % 50'sinden daha fazlası = 3) parametrelerine skorlar verilerek değerlendirilir.

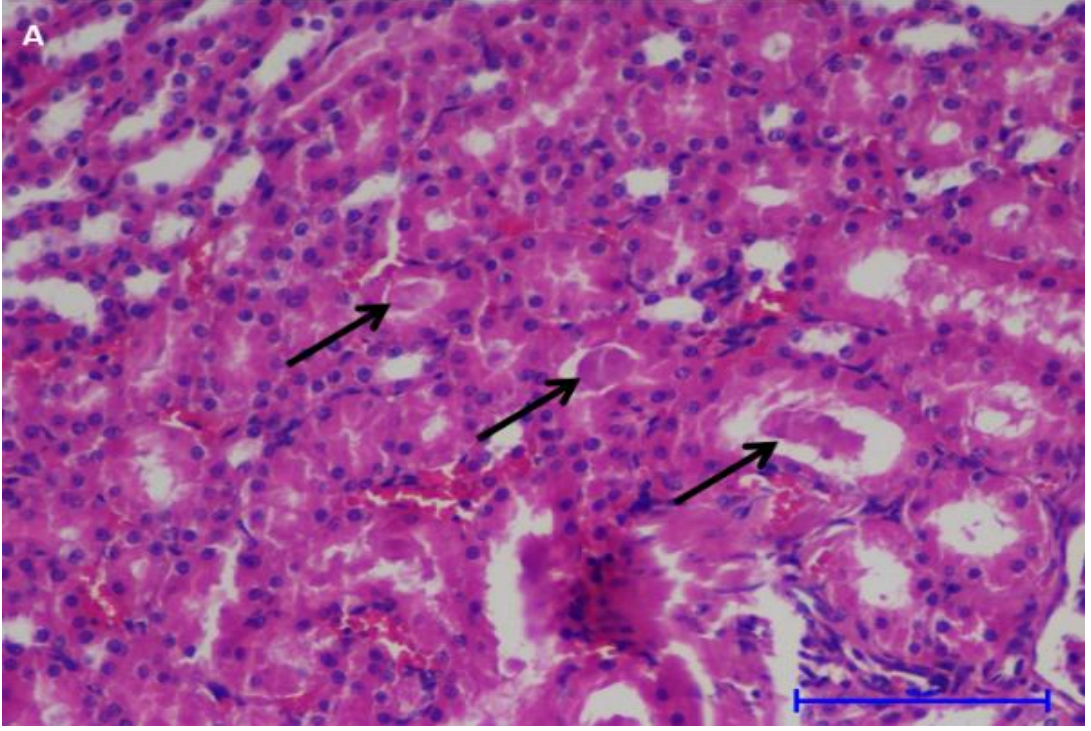
Kontrol grubu böbrek dokusu histopatolojik olarak incelemeye alındığında normal histolojik görünümüne sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.10). Ancak GM grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında patolojik proteinli döküntülerin anlamlı şekilde arttığı (Tablo 4.6, Şekil 4.6), tubulointerstisyel inflamatuvar infiltratda artışın görüldüğü belirlenmiştir (Tablo 4.6, Şekil 4.7). Şiddetli tübüler nekrozun olduğu (Tablo 4.6, Şekil 4.8 ) ve medullar tıkanıklık derecesinde de artışların (Tablo 4.6, Şekil 4.9) olduğu tespit edilmiştir.

TCE uygulamasıyla beraber patolojik proteinli döküntülerde, tübüler nekroz ve medullar tıkanıklık derecesinde bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Ancak tubulointerstisyel inflamatuvar infiltratta ise bir artışın olduğu görülmüştür.

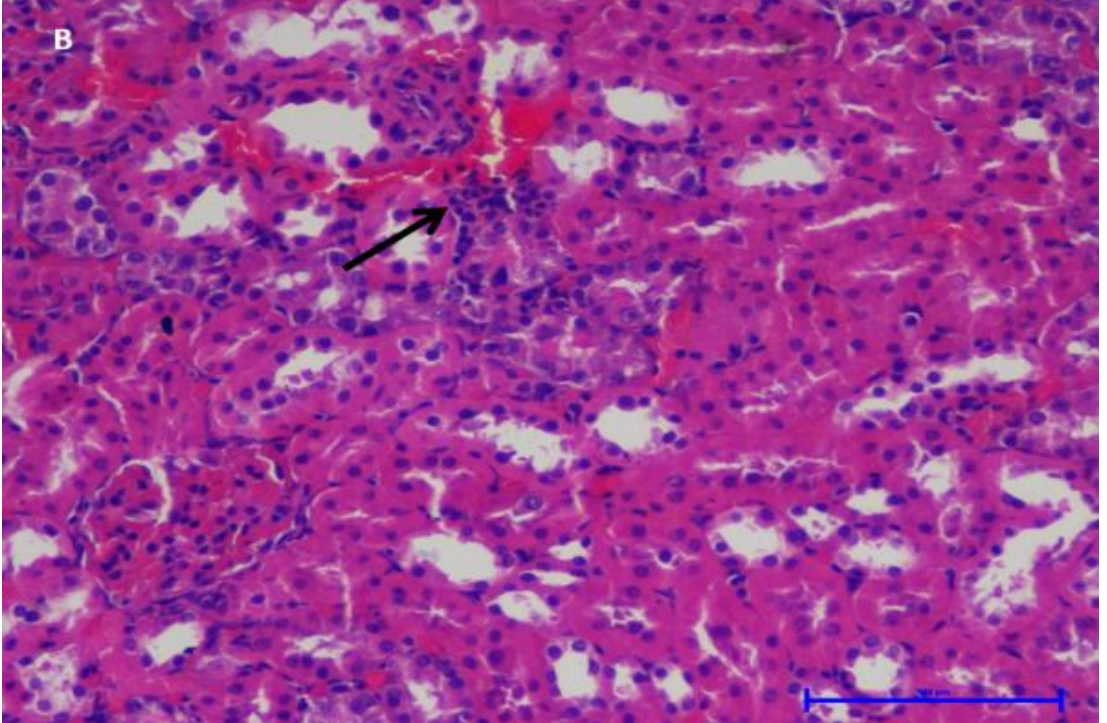
Patolojik proteinli döküntüler, tubuler inflamatuvar infiltrat, tubuler nekroz ve medullar tıkanıklık derecesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında GM grubunda arttığı, TCE uygulamasıyla düştüğü gözlemlenmiştir (Tablo 4.6).

Kontrol grubundan alınan böbrek dokuları incelendiğinde böbrek kapsülünün altındaki korteks bölgesinde normal yapıda renal cisimcikler ile proksimal ve distal kıvrımlı tübüllerin interstisyel alan içerisinde kapillerin varlığı gözlemlendi. Böbrek medullası içerisinde proksimal ve distal tübüller, Henle kulpunun inen ve çıkan segmentleri, toplayıcı tübüller ve interstisyel alan içerisinde kapiller damarların normal olduğu belirlendi. TCE grubuna ait dokuların mikroskopik incelenmesinde böbrek korteksi ve medullasının kontrol grubu ile benzer özelliklerde ve normal yapıda olduğu gözlemlendi. GM grubunda korteks tabakasındaki kapiller damarların genişlediği, vasküler konjesyon, interstisyel alanda hemoraji ve inflamatuvar hücre infiltrasyonlarının varlığı belirlendi. Korteks bölgesinde bulunan proksimal tübüllerin nekrotik alanlar içerdiği, epitel hücrelerin yer yer döküldüğü ve kaybolduğu, tübül lümeninde eozinofilik hücresel artıkların bulunduğu dikkat çekti. GM+TCE grubu incelendiğinde; GM grubunda var olan histopatolojik bulguların kısmen düzeldiği ve neredeyse renal cisimciklerin kontrol grubu ile benzer özellikte olduğu belirlendi. Ayrıca proksimal tübüllerde yer yer vakuolizasyon olmakla birlikte epitel bütünlüğünün korunduğu da tespit edildi.

