



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences

GENTAMİSİN KULLANIMINA BAĞLI GELİŞEN
NEFROTOKSİSİTEDE B₁₂ VİTAMİNİNİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

MURAT ÇELEBİ

Veterinerlik Farmakoloji ve Toksikolojisi Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 10102.08



BALIKESİR

2024

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GENTAMİSİN KULLANIMINA BAĞLI
GELİŞEN NEFROTOKSİSİTEDE
B₁₂ VİTAMİNİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

MURAT ÇELEBİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ELİF AKSÖZ

Veterinerlik Farmakoloji ve Toksikolojisi Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 10102.08

Proje No: 2022/66-Balıkesir Üniversitesi BAP

BALIKESİR

2024



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ KABUL VE ONAY

Veterinerlik Farmakoloji ve Toksikolojisi Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde **Murat ÇELEBİ** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

**“Gentamisine Bağlı Gelişen Nefrotoksisitede
B₁₂ Vitamininin Etkilerinin Araştırılması”**

başlıklı tez çalışması,
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından

DOKTORA TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 23/08/2024

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Levent ALTINTAŞ
Ankara Üniversitesi
(Başkan)

Doç. Dr. Elif AKSÖZ
Balıkesir Üniversitesi
Üye (Danışman)

Prof. Dr. İzzet KARAHAN
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Ersoy BAYDAR
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Hüsamettin EKİCİ
Kırıkkale Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Doktora Tezi,
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 29/08/2024 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI
Enstitü Müdürü

BEYAN

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

- 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 çalışmada 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.**

23/08/2024

İmza

Murat ÇELEBİ

İTHAF

Kalbinde *Seygi Parla*'tan herkese...

TEŐEKKÜR

Tez çalıőmamın ve doktora eğitimimin her aőamasında bilgilerini, deneyimlerini ve değerli zamanını benimle paylaőan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, her daim sabırla yol gsteren, danışman hocam Sayın **Doç. Dr. Elif AKSÖZ'** e,

Elektron mikroskopik analizler için laboratuvarlarını açan Eskiőehir Osmangazi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı (ARUM)'a, elektron mikroskopik görüntülerin yorumlanması için desteklerini esirgemeyen Düzce Üniversitesi Tıp Fakóltesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın **Doç. Dr. Sinem KANTARCIOĐLU COŐKUN'**a,

Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın **Doç. Dr. Özgür BAYKAN'**a

Lisansüstü eğitimimde ve kişisel hayatımda katkıları ile yol gsterici olan Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. İzzet KARAHAN'** a,

Tez izleme komitemizde bulunup vakit ayıran ve görüşleriyle değerli katkılar sunan Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakóltesi öğretim üyesi Sayın **Prof. Dr. Ersoy BAYDAR'**a

Anabilim dalımızın değerli öğretim üyeleri Sayın **Prof. Dr. Cengiz GÖKBULUT, Prof. Dr. őahver Ege HİŐMİÖĐULLARI, Doç. Dr. Dilek AKŐİT** ve **Dr. Öğr. Üyesi Oğuzhan KORKUT** hocalarıma,

Tez çalıőmamda ve doktora eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyip her konuda yardımcı olan **Arő. Gör. Dr. Hasan SUSAR, Dr. Araç. Gör. Fazilet şEN** ve **Dr. Araç. Gör. Nurullah GÜÇLÜ'**ye,

Öğretim Görevlisi olmadan önce toksikoloji alanında “**YÖK 100/2000**” doktora bursiyeri olmam sebebiyle **Yüksek Öğretim Kurumu'**na,

Bugünlerin hayalini kurmamı sağlayan ilk öğretmenim ve rahmetli annem **Sevgi ÇELEBİ'** başta olmak üzere aileme,

Her konuda en büyük destekçim olup, varlığını her daim hissettiren meslektaőım ve hayat arkadaőım **ağla ÇELEBİ'** ye

en içten duygularımla **teőekkür ederim.**

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Böbreğin Yapısı ve Fonksiyonları	2
2.1.1. Nefronun Yapısı ve Fonksiyonları	3
2.2. Aminoglikozidlerin Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri	6
2.2.1. Etki Mekanizması.....	7
2.2.2. Farmakokinetik Özellikler	8
2.2.3. Yan Etkileri	9
2.3. Aminoglikozid Nefrotoksisitesi	10
2.3.1. Tübüler etkiler.....	10
2.3.2. Glomerüler Etkiler	13
2.3.3. Vasküler Etkiler	15
2.3.4. Nefrotoksisitenin Patofizyolojisi.....	15
2.3.5. Nefrotoksisite Risk Faktörleri	17
2.3.6. Aminoglikozidlerle İlişkili Nefrotoksisiteyi Azaltma Yaklaşımları	17
2.4. B ₁₂ Vitamininin Tanımı ve Tarihçesi	19
2.4.1. B ₁₂ Vitamininin Kimyasal Yapısı.....	20
2.4.2. B ₁₂ Vitamininin Farmakokinetiği.....	22
2.4.3. B ₁₂ Vitamininin Organizmadaki Görevleri	24
2.4.4. B ₁₂ Vitamini Kaynakları	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Gereç	29
3.1.1. Deney Hayvanı.....	29
3.1.2. İlaçlar.....	29

3.2.	Yöntem.....	29
3.2.1.	Deney Grupları ve Uygulama Protokolü.....	29
3.3.	Biyokimyasal Analizler.....	30
3.4.	Transmisyon Elektron Mikroskopisi.....	32
3.5.	İstatistiksel Yöntem.....	33
4.	BULGULAR.....	34
4.1.	Vücut Ağırlık Değişimi (%).....	34
4.2.	Biyokimyasal Bulgular	35
4.2.1.	Üre.....	35
4.2.2.	Kreatinin.....	36
4.2.3.	Kalsiyum	37
4.2.4.	Malondialdehit	38
4.2.5.	Süperoksit Dismutaz	39
4.2.6.	Tümör Nekroz Faktör- α	41
4.2.7.	İnterkökin-6.....	42
4.2.8.	İnterlökin-1 β	43
4.2.9.	Böbrek Hasar Molekülü-1	44
4.2.10.	Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin.....	45
4.3.	Elektron Mikroskopik Bulgular	47
5.	TARTIŞMA.....	51
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
	KAYNAKLAR	60
	ÖZGEÇMİŞ.....	71
	EKLER.....	72
	Ek.1 Etik Kurul İzin Belgesi	72
	Ek 2. BAP Proje Kabul Sözleşmesi.....	73

ÖZET

GENTAMİSİN KULLANIMINA BAĞLI GELİŞEN NEFROTOKSİSİTEDE B₁₂ VİTAMİNİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerin kullanımına bağlı olarak %10-25 oranında nefrotoksisite gelişme ihtimali vardır. Aminoglikozid kullanımına bağlı nefrotoksisiteye karşı rutin olarak kullanılabilen koruyucu ajan olmaması tedaviyi güçleştirmektedir. Bu çalışmada B₁₂ vitamininin aminoglikozidlerin neden olduğu nefrotoksisite üzerine koruyucu etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla B₁₂ vitamini, gentamisin ile birlikte veya gentamisinden önce başlanarak uygulanmış ve hangi uygulamanın daha etkin olduğu değerlendirilmiştir.

Çalışmada 10-12 haftalık, 280-420 gr. ağırlıklarında 42 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar randomize olarak 6 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna tüm çalışma süresi boyunca 0.1 ml/kg serum fizyolojik, Gentamisin grubuna yedi gün boyunca intraperitoneal enjeksiyonla 100 mg/kg/gün gentamisin uygulanmıştır. B₁₂ vitamini, bir gruba bir hafta, diğer gruba iki hafta olmak üzere 3 mcg/kg/gün intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Gentamisin + B₁₂ vitamini gruplarında, 7 gün süreyle intraperitoneal yolla 100 mg/kg/gün gentamisinin yanı sıra, ön tedavi B₁₂ vitamini grubunda B₁₂ vitamini gentamisinden bir hafta önce başlanıp iki hafta süreyle uygulanmış, eş zamanlı B₁₂ vitamini grubunda ise B₁₂ vitamini gentamisinle aynı anda başlanıp sadece bir hafta boyunca verilmiştir. Çalışma sonunda serum örneklerinde üre, kreatinin ve kalsiyum seviyeleri; böbrek dokusu örneklerinde MDA, SOD, TNF- α , IL-6, IL-1 β , KIM-1, NGAL düzeyleri ölçülmüş ve elektron mikroskopik inceleme yapılmıştır.