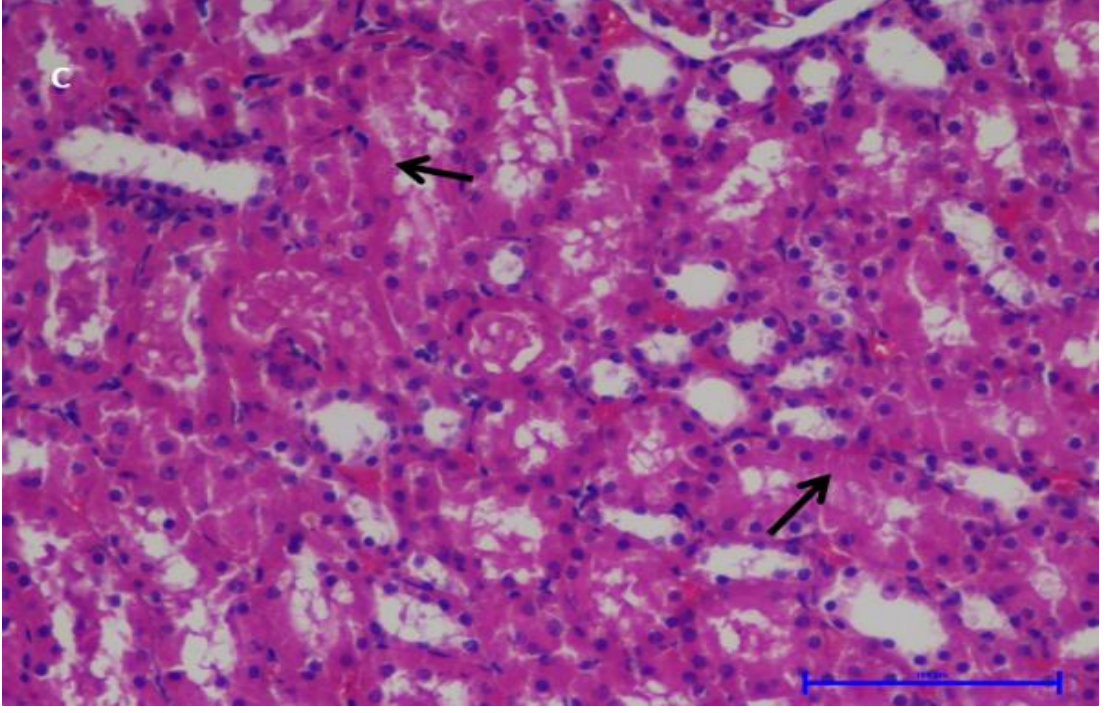




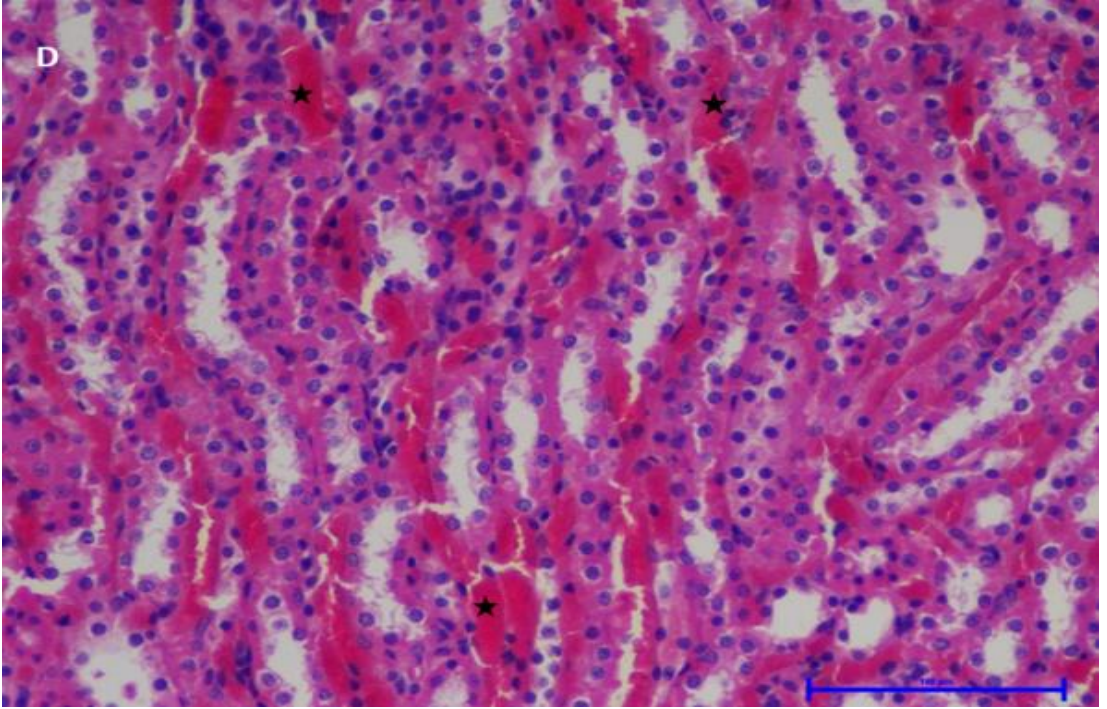
**Şekil 4.6.** Gentamisin grubu böbrek dokusu patolojik proteinli döküntüler  
(ok ile işaretli)



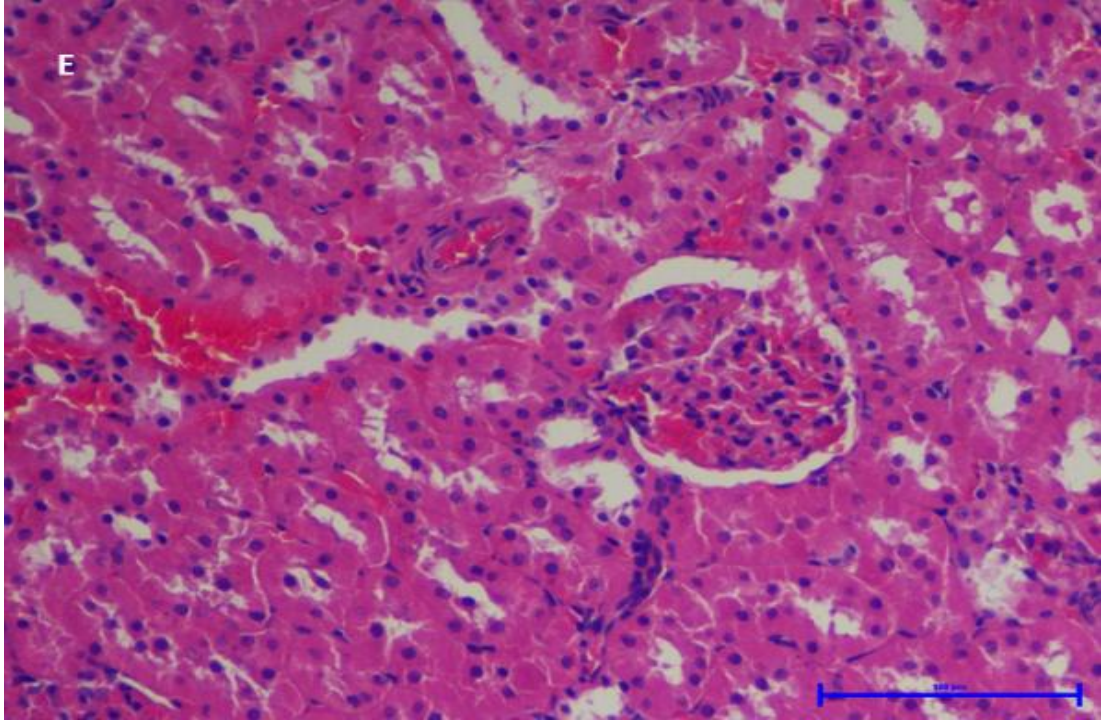
**Şekil 4.7.** Gentamisin grubu böbrek dokusu tubulointerstisyel inflamatuvar infiltratlar  
(ok ile işaretli)