Gentamisin uygulaması yapılan grupta kontrol grubuna kıyasla serum üre, kreatinin ve böbrek dokusu MDA düzeylerinde artış; SOD düzeylerinde ise azalma gözlemlenmiştir. Gentamisinden önce uygulanan B₁₂ vitamini tedavisi, gentamisin uygulamasına bağlı artan serum üre ve kreatinin seviyelerini geri döndürmüştür. Hem eş zamanlı tedavi hem de ön tedavi gruplarında B₁₂ vitamini, böbrekte gentamisinle indüklenen IL-6 ve NGAL düzeylerini önemli ölçüde iyileştirerek antiinflamatuvar etki sağlarken; gentamisine bağlı artan böbrek MDA düzeylerini tersine çevirerek

antioksidan etkinlik göstermiştir. Ayrıca B₁₂ vitamini uygulaması her iki grupta da gentamisin toksisitesine bağlı histopatolojik hasarı engellemiştir.

Sonuç olarak; B₁₂ vitamininin gentamisin uygulamasına bağlı ortaya çıkan nefrotoksisitenin engellenmesinde antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile koruyucu bir seçenek olabileceği düşünölmüştür.

Anahtar kelimeler: Gentamisin, nefrotoksisite, vitamin B₁₂.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF VITAMIN B₁₂ IN NEFROTOXICITY DUE TO THE USE OF GENTAMICIN

There is a 10-25% chance of nephrotoxicity due to the use of aminoglycoside group antibiotics. The lack of a preventive agent that can be routinely used against nephrotoxicity due to aminoglycoside use complicates treatment. In this study, we investigated whether vitamin B₁₂ has protective effects on aminoglycoside-induced nephrotoxicity. For this purpose, vitamin B₁₂ was administered with gentamicin or before gentamicin and it was evaluated which application was more effective.

In the study, 42 male Wistar Albino rats aged 10-12 weeks and weighing 280-420 g were used. The animals were randomly divided into 6 groups. The control group was administered 0.1 ml/kg saline throughout the study period, and the gentamicin group was administered 100 mg/kg/day gentamicin by intraperitoneal injection for seven days. Vitamin B₁₂ was administered intraperitoneally at 3 mcg/kg/day for one week in one group and two weeks in the other group. In the gentamicin + vitamin B₁₂ groups, 100 mg/kg/day gentamicin was administered intraperitoneally for 7 days; in the pretreatment vitamin B₁₂ group, vitamin B₁₂ was started one week before gentamicin and administered for two weeks; in the concurrent vitamin B₁₂ group, vitamin B₁₂ was started at the same time with gentamicin and administered for only one week. At the end of the study, urea, creatinine, and calcium levels in serum samples; MDA, SOD, TNF- α , IL-6, IL-1 β , KIM-1, and NGAL levels in kidney tissue samples were measured and electron microscopic examination was performed.

An increase in serum urea, creatinine and renal tissue MDA levels and a decrease in SOD levels were observed in the gentamicin-treated group compared to the control group. Vitamin B₁₂ treatment administered before gentamicin reversed the increased serum urea and creatinine levels due to gentamicin administration. In both simultaneous treatment and pre-treatment groups, vitamin B₁₂ provided an anti-inflammatory effect by significantly improving gentamicin-induced IL-6 and NGAL levels in the kidney and showed antioxidant activity by reversing gentamicin-induced

increased renal MDA levels. Additionally, vitamin B₁₂ administration prevented histopathological damage due to gentamicin toxicity in both groups.

In conclusion, vitamin B₁₂, with its antioxidant and anti-inflammatory effects, may be a protective option in the prevention of gentamicin-induced nephrotoxicity.