**Şekil 4.8.** Gentamisin grubu böbrek dokusu tübüler nekroz (ok ile işaretli)

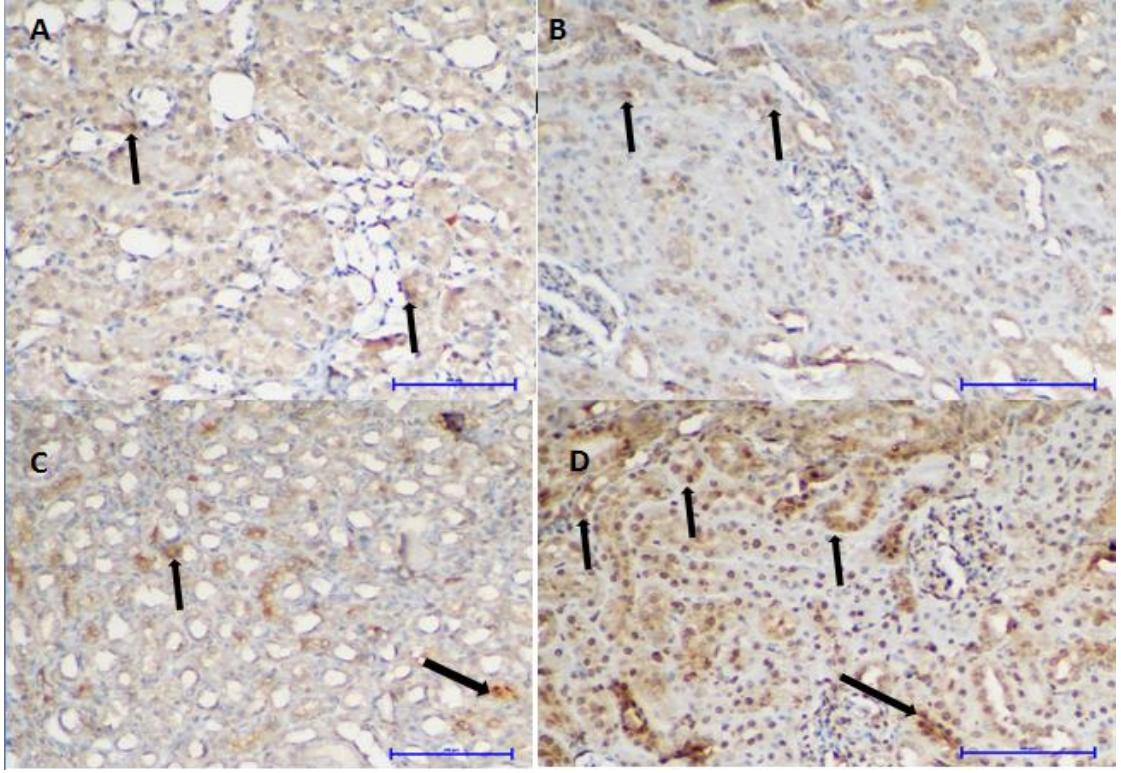


**Şekil 4.9.** Gentamisin grubu böbrek dokusu medullar tıkanıklık (yıldız ile işaretli)



**Şekil 4.10.** Kontrol gurubu normal görünümlü böbrek dokusu

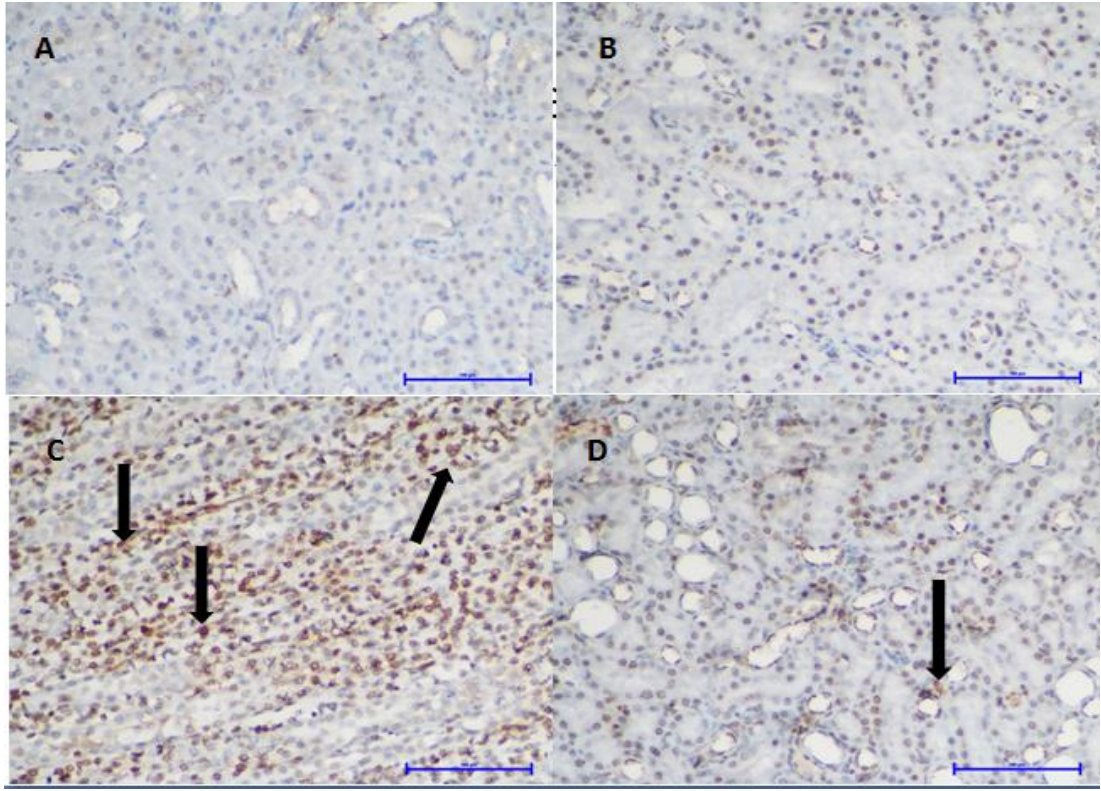
Kontrol ve TCE grubuna ait böbrek dokuları immunohistokimyasal olarak bakıldığında hücrelerin görünümünün normal olduğu belirlendi (Şekil 4.11-A,B). GM grubu (Şekil 4.11-C) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında antiapoptotik gen olan Bcl-2 pozitif olan hücrelerin sayısında azalma olduğu, TCE uygulamasıyla (Şekil 4.11-D) birlikte Bcl-2 pozitif olan hücrelerde artış olduğu belirlendi.



**Şekil 4.11.** Böbrek dokularına ait Bcl-2 görüntüleri (20X)

A: Kontrol grubu, B: TCE grubu, C:Gentamisin grubu, D: Gentamisin+ TCE grubu, ok işaretleri Bcl-2 pozitif hücreler.

Kontrol ve TCE grubuna ait böbrek dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde normal görünümde olduğu belirlendi (Şekil 4.12-A,B). GM grubuyla (Şekil 4.12-C) kontrol grubu karşılaştırıldığında apoptotik gen olan Bax pozitif hücre sayısında artış olduğu, TCE uygulamasıyla (Şekil 4.12-D) beraber Bax pozitif olan hücrelerin sayısında azalma olduğu belirlendi. Korteks tabakasındaki tubul harabiyeti olan bölgelerde tubulusların tubuler nekrozunun fazla ancak apoptozisinin az olduğu, medulla bölgesinde ise apoptotik hücre sayısının fazla olduğu gözlemlendi.



**Şekil 4.12.** Böbrek dokularına ait Bax görüntüleri (20X).

A: Kontrol grubu, B: TCE grubu, C: Gentamisin grubu, D: Gentamisin+ TCE grubu, ok işaretleri Bax pozitif hücreler.

#### 4.TARTIŞMA

Kliniklerde geniş etki spektrumu ve etkilerinin hızlı olmasından dolayı sık kullanılan GM'nin en sık görülen yan etkileri arasında nefrotoksisite yer almaktadır. (Erdem ve ark., 2000; Kayaalp, 2009; Paterson ve ark., 1998). GM kullanımına bağlı olarak gelişen nefrotoksik etki mekanizması henüz kesinlik kazanmamış olmasına rağmen, başta oksijen radikallerinin birikimi olmak üzere birçok faktörün rol oynadığı düşünülmektedir (Morales ve ark., 2002). Genellikle hastalıkların tedavisinde kullanılan kimyasal ajanların oksidatif strese sebebiyet verdiği ve komplikasyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Organizmada metabolize olurken ROS'ların oluşumu çok fazla tetiklenmektedir (Ateşşahin ve ark., 2003). Oluşan ROS'lar membran lipitlerine, nükleik asitlere ve hücre içi proteinlere etki ederek, fonksiyon ve yapıları üzerinde değişiklik ve hücre hasarlarına neden olmaktadır (Özcan ve ark., 2015). Biyolojik sistemlerde oksidanlar (ROS'lar) ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. ROS'lar rutin metabolizma sonucunda ya da organel yaşlanması, iskemi, inflamasyon, kimyasal ajanlara maruziyet ve radyasyon gibi etkenlere bağlı olarak üretilen yüksek reaktiviteye sahip moleküllerdir (Özcan ve ark., 2015).

Deney hayvanlarında yapılan bir çok çalışmada akut böbrek hasarı oluşturmak için GM kullanılmakta ve oluşan nefrotoksik etkinin şiddetini azaltabilmek için farklı maddelerin etkileri araştırılmaktadır (Ataman ve ark., 2018; Yılmaz, 2014). Farklı bitkilerden ve hayvanlardan elde edilen ekstraktlar başta olmak üzere antioksidan özellik gösterdiği düşünülen çoğu ajan deneysel GM nefrotoksisitesinde kullanılmıştır (Adil ve ark., 2016; Aldahmash ve ark., 2016; Karabulut, 2016; Özsayın, 2019; Shifow ve ark., 2000; Yarijani ve ark., 2016; Yılmaz, 2014).

Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nın, membranların iyon alışverişine etki ederek iyon dengesini ve enzim aktivitelerini bozduğu, membran geçirgenliğini değiştirdiği, DNA da kırılmalara ve baz değişikliklerine neden olduğu bildirilmektedir (Erçin ve ark., 2019). GM ile oluşturulan nefrotoksisitede MDA seviyelerindeki artış bir çok çalışmada gösterilmiştir (Nishat ve Ather, 2018; Ulutaş ve ark., 2006). Yapılan farklı çalışmalarda da GM'nin SOD gibi vücutta antioksidan enzim aktivitelerini azaltarak redoks tepkimelerini bozduğu bildirilmiştir. ROS'ların lipid peroksidasyonuna yani MDA üretimine neden olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (Randjelovic ve ark., 2017; Yadav ve ark., 2017).

Özsayın (2019)'ın yapmış olduğu bir çalışmada ratlarda GM ile nefrotoksisite oluşturularak, *C. nevieum* bitkisinin yağ, su ve etanol ekstraktları uygulanmış ve yapılan analizlerde tüm ekstraktlarda MDA, serum üre ve kreatinin düzeylerinde anlamlı bir şekilde azalma olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca histopatolojik incelemede dokulardaki bozuklukların yeniden eski haline geldiği belirlenmiştir. Karabulut (2016)'un yaptığı diğer bir çalışmada ratlarda oluşturulan GM nefrotoksisitesinde GM ile birlikte L-arginin kombinasyonunda artmış olan MDA ve oksidatif stres düzeyinde azalma, azalmış olan SOD düzeyinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular sonucunda GM nefrotoksisitesi sonucunda elde edilen MDA düzeyindeki artış ve SOD düzeyindeki azalmanın TCE kullanıldığında aksi yönde değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir.

Homeopatik bir ajan olan TCE *Tarantula cubensis* örümceği zehrinin "Pharmacopeia Germanica" kurallarına göre işlenerek ve alkol ile dilüe edilmesiyle elde edilmektedir. TCE veteriner hekimlikte ayak çürükleri, ülser, apseler, her türlü yangılı ve nekrotik olgularda kan akımını ve emilimi sağlayarak tek dozda çok hızlı bir iyileşme sağladığı gözlemlenmiştir. Bilinen etkileri arasında rejenerasyon, demarkasyon, rezorbsiyon, antifilojistik etkilerinin de bulunduğu belirtilmektedir (Kaçar ve ark., 2007).

Karabacak ve ark. (2015)'nin ratlarda yapmış olduğu bir çalışmada aflatoksinin böbrek, karaciğer ve diğer organlardaki toksik etkileri üzerine TCE'nin etkilerini araştırmışlardır. Aflatoksin verilen ratların böbrek dokusunda MDA

seviyesinin yükseldiği, TCE verilmesiyle MDA seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir.

Özbek Şebin (2019)'in yapmış olduğu bir çalışmada renal iskemik perfüzyonunda TCE incelenmiş ve histopatolojik olarak iyileşme sağlandığı belirlenmiştir. Bununla beraber TCE'nin iskemik perfüzyona bağlı oksidatif stresin etkilerini ve inflamasyonu azalttığını saptamışlardır. Shifow ve ark. (2000)'nın, deney hayvanlarına 8 gün boyunca 80 mg/kg ip. olarak GM verdiklerinde kandaki üre ve kreatinin miktarlarının anlamlı bir artış gösterdiğini melatonin kullanımının GM nefrotoksitesi üzerinde koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda GM ile oluşturulan nefrotoksite modelinde GM grubunda oluşan oksidatif strese bağlı olarak MDA seviyesinde artış gözlemlendiği buna rağmen GM+TCE grubunda MDA seviyesinin azalarak oluşan oksidatif stresi azalttığını gözlemlenmiştir. Çalışmamızın bir diğer değerlendirilme kriteri olan SOD seviyesinde GM verilen grupta belirgin bir düşüş gözlemlendiği buna rağmen GM+TCE kombinasyonu verilen grupta ise SOD seviyesinin artarak hücrelerdeki ROS'ların uzaklaştırıldığı gözlenmiştir. Bununla beraber renal bozukluğun belirteçlerinden olan serum üre ve kreatinin seviyelerinde GM grubunda artışlar belirlenirken GM+TCE kombinasyonu grubunda serum üre ve kreatinin düzeylerinde anlamlı bir düşüş gözlenmiştir.