Keywords: *Gentamicin, nephrotoxicity, vitamin B₁₂.*

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
Ade	: Adenozin
AdoCbl	: Adenosylcobalamin (Adenozilkobalamin)
ANG-II	: Angiotensin-II (Anjiyotensin-II)
AP-1	: Aktivatör Protein-1
ATP	: Adenosine Triphosphate (Adenozin trifosfat)
°C	: Santigrat derece
Ca	: Kalsiyum
CaSR	: Calcium-sensing Receptor (Ekstraselüler Kalsiyum Algılama Reseptörü)
Cbl	: Cobalamin (Kobalamin)
CBS	: Cystathione Beta Synthase (Sistasyon Beta Sentaz)
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ER	: Endoplasmik retikulum
ET-1	: Endotelin-1
GBM	: Glomerüler Bazal Membran
GFB	: Glomerüler Filtrasyon Bariyeri
GFR	: Glomeruler Filtration Rate (Glomerüler Filtrasyon Oranı)
H	: Hidrojen
HoloTC	: Holotranskobalamin
IF	: İntinsik Faktör
K	: Potasyum
kDa	: Kilodalton
kg	: Kilogram
KoA	: Koenzim-A
kV	: Kilovolt
K_f	: Ultrafiltrasyon katsayısı

M	: Molar
MeCbl	: Methylcobalamin (Metilkobalamin)
Metil- B ₁₂	: Metilkobalamin
mcg- µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MS	: Metiyonin Sentaz
MTase	: Methyl Transferase (Metil Transferaz)
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
Na	: Sodyum
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik Oksit
OH-B ₁₂	: Hidroksikobalamin
P	: Phosphorus (Fosfor)
PAF	: Platalet Activation Factor (Trombosit Aktive Edici Faktör)
PBS	: Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi)
PGE ₂	: Prostaglandin E ₂
PGs	: Prostaglandinler
PLA ₂	: Phospholipase A ₂ (Fosfolipaz A ₂)
PPAR α	: Peroksizom proliferatör aktive reseptör- α
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
RAS	: Renin-anjiotensin Sistem
RBF	: Renal Blood Flow (Renal Kan Akımı)
ROS	: Reaktive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
SAH	: S-adenozil homosistein
SAM	: S-adenozilmetiyonin

SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TC-II	: Transcobalamin-II (Transkobalamin-II)
THF	: Tetrahidrofolat
TLRs	: Toll-like Receptor (Toll Benzeri Reseptörler)
TXA2	: Tromboxan A2 (Tromboksan A2)
UPR	: Unfolded Protein Response (Katlanmamış Protein Cevabı)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Böbreğin Yapısı.....	2
Şekil 2.2. Nefronun Yapısı.	4
Şekil 2.3. Tübüllerde Meydana Gelen Olaylar.	5
Şekil 2.4. Aminoglikozidlerin Fizikokimyasal Yapıları.	7
Şekil 2.5. Aminoglikozidlerin Protein Sentezi Üzerine Etkileri.	8
Şekil 2.6. Gentamisin'in Böbreklerdeki Sitotoksik Etkisinin Mekanizması.....	11
Şekil 2.7. Gentamisin'in Glomerüler Etkileri.	14
Şekil 2.8. Gentamisin'in Vasküler Etkileri.	15
Şekil 2.9. Gentamisin'in Tübüler, Glomerüler ve Vasküler Etkilerinin Rolü.....	16
Şekil 2.10. B ₁₂ Vitamininin Kimyasal Yapısı.....	21
Şekil 2.11. B ₁₂ Vitamininin Taşınması ve Hücresel Emilimi.....	23
Şekil 2.12. Remetilasyon Yolu ile Metiyonin Oluşumu.	25
Şekil 2.13. B ₁₂ Vitamini, Folat ve DNA Sentezi İlişkisi.	26
Şekil 2.14. Metiyonin Sentaz Reaksiyonu ve Süksinil KoA Oluşumu.	26
Şekil 4.1. Deney Grupları Ağırlık Değişimleri (%) Karşılaştırması.....	34
Şekil 4.2. Deney Grupları Serum Üre Düzeylerinin Karşılaştırması.....	36
Şekil 4.3. Deney Grupları Serum Kreatinin Düzeylerinin Karşılaştırması.....	37
Şekil 4.4. Deney Grupları Serum Ca Düzeylerinin Karşılaştırması.	38
Şekil 4.5. Deney Grupları Böbrek MDA Düzeylerinin Karşılaştırması.	39
Şekil 4.6. Deney Grupları Böbrek SOD Düzeylerinin Karşılaştırması.	40
Şekil 4.7. Deney Grupları Böbrek TNF- α Düzeylerinin Karşılaştırması.	41
Şekil 4.8. Deney Grupları Böbrek IL-6 Düzeylerinin Karşılaştırması.	42
Şekil 4.9. Deney Grupları Böbrek IL-1 β Düzeylerinin Karşılaştırması.	43
Şekil 4.10. Deney Grupları Böbrek KIM-1 Düzeylerinin Karşılaştırması.	45
Şekil 4.11. Deney Grupları Böbrek NGAL Düzeylerinin Karşılaştırması.	46
Şekil 4.12. Kontrol Grubu Sıçanların Böbrek Elektron Mikroskobu Görüntüleri.....	47
Şekil 4.13. Gentamisin Grubu Sıçanların Böbrek Elektron Mikroskobu Görüntüleri.....	48
Şekil 4.14. B1 Grubu Sıçanların Böbrek Elektron Mikroskobu Görüntüleri.	49
Şekil 4.15. B2 Grubu Sıçanların Böbrek Elektron Mikroskobu Görüntüleri.	49

Şekil 4.16. ET Grubu Sıçanların Böbrek Elektron Mikroskobu Görüntüleri.	50
Şekil 4.17. ÖT Grubu Sıçanların Böbrek Elektron Mikroskobu Görüntüleri.....	50

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Bazı Besinlerin B ₁₂ Vitamini İçerikleri.....	28
Tablo 3.1. Deney Grupları ve İlaç Uygulama Prosedürü.....	30
Tablo 4.1. Deney Gruplarına Ait Son Tartım Ağırlık Ortalamaları.....	35
Tablo 4.2. Gruplara Ait Serum Üre Düzeyleri.....	36
Tablo 4.3. Gruplara Ait Serum Kreatinin Düzeyleri.....	37
Tablo 4.4. Gruplara Ait Serum Kalsiyum Düzeyleri.....	38
Tablo 4.5. Gruplara Ait Böbrek Dokusu MDA Düzeyleri.....	39
Tablo 4.6. Gruplara Ait Böbrek Dokusu SOD Düzeyleri.....	40
Tablo 4.7. Gruplara Ait Böbrek Dokusu TNF- α Düzeyleri.....	42
Tablo 4.8. Gruplara Ait Böbrek Dokusu IL-6 Düzeyleri.....	43
Tablo 4.9. Gruplara Ait Böbrek Dokusu IL-1 β Düzeyleri.....	44
Tablo 4.10. Gruplara Ait Böbrek Dokusu KIM-1 Düzeyleri.....	45
Tablo 4.11. Gruplara Ait Böbrek Dokusu NGAL Düzeyleri.....	46

1. GİRİŞ

Aminoglikozidler keşfedildikleri yıllardan beri başta gram negatif bakteriler olmak üzere birçok mikroorganizmaya karşı antibiyoterapinin önemli bir parçası olmuşlardır. Hızlı bakterisid etkileri ve yüksek klinik etkinlikleri aminoglikozidlerin yaygın kullanımlarına neden olmaktadır. Bununla birlikte, nefrotoksisite, ototoksisite ve nöromusküler blokaj gibi ciddi yan etkilerinin olması aminoglikozidlerin güvenli kullanımlarını kısıtlamaktadır (Chou vd., 2015)

Aminoglikozid kullanımı sonucu nefrotoksisite gelişme riskinin %10-25 oranında olduğu bildirilmektedir. Nefrotoksisiteyi azaltmak veya önlemek için yapılan çalışmalarda daha çok oksidatif stres ve inflamasyona bağlı hasarı iyileştirecek tedaviler araştırılmakta, aminoglikozidlerin böbrekte birikmesini azaltacak veya önleyecek mekanizmalar üzerinde durulmaktadır (Cao vd., 2019; Mestry vd., 2020).