Veljković ve ark. (2016), GM'nin böbrek morfolojisini bozduğunu, bundan dolayı böbrek tübüllerinde nekroz, sitoplazmada dejenerasyonlar şekillendirdiğini, interstisyel inflamasyona neden olduğunu belirtmişlerdir. Patil ve ark. (2010), GM'nin proksimal tübül hasarına yol açtığını ve böbrek sirkülasyonunda anormalliklere neden olduğunu, glomerular filtrasyon hızının GM verilen grupla ile verilmeyen gruba oranla %50 oranında azaldığını gözlemlenmiştir. Yılmaz (2014), GM uygulaması yapılan deney hayvanlarının renal dokularının histopatolojik incelemesinde ATN ve atrofileri gözlemlenmiştir. Tübül epitel hücrelerinde dejeneratif değişikliklerin olduğunu belirtmişlerdir. Tübül epitelyum hücrelerinin döküldüğünü, renal cisimciklerde kapsül boşluğunun bozulduğunu da gözlemlenmiştir.



Çalışmamızda renal dokuların histopatolojik incelemesinde GM grubunda ATN'in oluştuğu, patolojik proteinli döküntülerin şekillendiği, tubulointerstisyel inflamatuvar infiltratlarda artışların ve medullar tıkanıklıkların şekillendiği gözlemlenmiştir. GM+TCE kombinasyonu kullanılan grupta ise oluşan bu patolojik bulguların hafiflediği gözlemlenmiştir.

Apoptozun hücredeki önemi; istenmeyen, bozuk ya da zararlı olan hücrelerin yangısal yanıtı beklemeden yok edilmesini ve organizmada homeostazın devamlılığının sürdürülmesine katkı sağlamasıdır. Dokulardaki hücrelerin sırayla yok edildiği ölüm şekli olan apoptoz, önemli patolojilerin tedavisinde kullanılan en önemli mekanizmalardan biridir. Apoptozis olayında çok sayıda faktör rol oynamaktadır. Bu faktörler içerisinde genler büyük rol almaktadır. Bu gen ailesi içinde en önemli olan genler arasında Bcl-2/Bax ve kaspaz genleri bulunmaktadır (Ataş, 2019).

Kalkan ve ark. (2012)'ı GM ile nefrotoksisite oluşturulan ratların böbrek dokularında *Panax ginseng*'in apoptotik aktivitesini incelemişlerdir. *Panax Ginseng* uygulanan böbreğin Bax protein düzeylerinin GM grubundaki hayvanların böbrek dokularına kıyasla azaldığını göstermiştir. Bcl-2 geninde ise belirgin bir artışa neden olduğu belirlenmiştir.

Ghasemi-Dizgah ve ark. (2017)'ı TCE'nin, kaspaz-3 aracılı apoptozisi aktive ederek insan kanser hücrelerinde seçici olarak inhibe etmesini araştırmışlardır. Bu araştırmada TCE'nin tümör hücrelerinde yüksek düzeyde sitotoksik etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada TCE'nin kaspaz-3 aktivasyonunu önemli derecede indüklediği ve hücrelerde DNA parçalanmasına neden olduğunu göstermişlerdir. Kaspaz-3 ve bunun diğer gruplarının, apoptoz ve nekrozun indüklenmesinde rol oynayan önemli proteinler olduğu belirtilmiştir. TCE'nin kaspaz-3 protein aktivasyonu yoluyla apoptoza neden olduğunu belirtmişlerdir.

Uysal (2001)'ın ratlarda unilateral testiküler torsiyonu sonucunda oluşan iskemi sonucu dokularda oluşan apoptotik değişiklikleri incelemek amacıyla Bcl-2 proteinini değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda iskemi sonucu oluşan

oksidatif strese bağlı ortamda Bcl- 2 genin baskılanması ile beraber apoptotik olayların başladığı gözlemlenmiştir.

Yaptığımız alışmada GM ile oluşturulan nefrotoksisitede GM verilen grupta anti-apoptotik gen olan Bcl-2 geninde azalma olduğu bununla birlikte apoptozisi indükleyen Bax geninde de artışın olduğu gözlemlenmiştir. GM+TCE uygulanan grupta Bcl-2 geninde artış, Bax geninde ise anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Böbrek dokusunun korteks ve medulla tabakasında bulunan hücrelerde farklılıklar belirlenmiştir. Korteks tabakasındaki tubul hasarı olan bölgelerde tubulusların nekrozunun fazla ancak apoptozisinin az olduğu, medulla kısmında ise apoptotik hücre sayısının fazla olduğu gözlemlenmiştir.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda nefrotoksisite oluşturmak amacıyla GM kullanılmıştır. Elde ettiğimiz bulgular GM uygulamasının renal hasara yol açtığını ve bu hasara oksidatif stresin katkıda bulunduğunu desteklemektedir. GM ile oluşturulan nefrotoksisite çalışmalarında antioksidan etkili olduğu düşünülen farklı ajanlar kullanılmış olmasına rağmen TCE uygulaması ilk kez denenmiştir.

Çalışmamızda GM verilerek oluşturulan böbrek hasarına karşı TCE'nin koruyucu etkisi biyokimyasal, immünohistokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmiştir. Sonuç olarak GM ile beraber verilen TCE'nin GM'nin oluşturacağı böbrek hasarını önlemede, antioksidan ve antiapoptotik etki göstererek hasarın önüne geçebileceği ve bu bulguların daha fazla çalışma ile desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Bu çalışma GM ile oluşturulan nefrotoksisite üzerine TCE'nin koruyucu etkisini gösteren ilk çalışma olması nedeniyle bundan sonra yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

## KAYNAKLAR

- Adil, M., Kandhare, A. D., Dalvi, G., Ghosh, P., Venkata, S., Raygude, K. S., Bodhankar, S. L. (2016). Ameliorative Effect of Berberine Against Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Rats via Attenuation of Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis and Mitochondrial Dysfunction. *Ren Failure*, 38(6), 996-1006.
- Akdemir, N. ve Birol, L. (2005). *İç Hastalıkları ve Hemşirelik Bakımı Kitabı* (2.Baskı). Ankara.
- Akkuş, D. (1995). *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Konya: Mimoza Yayınları.
- Akpolat, T., Utaş, C., Süleymanlar, G. (1996). *Nefroloji El Kitabı*. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul, 1-23.
- Aksakal, M. ve Yüce, A., (2007). Ratların Karaciğer ve Testis Dokusundaki Antioksidan Aktivite Üzerine Nar Suyunun Etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 21(6), 253–256.
- Aktaş, M., Değirmenci, U., Yıldırım, H., Ercan, Kul, S., Tamer, L., Atik, U. (2004). Malondialdehit Ölçümünde HPLC ve Spektrofotometrik Yöntemlerin Karşılaştırılması. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 4, 365-370.
- Aldahmash, B. A., El-Nagar, D. M., Ibrahim, K. E. (2016). Reno-protective Effects of Propolis on Gentamicin Induced Acute Renal Toxicity in Swiss Albino Mice. *Nefrologia*, 36(6), 643-652.
- Ali, B. H. (1995). Gentamicin Nephrotoxicity in Humans and Animals: Some Recent Research. *General Pharmacology*, 26, 1477-1487.
- Altan, N., Dinçel, A., Koca, C. (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, 31(2), 51–56.
- Altınışik, M. (2001). Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar. 10 Haziran 2019 tarihinde <https://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01b.pdf> adresinden erişildi.
- Anderson, R. J. and Barry, D. W. (2004). Clinical and Laboratory Diagnosis of Acute Renal Failure: *Best Practices Research Clinical Anaesthesiology*, 18, 1-20.
- Anonim. (2020). <https://hompath.com/blog/tarentula-hispanica-tarentula-cubensis/> adresinden 01.08.2020 tarihinde erişildi.
- Antar ,V. (2005). Bir Genel Kaspaz İnhibitörü Olan qvd-oph'nin Nöroprotektif Etkilerinin Deneysel Spinal Kord Travması Modelinde İncelenmesi. (Uzmanlık Tezi). [http://istanbul.saglik.gov.tr/w/tez/pdf/beyin\\_sinir\\_cerrahi/dr\\_veysel\\_antar.pdf](http://istanbul.saglik.gov.tr/w/tez/pdf/beyin_sinir_cerrahi/dr_veysel_antar.pdf)
- Arıncı, K. ve Elhan, A. (1997). *Anatomi*. (2. Baskı). İstanbul: Güneş Kitabevi. 397-398.
- Arınsöy, T., Güngör, Ö., Koçyiğit, İ. (2017). *Böbrek Fizyopatolojisi*. İstanbul: Reaktif. (1): 30-31.
- Arlab. (2003). Malondialdehid analizi. <http://web.deu.edu.tr/arlab/arlab/calisma/protokoller/mda.pdf> adresinden erişildi.
- Armstrong, D.A. (1998). *Methods in Molecular Biology*. New Jersey: Toronto Humana Pres.
- Ashkenazi, A. and Dixit, V. M. (1998). Death receptors: signaling and modulation. 281 (538): 1305-8.
- Ataman, N., Mert, H., Yıldırım, S., Mert, N. (2018). The Effect of Fucoidan on Changes of Some Biochemical Parameters in Nephrotoxicity Induced by Gentamicin in Rats. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 65, 9-14.