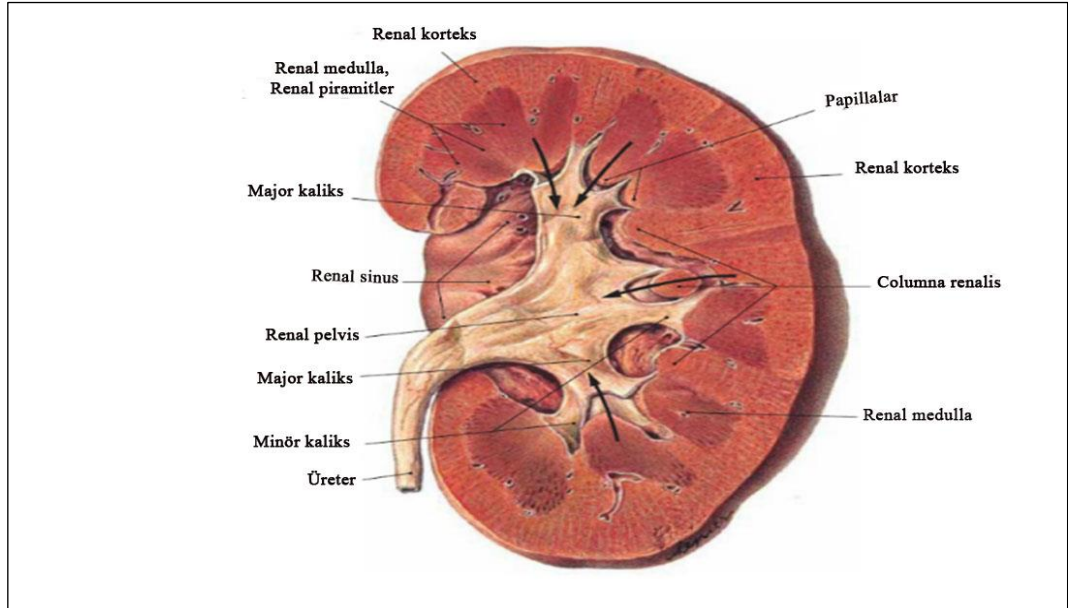
B₁₂ vitamini (Kobalamin); hücre bölünmesi ve çoğalması için önemli olan, deoksiribonükleik asit (DNA) yapımı gibi enzimatik yollarda ve kan hücrelerinin yapımında rol alan suda eriyen bir vitamindir. Eksikliği, megaloblastik anemi ve nörolojik belirtileri içeren klinik bozukluklara yol açtığından diyetle mutlaka alınması tavsiye edilmektedir (Pannerec vd., 2018). B₁₂ vitamininin vücutta hasara yol açan serbest radikal oluşumunu ve oksidatif stresi engelleyen eksojen antioksidanlardan olduğu ve hasarlı organları iyileştirebildiği yapılan birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Chan vd., 2018; Karamshetty vd., 2016; Moreira vd., 2011).

Aminoglikozidlerin prototipi olan gentamisininin sıçan böbreğinde inflamasyon, mitokondriyal hasar, hücre ölümü ve lipid peroksidasyonuna yol açtığı bilinmektedir (Kandemir vd., 2015). Bu çalışmada gentamisininin neden olduğu nefrotoksisite üzerine B₁₂ vitamininin olası nefroprotektif etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, B₁₂ vitamini gentamisine birlikte veya gentamisinden bir hafta öncesinden başlanarak verilmiş ve uygulama zamanının etkinliği değiştirip değiştirmediği de karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreğin Yapısı ve Fonksiyonları

Böbrekler, türlere göre yerleşim yerleri ve görünüşleri farklı olmakla beraber genel olarak karın arka duvarında, retroperitoneal olarak lokalize olmuş bir çift organdır. Karaciğerin konumu sebebiyle sağ böbrek, sol böbrekten ekseriyetle daha aşağıdadır. Sahip oldukları kalın, dayanıklı renal zar ve çevrelerindeki yağ doku sayesinde travmalardan korunurlar. Endokrin sistemde görevi olan adrenal bezler de her iki böbreğin üst kısmına yerleşmiştir (Çavuşoğlu, 2015).



Şekil 2.1. Böbreğin yapısı.

(Paulsen ve Waschke, 2018).

Makroskobik olarak böbrekler Şekil 2.1.'de gösterildiği gibi korteks, medulla ve pelvisten meydana gelir (Paulsen ve Waschke, 2018).

Böbrekler vücut ağırlığının % 0.4'üne karşılık gelmelerine rağmen kan akımının ortalama % 20'sini aldıklarından vücutta en fazla kanlanan organlardandır (Ritter vd., 2015).

Böbrekler; sıvı-elektrolit dengesinin korunması, vücut sıvılarının pH'sının ayarlanması ve metabolizma artıklarının vücuttan uzaklaştırılmasını sağlamak gibi homeostazisin devamlılığı için gerekli birçok işlevin gerçekleştirilmesinde önemli görevlere sahiptir. Bu fonksiyonların yanı sıra eritropoetin hormonu ve sıvı-elektrolit dengesinde görevli renin ve prostaglandinler gibi maddelerin sentezinde de görev alırlar (Calbreath, 1992; Maden, 1994).

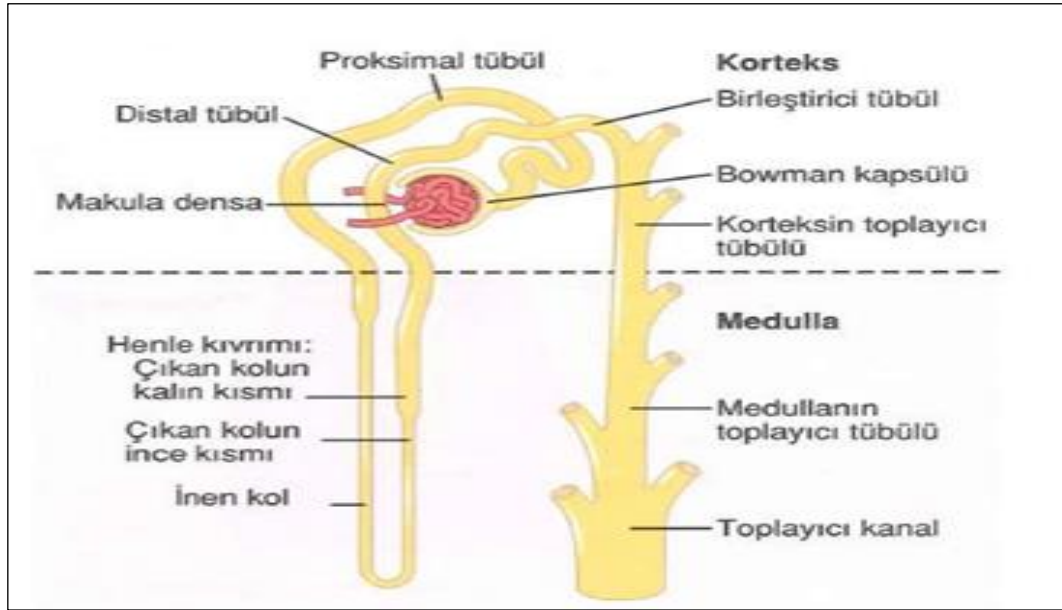
Böbreğin işlevini kısmen ya da tamamen kaybettiği durumlarda böbrek yetmezliğinden söz edilir (Vargas vd., 2018). Böbreklerde işlevsel bir hasar oluşması ve yetmezliğin ortaya çıkması, dolaşımda atık maddelerin artışı ve sıvı-elektrolit homeostazisinin bozulmasına neden olur. Ayrıca D vitamini aktivitesinde ve eritropoetin üretiminde azalma da görülebilir. Sonuçta, organizmanın sağlığını ciddi şekilde tehdit eden durumlar ortaya çıkar (Berkowitz, 2016).