- Ataş, M. V. (2019). Böbrek Kanseri Hücre Hattında Betülinik Asidin Apoptoz İlişkili Genlerin Ekspresyonları Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>. (560312)
- Ateşşahin, A., Karahan, İ., Yılmaz, S., Çeribaşı, A. O., Pirinççi, İ. (2003). The Effect of Manganese Chloride on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Pharmacol Research*, 48, 637-642.
- Barclay, M.L., Begg, E.J., Hickling, K.G. (1994). What is the Evidence for Once-Daily Aminoglycoside Therapy. *Clinical Pharmacokinet*, 27(1), 32-48.
- Başar, G. (2014). Homeopati: Doğal, Yanetkisiz ve Bütünsel Bir Tedavi Yöntemi. *Türkiye Klinikleri Journal of Family Medicine Special Topics*, 5, 41-45.
- Bellamy, C. O., Malcomson, R. D., Harrison, D. J., Wyllie, A. H. (1995). Cell Death in Health and Disease: The Biology and Regulation of Apoptosis. *Cancer Biology*, 6, 3-16.
- Bennett, W.M. (1986). Comparison of Cyclosporine Nephrotoxicity with Aminoglycoside Nephrotoxicity. *Clinical Nephrology*, 25(1), 126-129.
- Brugere, C.M., Nowacki, W., Gueux, E., Kuryszko, J., Rock, E., Rayssiguier, Y., Mazur, A. (1999). Accelerated Thymus Involution in Magnesium-Deficient Rats is Related to Enhanced Apoptosis and Sensitivity to Oxidative Stress. *British Journal of Nutrition*, 81, 405-411.
- Can, C., Şen, S., Neşe, B., Işık, T. (2000). Protective Effect of Oral L-arginine Administration on Gentamicin Induced Renal Failure in Rats. *European Journal of Pharmacology*, 390, 327-34.
- Choi, W. S., Lee, E. H., Chung, C. W. (2001). Cleavage of Bax is Mediated by Caspase Dependent or Independent Calpain Activation in Dopaminergic Neuronal Cells: Protective Role of Bcl-2. *Journal of Neurochemistry*, 77, 1531-1541.
- Chow, C. K. (1991). Vitamin E and Oxidative Stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 11, 21-232.
- Cohen, J. J. (1993). Programmed Cell Death and Apoptosis in Lymphocyte Development and Function. *American College of Physicians, CHEST*, 103, 99-101.
- Corbett, J. V. (2008). *Laboratuvar Testleri ve Hemşirelik Tanıları ile Tanı Prosedürleri*. (7. Ed.), 90-107
- Crowe, M. J., Bresnahan, J. C., Shuman, S. L., Masters, J. N., Beattie, M. S. (1997). Apoptosis and Delayed Degeneration After Spinal Cord Injury in Rats and Monkeys. *Nature Medicine*, 3, 73-76.
- Curley, M. and Harmon, P. (2001). Critical Care Nursing of Infants and Children. *University of Pennsylvania Scholarly Commons*, 369-92.
- Çavuşoğlu, H. (2015). *Çocuk Sağlığı Hemşireliği*, (2. Baskı), Ankara: Sistem Ofset Basımevi.
- Çaycı, M. K. (2006). *Hypericum perforatum ve Tarantula cubensis Özülerinin Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Mide Mukozası Hasarına Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi*, (Doktora Tezi). <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/> (182041)
- Çorum, O., Er, A., Dik, B. (2016). Investigation of The Effect of Tarantula Cubensis Extract on Acute Phase Response, *Acta Scientiae Veterinariae*, (44), 1414.
- David, J. (2005). Tietz Basic Principles in Clinical Chemistry. *Klinik kimyada temel ilkeler*. (Aslan,D., Edt.), Türkiye, Palme Yayıncılık, 308-722.
- Deamer, R.L. and Dial, L.K. (1996). The Evolution of Aminoglycoside Therapy: A Single Daily Dose. *American Family Physician*, 53(5), 1782-1786.

- Dik, B., Er, A., Çorum, O. (2014). Koyunlarda *Tarantula Cubensis* Alkolik Ekstraktının (Theranekron®) Serum Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünlerine Etkisi, *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 30(2), 68-71.
- Dolapçioğlu, K., Doğruer, G., Özsoy, S., Ergün, Y., Çiftci, S. (2013). Theranekron for Treatment of Endometriosis in a Rat Model Compared with Medroxyprogesterone Acetate and Leuprolide Acetate. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 170, 206-210.
- Dökmeci, İ. (2000). *Farmakoloji temel kavramlar*. (1.Baskı), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 883-91.
- Dündar, Y. ve Aslan, R. (1999). Oksidan Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü, *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 9(1-2), 32-39.
- Edelstein, C. L. and Schrier, R. W. (2003). Acute Renal Failure: Patogenesis, Diagnosis and Management. *Renal and Electrolyte Disorders*. (6th ed.), 401-433.
- Ektigenç, R. ve Şenol, S. (2013). Çocuklarda Üriner Sistem Hastalıkları ve Hemşirelik Bakımı. *Pediatric Hemşireliği*, Ankara: Akademisyen Tıp Kitabevi, 581-606.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495-516.
- Emma, P.K. and Bennett, M.R. (2014). Mitochondrial DNA Damage and Atherosclerosis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 25(9), 48-487.
- Erçin, U., Bilgihan, A., Erkan, A.F., Yücel, H. (2019). New Parameters of Coronary Artery Diseases: Oxidative Stress Markers. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 17(1), 48-55.
- Erdem, A., Gündoğan, N.U, Usubütün, A., Kılınç, K., Erdem S.R., Kara, A., Bozkurt, A. (2000). The Protective Effect of Taurine Against Gentamicin-Induced Acute Tübular Necrosis in Rats. *Nephrol Dial Transplant*, 15, 1175-1182.
- Erdoğan, B. B. (2003). Apoptozis Mekanizmaları: Tümör Gelişiminde Fas-FasL Bağımlı Apoptozis. *Akciğer Arşivi*, 4, 165-174.
- Erel, Ö. (2004). A Novel Automated Method to Measure Total Antioxidant Response Against Potent Free Radical Reactions. *Clinical Biochemistry*, 37, 112-119.
- Erseçkin, V. (2019). Ratlarda Gentamisin ile Oluşturulan Nefrotoksisite Üzerine Ferulik Asitin Etkisinin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>. (568132)
- Ferguson, M.A., Vaidya, V.S., Bonventre, J.V. (2008). Biomarkers of Nephrotoxic Acute Kidney Injury. *Toxicology*, 245(3), 182-193.
- Frankfurt, O.S. and Krishan, A. (2001). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ELISA for the Specific Detection of Apoptotic Cells and Its Application to Rapid Drug Screening. *Journal of Immunological Methods*, 253, 133-144.
- Ganong, W.F. (1985). Formation and Excretion of Urine. *Lange Medical Publications*, 8, 572-574.
- Ghasemi-Dizgah, A., Nami, B, Amirmozafari, N. (2017). *Tarantula cubensis* Venom (Theranekron®) Selectively Destroys Human Cancer Cells via Activating Caspase-3-Mediated Apoptosis. *Acta Medica Internationala*, 4(1), 74-80.
- Gönül, R., Koenhemi, L., Aydın, H. (2015). *Tarantula cubensis* Ekstraktının Koyunlardaki Elektrokardiyografik Durum ve İz Elementler Üzerindeki Etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 41(1), 79-83.
- Green, D.R. and Reed, J.C. (1998). Mitochondria and apoptosis. *Science*, 281(5381), 1309-1312.

- Gutteridge, J.M.C., and Halliwell. B. (1990). The Measurement and Mechanism of Lipid Peroxidation in Biological Systems. *Trends Biochem Sciences*, 15, 129-135.
- Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2001). Tıbbi Fizyoloji.(10.Baskı). İstanbul: Nobel Kitabevi, 900- 909, 22-24.
- Gültekin, N., Karaoğlu, K., Küçükateş, E. (2008). Hücrede Apoptoz ve Sağkalım Mekanizmalarının Keşfedilmesi ve Yeni Potansiyel Tedavi Stratejileri. *Türk Kardiyol Derneği Arşivi*, 36(2), 120-130.
- Harris, E. D. (1992). Regulation of Antioxidant Enzymes. *Faseb Journal*, 6, 2675–2683.
- Hatipoğlu, S. (1996) Homeopati Bazı Homeopatik Maddeler ve Veteriner Hekimlikte Kullanım Alanları. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi*, 8, 47-53.
- Hekim, N. (2003). Apoptosis. *Kalıtısal Hastalıklara Moleküler Tıp Açısından Bakış Sempozyumu*. İstanbul, 115-140.
- Hıkım, A. P. S., Wang, C., Leung, A. R., Swerdloff, S. (1995). Involvement of Apoptosis in the Induction of Germ Cell Degeneration in Adult Rats After Gonadotropin Releasing Hormone Antagonist Treatment. *Endocrinology*, 136(6), 2770-2775.
- İlhan, F. (2018). Homeopatiyle Sağlıklı Kalmak. *Journal of Traditional Medical Complementary Therapies*, 1, 29-34.
- James, S. and Mitchel, G. (2006). Böbrek Fizyolojisi ve Su Elektrolitleri ve Asit Bazlı Metabolizma Bozuklukları. *Tietz klinik kimya ve moleküler tanılama kitabı*. (Editörler: Edward, R., David, E.) Yeni Delhi: Elsevier Inc., 1747-76.
- Junqueira, L. C., and Carneiro, J. (2009). *Temel Histoloji: Text ve Atlas*. (S. Solakoğlu, Y. Aytekin Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 332-42.
- Kaçar, C., Zonturlu, A.K., Oral, H., Yıldız, S., Arı, U.Ç. (2007). İneklerde Erken Puerperal Dönemde Theranekron® Uygulamalarının Uterus İnvolyasyonu ve Vajinal Akıntı Üzerine Etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(1), 11-15.
- Kader, C., Sünbül, M., Daş, Y. K., Yarım, M., Bedir, A., Karaca, E., ... ve Özaras, R. (2017). Telbivudine Attenuates Gentamicin-Induced Kidney Injury in Rats. *International journal of antimicrobial agents*, 49(5), 595-602.
- Kalkan, Y., Asena, K., Kapakin, T., Kara, A., Atabay, T., Karadeniz, A., Şimşek, N., ve ark. (2012). Protective Effect of *Panax ginseng* Against Serum Biochemical Changes and Apoptosis in Kidney of Rats treated with Gentamicin Sulphate. *Journal of Molecular Histology*, 43, 603–613.
- Karabacak, M., Eraslan, G., Kanbur, M., Sarıca, Z.S. (2015). Effects of *Tarantula cubensis* D6 on Aflatoxin Induced Injury in Biochemical Parameters in Rats. *Homeopathy*, 104, 205-210.
- Karabulut E. (2016) Gentamisinle Nefrotoksisite Sıçanlarda L-argininin Koruyucu Etkisinde Antioksidan Mekanizmaların Rolü. (Doktora Tezi). [https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi\(445368\)](https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi(445368))
- Karadeniz, B. ve Tosun, D. (2005). Çay ve çay fenoliklerinin antioksidan aktivitesi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1), 78-83.
- Kaya, D. G. (2010). *Akut Böbrek Hasarında Erken Tanı Göstergeleri*. (Uzmanlık Tezi). [https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi\(267762\)](https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi(267762))
- Kayaalp, O. (2009). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Ankara: Pelikan Yayıncılık.

- Kenneth, B., Beckman, K. B., Ames, B. N. (1998). The Free Radical Theory of Aging Matures. *Physiologic Reviews*, 78(2), 547-581.
- Koç, M., Arıkan, H., Odabaşı, Z., Akoğlu, E. (2006). İskemik ve Toksik Akut Tübüler Nekroz Patofizyolojisi. *Türk Nefroloji Diyal ve Transplant Dergisi*, 15, 13-24.
- Kopani, M., Michalka, P., Celec, P., Danisovic, L., Biro, C. (2006). Oxidative Stress and Electron Spin Resonance. *Clinica Chimica Acta*, 364, 61-66.
- Kumar, R., Warrens, A. N., Herbert, P. E. (2005). An Introduction to Death Receptors in Apoptosis. *International Journal of Surgery*, 3, 268-277.
- Lameire, N. H., Flombaum, C. D., Moreau, D., Ronco, C. (2005). Acute Renal Failure in Cancer Patients. *Annals of Medicine*, 37(1),13-25.
- Li, M., Maderdrut, J. L., Lertora, J. J., Arimura, A., Batuman, V. (2008). Renoprotection by Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide in Multiple Myeloma and Other Kidney Diseases. *Regulatory Peptides*, 145, 24-32.
- Li, M., Ona, V. O, Chen, M., Kaul, M., Tenneti, L., Zhang, X., Stieg, P. E., Lipton, S. A., Friedlander, R. M. (2000). Functional Role and Therapeutic Implications of Neuronal Caspase Land in a Mouse Model of Traumatic Spinal Cord Injury. *Neuroscience*, 99, 333-342.
- Liu, X., Shi, Y., Birnbaum, M. J., Ye, K., Jong, R. D., Oltersdorf, T., Giranda, V. L., Luo, Y. (2006). Quantitative Analysis of Antiapoptotic Function of akt in akt1 and akt2 Double Knock Out Mouse Embryonic Fibroblast Cells Under Normal and Stressed Conditions. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(42), 31380-31388.
- Lotfollahzadeh, S., Alizadeh, M.R., Mohri, M., Mokhber-Dezfouli, M.R. (2012). The Therapeutic Effect of *Tarantula cubensis* Extract (TheraneKron<sup>(R)</sup>) in Foot and Mouth Disease in Cattle: a Randomised Trial in an Endemic Setting. *Homeopathy*, 101, 159-164.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. (1951). Protein Measurement with Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-75.
- Lu, J., Ashwell, K., Ken, W. S., Waite, P. (2000). Advances in Spinal Cord Injury: Role of Apoptosis. *Spine*, 25, 1859-1866.
- MacFarlane, M. (2003). TRAIL Induced Signalling and Apoptosis. *Toxicol Letters*, 139, 89-97.
- MacFarlane, M., Bratton, S.B., Cain, K., Cohen, G.M. (2000). Protein Complexes Activate Distinct Caspase Cascades in Death Receptor and Stress Induced Apoptosis. *Experimental Cell Research*, 256(1), 27-33.
- Maden, M. ve Köse, S. İ. (2015). Üriner Biyobelirteçler. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 6(1), 7-18.
- Majno, G. and Joris, I. (1995). Apoptosis, Oncosis and Necrosis: An Overview of Cell Death. *The American Journal of Pathology*, 146, 3-15.
- Mak, T. (2003). The E. Donnall Thomas Lecture Apoptosis: "This Death that Makes Life Live". *Biol. Blood Marrow Transplant*, 9, 483-8.
- Maldonado, P. D., Barrera, D., Rivero, I., Mata, R., Medina Campos, O. N., Hernandez Pando, R. (2003). Antioxidant S-allylcysteine Prevents Gentamicin Induced Oxidative Stres and Renal Damage. *Free Radical Biology Medicine*, 35, 317-324.
- Mangan, D. F., Welch, G. R., Wahl, S. (1991). Lipopolysaccharide Tumor Necrosis Factor Alpha and IL-1 Beta Prevent Programmed Cell Death (Apoptosis) in Human Perpheral Blood monocytes. *Journal of Immunology*, 146, 1541-1546.



- Mazzon, E., Britti, D., Sarro, A. D., Caputi, A. P., Cuzzokreatinin, S. (2001). Effect of N-acetylcysteine on Gentamicin Mediated Nephropathy in Rats. *European Journal of Pharmacology*, 424, 75-83.
- Mehmet, H. (2006). Detection of Mitochondrial Events in Apoptosis. *Apoptozis, Hastalıklarla İlişkisi ve Güncel Belirleme Yöntemleri Kursu, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. İzmir.
- Memişoğulları, R. (2005). Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.
- Mıstık, R. (2000). Aminoglikozid Antibiyotikler ve Günde Tek Doz Kullanımları. *Klinik Dergisi*, 13, 43-45.
- Mingeot-Leclercq, M. P. and Tulkens, P. M. (1999). Aminoglycosides: Nephrotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother*, 43(5), 1003-1012.
- Miyashita, T., Krajewski, S., Krajewsko, M. (1994). Tumor Suppressor p53 is a Regulator of Bcl-2 Bax Gene Expression in Vivo. *Oncogene*, 9, 1799- 1805.
- Morales, A. I., Buitrago, J. M., Santiago, J. M., Fernández Tagarro, M., López Novoa, J. M., Pérez-Barriocanal, F. (2002). Protective Effect of Trans-Resveratrol on Gentamicin Induced Nephrotoxicity. *Antioxid Redox Signal.*, 4, 893-98.
- Mycek, M. J. and Howland, R. D. (2004). *Lippincott Illustrated Review of Pharmacology*. (3rd ed.). Philadelphia: Williams & Wilkins.
- Newton, K. and Strasser, A. (1998). The Bcl-2 Family and Cell Death Regulation. *Current Opinion in Genetics and Development*, 8, 68-75.
- Nishat, F. and Ather, S. (2018). Renoprotective and Antioxidant Effects of Coleus Forskohlii Against Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Albino Wistar Rats. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 56, 67-84.
- Norbury, C. J. and Hickson, I. D. (2001). Cellular Responses to DNA Damage. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41, 367-401.
- Öktem, S., Özhan, M. H., Özol, D. (2001). Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, 2(1), 91- 95.
- Özbek Şebin, S. (2019). Sıçan Böbrek İskemi Reperfüzyon Modelinde *Tarantula cubensis* Ekstraktının Etkileri. (Doktora Tezi). <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>. (547419)
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z. (2015). Oxidative Stress and Its Impacts on Intracellular Lipids, Proteins and DNA. *JCEI*, 6, 331-36.
- Özelsancak, R. (2016). Ödem: Nedenleri, Patofizyolojisi ve Tedavisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(1), 97-112.
- Özsayın, G. H. (2019). Gentamisin ile Sıçanlarda Oluşturulan Nefrotoksisite Üzerinde Cyclotrichium Niveum Ekstresinin Koruyucu Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi). <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>. (599566)
- Öztürk, F. (2002). Apopitoz. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(2), 143-148.
- Parlakpınar, H., Örum, M.H., Acet, A. (2013). İlaça Bağlı Nefrotoksisitede Serbest Oksijen Radikalleri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 27(1), 51-56.
- Paterson, D.L., Robson, J.M., Wagener, M.M. (1998). Risk Factors for Toxicity in Elderly Patients Given Aminoglycosides Once Daily. *Journal of General Internal Medicine*, 13, 735-739.

- Patil, C. R., Jadhav, R. B., Singh, P. K., Mundada, S., Patil, P. R. (2010). Protective Effect of Oleanolic Acid on Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Rats. *Phytotherapy Research*, 24, 33-37.
- Patzer, L. (2008). Nephrotoxicity as a Cause of Acute Kidney Injury in Children. *Pediatric Nephrology*, 23(12), 2159-2173.
- Pekmezci, D. ve Gültiken, N. (2015). Homeopatinin Prensipleri ve Veteriner Hekimlikte FKullanımı, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(1), 49-56.
- Pfaller, W. And Gstraunthaler, G. (1998). Nephrotoxicity Testing in Vitro What We Know and What We Need to Know. *Environ Health Perspect*, 106(2), 559-569.
- Puppel, K., Kapusta, A., Kuczyńska, B. (2015). The Etiology of Oxidative Stress in the Various Species of Animals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(11), 2179-2184.
- Raij, L. and Keane, W.F. (1985). Glomerular Mesangium: Its Function and Relationship to Angiotensin II. *The American Journal of Medicine*, 79, 24-30.
- Randjelovic, P., Veljkovic, S., Stojiljkovic, N., Sokolovic, D., Ilic, I. (2017). Gentamicin Nephrotoxicity in Animals: Current Knowledge and Future Perspectives. *EXCLI J.*, 24(16), 388-99.
- Rang, H. P., Dale, M.M., Ritter, J.M. (1999). *The Kidney Pharmacology*. London: Chuchill Livingstone.
- Ricos, C., Jimenes, C. V., Hernandez, A. (1994). Biological Variation in Urine Samples Use for Analyte Measurements. *Clinical Chemistry*, 40, 472-477.
- Ruilope, L.M., Miranda, B., Morales, .M. (1989). Converting Enzyme Inhibition in Chronic Renal Failure. *American Journal of Kidney Diseases*, 13, 120-126.
- Said, M. M. (2011).The Protective Effect of Eugenol Against Gentamicin Induced Nephrotoxicity and Oxidative Damage in Rat Kidney. *Fundamental and clinical pharmacology*, 25(6), 708-716.)
- Santos, D. M., Reis, P. V., ve Pimenta, A. M. (2016). Antimicrobial Peptides in Spider Venoms. *Spider Venoms*, 361-377.
- Sardari, K., Kakhki, E. G., Mohri, M. (2007). Evaluation of Wound Contraction and Epithelialization After Subcutaneous Administration of Theranekron® in Cows. *Comparative Clinical Pathology*, 16, 197-200
- Sardari, K., Mohri, M., Sabzevari, S., Fathi, B. (2014). Effects of the Theranekron® an Alcoholic Extract of The Tarantula Cubensis” on Hematology and Serum Biochemical Properties in Horses. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*. 3(2), 9-16.
- Seçilmiş, M. A., Karataş, Y., Yorulmaz, Ö., Büyükafşar, K., Şingirik, E., Doran, F., İnal, C., Dikmen, A. (2005). Protective Effect of L-Arginine Intake on the Impaired Renal Vascular Responses in the Gentamicin-Treated Rats. *Nephron Physiology*, 13-20.
- Sharma, S. P. (2004). Nitric Oxide and the Kidney. *Indian Journal of Nephrology*, 14, 77-84.
- Shifow, A. A., Kumar, K. V., Naidu, M. U., Ratnakar, K. S. (2000). Melatonin, a Pineal Hormone with Antioxidant Property, Protects Against Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Rats. *Nephron*, 85, 167-174.
- Sırmatel, F., Duygu, F., Çelik, H., Selek, S., Sırmatel, O., Gürsoy, B., Eris, F. N. (2009). Kronik Viral Hepatit Olgularında Total Oksidatif Seviye ve Total Antioksidan Kapasitenin Değerlendirilmesi. *Klinik Dergisi*, 22(3): 92-96.
- Soylu, S. M. (2012). Rat Fizyolojisi. *Küçük Deney Hayvanlarından Rat*, 22-25.

- Stassi, G. (2006). Detection of Apoptosis in Tissues. *Apoptozis, Hastalıklarla İlişkisi ve Güncel Belirleme Yöntemleri Kursu*. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Sun, Y., Oberley, L. W., Li, Y. (1988). A Simple for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clinical Chemistry*, 34, 497-500.
- Thadhani, R., Pascual, M., Bonventre, J. V. (1996). Acute Renal Failure. *New England Journal of Medicine*, 334(22), 1448-1460.
- Thompson, C. B. (1995). Apoptosis in the Pathogenesis and Treatment of Disease. *Science*, 267: 1456–1462.
- Tietz, N. W. (1995). *Clinical Guide to Laboratory Test*. (3rd ed.). Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 622-624.
- Törüner, E. K. ve Büyükgönenç, L. (2013). *Çocuk Sağlığı Temel Hemşirelik Yaklaşımları*. Ankara: Göktuğ Yayıncılık, 514-57.
- Tulkens, P. M. (1989). Nephrotoxicity of Aminoglycoside Antibiotics. *Toxicol Letters*, 46, 107-123.
- Ulukaya, E. (2003). Apoptozis ders notları. Erişim: [http://biyokimya.uludag.edu.tr/apoptozis\\_ders\\_notu.pdf](http://biyokimya.uludag.edu.tr/apoptozis_ders_notu.pdf).
- Ulutaş, B., Kıral, F., Birincioğlu, S. (2006). Unable to Protect Gentamicin Induced Nephrotoxicity with Allopurinol in Rats. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 53, 65-68.
- Uysal, O. (2001). Rat Modelinde Unilateral Testiküler Torsiyon Sonrası Karşı Testiste Gelişen Apoptotik Değişikliklerin Değerlendirilmesi. (Uzmanlı Tezi). [https://tez.yok.gov.tr/Ulusal\\_Tez\\_Merkezi](https://tez.yok.gov.tr/Ulusal_Tez_Merkezi) . (362179)
- Vairetti, M., Ferrigno, A., Bertone, R., Richelmi, P., Berte, F., Freitas, I. (2005). Apoptosis vs. Necrosis: Glutathione Mediated Cell Death During Rewarming of Rat Hepatocytes. *Biochimica et iophysica Acta*, 1740, 367-374.
- Vaux, D. L. and Flavell, R. A. (2000). Apoptosis Genes and Autoimmunity. *Current Opininn in Immunology*, 12, 719–724.
- Veljković, M., Pavlović, D. R., Stojiljković, N., Ilić, S., Jovanović, I., Poklar Ulrih, N., Rakić, V., Veličković, L., Sokolović, D. (2016). Bilberry: Chemical Profiling, in Vitro and in Vivo Antioxidant Activity and Nephroprotective Effect Against Gentamicin Toxicity in Rats. *Phytother Research*, doi: 10.1002/ptr.5738.
- Volpini, R. A., Balbi, A. P., Costa, R. S., Coimbra, T. M. (2006). Inkreatininsed Expression of p38 Mitogen Activated Protein Kinase is Related to the Acute Renal Lesions Induced by Gentamicin. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*., 39, 817-23.
- Vural, H., Demir, C.V., Yılmaz, N., Eren, D. (2007). Alzheimer Hastalığında Total Antioksidan Kapasitenin Araştırılması. *Tip Araştırmaları Dergisi*, 5 (2), 63-66.
- Walker, P. D. and Shah, S. V. (1988). Evidence Suggesting a Role for Hydroxyl Radical in Gentamicin Induced Acute Renal Failure in Rats. *Journal of Clinical Investigation*, 81, 334-41.
- Walker, P.D., Barri, Y., Shah, S.V. (1999). Oxidant Mechanisms in Gentamicin Nephrotoxicity. *Renal Failure*, 21(3-4), 433-442.
- Wargo, K. A. and Edwards, J. D. (2014). Aminoglycoside Induced Nephrotoxicity. *Journal of Pharmacy Practices*, 27(6), 573-577.

- Watanabe, I., Toyoda, M., Okuda, J., Tenjo, T., Tanaka, K., Yamamoto, T., Kawasaki, H., Sugiyama, T., Kawarada, Y., Tanigawa, N. (1999). Detection of Apoptotic Cells in Human Colorectal Cancer by Two Different in Situ Methods; Antibody Against Single Stranded DNA and Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated Dntp Biotin Nick End Labeling (TUNEL) Methods. *Japanese Journal of Cancer Research*, 90, 188-193.
- Williams, G. T., Smith, C. A., Sponcer, E., Dexter, T. M., Toylar, D. R. (1990). Hemopoietic Colony Stimulating Factors Promote Cell Survival by Suppressing Apoptosis. *Nature*, 343, 76-79.
- Wingrave, J. M., Schaecher, K. E., Sribnick E. A. (2003). Early Induction of Secondary Injury Factors Causing Activation of Calpain and Mitochondria Mediated Neuronal Apoptosis Following Spinal Cord Injury in Rats. *Journal of Neuroscience Research*, 73, 95-104.
- Yadav, N., Sharma, S., Sharma K. (2017). Analysis of Protective Role of Plants Against Gentamicin Induced Nephrotoxicity. *Indian Journal of Environ Sciences*, 21, 1-34.
- Yarijani, Z. M., Najafi, H., Hamid Madani, S. (2016). Protective Effect of Crocin on Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19(3), 337-343.
- Yıldız, T. ve Halis, F. (2016). Çocuklarda İnmemiş Testis. *Sakarya Tıp Dergisi*. 6(2), 42-47.
- Yılmaz, İ. (2005). Erişkin Ratlarda Deneysel Varikozel Oluşturulması Sonrası Testislerde Germ Hücrelerinde Apoptozis Düzeylerinin Yükselmesi ve Yükselmiş Olan Apoptozisin Varikoselektomi Sonrası Gerileme Düzeyi ve Süresinin TUNEL Yöntemi ile Değerlendirilmesi. (Uzmanlık tezi). [http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/uroloji/dr\\_inanc\\_yilmaz.pdf](http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/uroloji/dr_inanc_yilmaz.pdf)
- Yılmaz, M. (2014). Ratlarda Gentamisine Oluşturulan Nefrotoksisite Üzerine Fucoïdan'ın Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi). <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>. (369860)
- Yoshoika, T., Kawada, K., Shimada, T. (1979). Lipid Peroxidation in Maternal and Cord Blood and Protective Mechanism Against Active Oxygen Toxicity in the Blood. *American Journal Obstetrics and Gynecology*, 135, 372-376.
- Yuegang, Z. and Chengjun, W. (2008). Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi ile İnsan İdrarında Kreatinin ve Ürik Asit Eşzamanlı Belirlenmesi. *Analytical Sciences*, 24, 1589-99.
- Yüzkollar Süzölmüş, B. (2018). Kontrast Madde Kullanımına Bağlı Gelişen Akut Böbrek Hasarının Erken Tanısında mikroRNA 21'in Yeri. (Uzmanlık Tezi). <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>. (522111)

## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Caner EREN
Doğum Tarihi	01.01.1989
Doğum Yeri	Balıkesir
Medeni Hali	Evli
Uyruğu	T.C.
Adres	Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, 10600 Balıkesir
Tel No	0 542 717 8380
E-posta	vet.caner@windowslive.com
Eğitim	
Lise	Edirne 1. Murat Lisesi (2005)
Lisans	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2008-2013)
Yüksek Lisans	Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı (2018- )
Doktora	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	Orta derecede (Yökdil: 43,75, Nisan 2020)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Kuruluş Adı	Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği

## EKLER

**EK-1**



**T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
Çağış Yerleşkesi, (Bigadiç yolu üzeri 17. km) 10145, BALIKESİR-TÜRKİYE  
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI**

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMANIN ADI	"Deneyisel Gentamisin Nefrotoksitesiti Oluşturulan Ratlarda Tarantula Cubensis Ekstraktının (Therane kron®) Koruyucu Etkisinin Araştırılması"
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Doç. Dr. Dilek AKŞİT BAUN Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji AD.
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Vet. Hek. Caner EREN Karahallılar Damızlık İşletmesi Kepsut/BALIKESİR
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Yüksek Lisans
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	Balıkesir Üniversitesi 2019 BAP Onayı İtibariyle – 01/07/2021
	KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	Sıçan - 40 Adet

<b>DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER</b>	<b>Belge Adı</b>	<b>Tarihi</b>
	HADYEK BAŞVURU FORMU	20.02.2019

<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	<b>Karar No : 2019/2-3</b>	<b>Tarih : 28.02.2019</b>
	<p>Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya iletilmesine oy birliği ile karar verildi.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması,</li> <li>2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması,</li> <li>3) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması,</li> <li>4) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.</li> </ol>	

**ETİK KURUL BİLGİLERİ**

**ÜYELER**

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza
Dr. Öğr. Üyesi Elif AKSÖZ Başkan	Tıbbi-Farmakoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Gülten ERKEN Başkan Yardımcısı	Tıbbi- Fizyoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Ziya İLHAN Üye	Veteriner - Mikrobiyoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Hatice YILDIRIM Üye	Moleküler Biyoloji ve Genetik	Fen Edebiyat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Dr. Öğr. Üyesi Fatih UĞUN Üye	Tıp-Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Dr. Öğr. Üyesi Muharem EROL Üye	Veteriner Cerrahi	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Hacer ERDEN Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Ev Hanımı	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Mehmet UÇAR Üye	Sivil Üye	Emekli	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Vet. Hek. Mustafa H. YARANOĞLU Üye	Veteriner Hekim	BAUNDEHAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	

(\*) Başvurulan Projelerde Proje Sahibi veya Yardımcı Araştırmacıların birinin Yerel Etik Kurul Üyesi veya 1. Derece Akrabası olması halinde ilgili üye proje kurul görüşmesine katılamaz.



**T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ  
SÖZLEŞMESİ**

**PROJE NO: 2019/010**

**MADDE 1:** Balıkesir Üniversitesi tarafından desteklenmesine karar verilen 2019/010 no' lu, "Deneysel Gentamisin nefrotoksitesi oluşturulan ratlarda Tarantula cubensis ekstraktının (TheraneKron®) koruyucu etkisinin araştırılması." isimli projenin, Bilimsel Araştırma Projeler Yönergesiyle belirlenen esaslar dahilinde yürütülmesi ve sonuçlandırılması amacıyla Balıkesir Üniversitesi Rektör Yardımcısı **Prof.Dr. Turgut KILIÇ** ile proje yürütücüsü **Doç. Dr. Dilek AKŞİT** arasında aşağıda belirlenen koşullarla işbu sözleşme imzalanmıştır.

**MADDE 2:** Proje yürütücüsü, projenin Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi ve bu sözleşme hükümlerinde öngörülen amaç, kapsam, süre ve diğer hususlara uygun olarak yürütülmesi ve sonuçlandırılmasından sorumludur.

**MADDE 3:** Desteklenmesi kabul edilen projenin amaç, kapsam, süre, program, yardımcı araştırmacılar ve bütçesinde yapılacak değişiklikler, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun kararıyla mümkündür.

**MADDE 4:** Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında alınan demirbaşlar bölüm ayniyat mutemetlerine zimmetlenir. Adı geçen demirbaş ürününün proje bitim tarihinden itibaren 1 (bir) ay içerisinde iade edilmesinden proje yürütücüsü sorumlu olup, iade işleminin belirlenen süre içerisinde yapılmamasının sonucunda proje yürütücüsü ürün bedelini karşılayacağını kabul eder.

**MADDE 5:** Proje yürütücüsü, aşağıdaki tarihlerde ara ve sonuç raporlarını istenilmeden teslim etmek zorundadır :

**1.Ara Rapor - 30-04-2019 - 29-10-2019  
Sonuç Raporu - 30-10-2019 - 29-04-2020**

Ayrıca istenildiğinde proje ile ilgili ayrıntılı bilgileri ve kayıtları Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna vermekle yükümlüdür. Ara Raporlarının, kabul edilebilir mazeret bildirmeksizin bu sözleşme ile belirlenen tarihlerde teslim edilmemesi halinde proje yürütücüsüne ödeme yapılmaz bu durumda Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu projeyi iptal edebileceği gibi proje yürütücüsünün değiştirilmesine de karar verebilir.

Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenen projeler Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunun ve / veya bu komisyonun belirleyeceği proje izleyicileri tarafından yerinde incelenebilir; proje yürütücüsü izleyicilere istenilen her türlü belgeyi vermekle yükümlüdür.

**MADDE 6:** Proje yürütücüsü, sonuçlanan projenin tüm yönlerini ve sonuçlarını kapsayan Kesin raporunu sözleşme tarihinin sona ermesinden itibaren dört ay içinde Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nce hazırlanmış olan "Kesin Raporu" formatına uygun olarak Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine vermekle yükümlüdür. Kesin Raporun kabul edilen sürede sunulmaması veya kabul edilebilir bir mazeret bildirilmemesi halinde proje iptal edilir.

Bilimsel Araştırmalar ciltlenmiş olarak sunulan "Kesin Raporu" Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından incelendikten sonra kabul edilebilir veya gerekli düzeltmelerin yapılması istenebilir. Yapılan değişikliklerden sonra Kesin Raporu yeniden değerlendirilir. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından Kesin Raporunda yapılması istenilen değişiklikler için tanınan süre azami proje süresinin kullanılmış olması halinde 2 ayı geçemez.

**MADDE 7:** Proje yürütücüsünün gerçekçi gerekçeler sunması koşuluyla, projeye en fazla toplam bütçesinin %50'si kadar ek ödenek ve / veya 1 yıla kadar ek süre verilmesi konusu Komisyon tarafından değerlendirilebilir.

**MADDE 8:** Proje yürütücüsü, tamamlanan proje ile ilgili veri, kayıt ve dokümanları en az 10 yıl saklamak zorundadır.

**MADDE 9:** Proje yürütücüsü, proje ile ilgili verileri ve bulguları, yayınladığı her türlü yazı, makale ve sunduğu bildirimlerde "Balıkesir Üniversitesi tarafından desteklenmiştir." ibaresini belirtmek zorundadır.

**MADDE 10:** Proje ile ilgili çalışmaların sürdürülmesinde, işyeri ve proje personeli yönünden çalışmanın gerektirdiği her türlü güvenlik önlemlerinin alınmasından proje yürütücüsü sorumludur.

**MADDE 11:** Bilimsel Araştırma Birimi Komisyonunca desteklenmek suretiyle ele alınan bu projenin sonucunda 17.7.1963 tarih ve 278 sayılı Kanunun 2/a maddesine göre bir iktira meydana gelirse bu iktira aynı kanunun 21. maddesi uyarınca Bilimsel Araştırma Birimi Komisyonuna ait olacaktır. Ancak Bilimsel Araştırma Birimi Komisyonunun bu iktiradan dolayı usulüne uygun olarak istihsal edeceği patenti satma yahut kiralama yolu ile elde edeceği bedel veya kiranın %30'u iktirayı yapan veya yapanlara verilecektir.

**MADDE 12:** Projeden elde edilen bilimsel sonuçların telif hakkı Balıkesir Üniversitesine aittir.

**MADDE 13:** Proje kapsamında alınan araç-gereç vb. Üniversitemiz Öğretim Elemanlarının kullanımına açıktır.

**MADDE 14-** Bu sözleşme ile öngörülen toplam maddi destek miktar ve ödeme planı bilimsel araştırma projeleri ödeneklerinin nakit akışında meydana gelebilecek kısıntıların neden olacağı aksamalar mücbir sebep olarak kabul edilir ve bu nedenle taraflar sorumlu tutulamazlar.

**MADDE 15-** Lisansüstü Öğrenim Araştırma projelerinden tez basımı dışında, bir (1) yıl içinde yayın yapılmadığı takdirde, tez yürütücüsü tezi yaparında adının geçmesi koşuluyla tezden yayın hazırlamak hakkına da sahiptir.

**MADDE 16-** Projeler kapsamında alınan makine ve teçhizat için ayrıca oda, derslik, laboratuvar vb. gibi yerler talep edilmeyecektir.

**MADDE 17-** Projeyi desteklemek amacıyla Balıkesir Üniversitesi tarafından 2019 yılı için; **Laboratuvar Malzemesi İle Kimyevi ve Temrinlik Malzeme Alımları : 4,439.32 TL, Canlı Hayvan Alım,Bakım ve Diğer Giderleri : 1,560.00 TL,** olmak üzere toplamda **5,999.32 TL** ödenek sağlanacaktır.


**MADDE 18-** .../.../2017 tarihinde taraflarca imzalanan bu sözleşmenin yürürlük süresi 12 aydır. Proje yürütücüsüne ek süre verilmesi halinde bu sözleşme ek sürede de geçerli olup, aynı bir sözleşme imzalanmaz.

**MADDE 19-** Proje kapsamındaki, yazışmalar, ara rapor, sonuç raporu, harcama işlemleri ve takibinde tüm sorumluluk proje yürütücüsüne ait olup, bu işlemlerden doğabilecek hata ve zararlar proje yürütücüsü tarafından karşılanır.

**MADDE 20-** Sözleşme giderleri Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından ödenir.

**MADDE 21-** Anlaşmazlık halinde yetkili merci Balıkesir Mahkeme ve İcra Daireleridir.

**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
adına  
**Prof.Dr. Turgut KILIÇ**  
Rektör Yardımcısı

  
**PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ**  
**Doç. Dr. Dilek AKŞİT**  
Öğretim Üyesi





Eğitimde, bilimde, sanatta çağdaş...



Balıkesir Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanlık Binası  
Çağış Yerleşkesi/BALIKESİR



(0 266) 612 14 62  
sagbilen@balikesir.edu.tr  
<http://www.balikesir.edu.tr>