2.1.1. Nefronun Yapısı ve Fonksiyonları

Böbreklerde filtrasyon işleminin başladığı, idrar oluşturma yeteneğine sahip esas işlevsel birim nefrondur (Şekil 2.2.). Her bir böbrek canlı türlerine göre değişen sayıda (yaklaşık olarak 190.000-1.2 milyon arasında) nefron barındırır. Nefronlar renal korteks ve medullada yerleşim gösterir. Temel fonksiyonları filtrasyon, sekresyon ve reabsorbsiyondur (Eaton ve Pooler, 2005; Yaman, 2009; Hall, 2013).

Her bir nefron glomerül adı verilen kandan büyük miktarda sıvının filtre edildiği bir yumak, filtrasyonun başladığı Bowman kapsülü ve filtrelenmiş sıvının idrara dönüştüğü, sekresyon ve reabsorbsiyonun gerçekleştiği proksimal ve distal tübülüsler ile bu tüpleri birleştiren Henle kulpu ve idrarın mesaneye iletimini sağlayıp üretere ulaştıran toplayıcı kanalları barındırır (Eralp, 2013; Rosenfield vd., 1978; Yaman, 2009).

Glomerül; afferent arteriöl ve efferent arteriöl arasında bulunan bir kapiller ağdır. Glomerül, Bowman kapsülüne balona gömülü bir top gibi gömülü durumdadır. Afferent arteriyöl Bowman kapsülü içerisinde 3-5 kola ayrılır ve bu kollar glomerülün segmenter içeriğini yansıtır. Afferent arteriyöller Bowman kapsülü içerisinde birleşip efferent arteriyöle oluşturup Bowman kapsülünden ayrılır (Arınsoy vd., 2017).



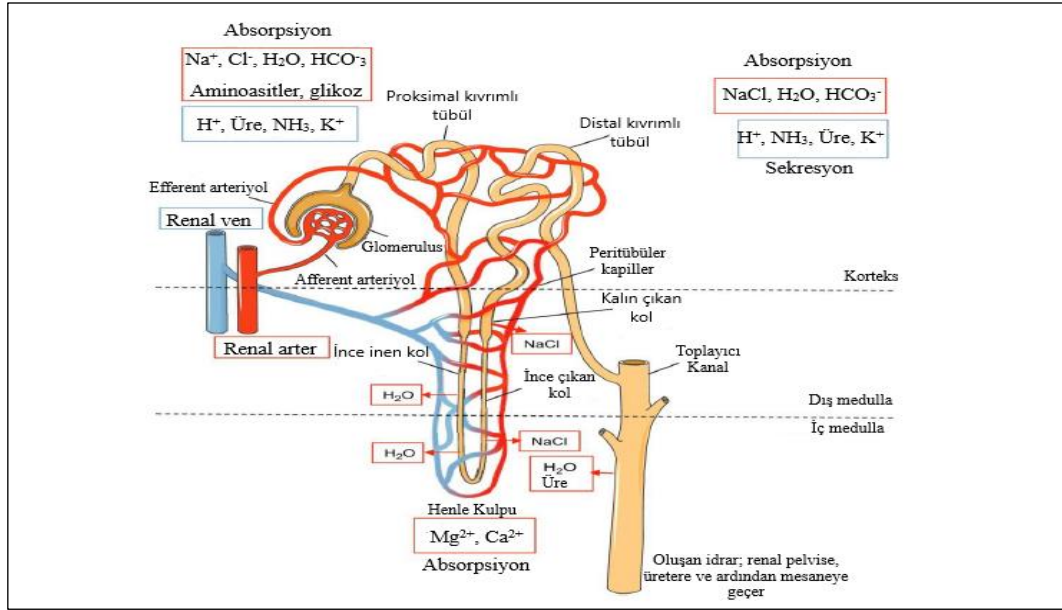
Şekil 2.2. Nefronun yapısı.

(Hall, 2013).

Glomerüller kapillerler özelleşmiş damarlar olup tek katlı ince endotel hücrelerden oluşur ve bu hücreler glomerüller bazal membran tarafından sarılmıştır. Glomerüller bazal membran, 4 nm'den küçük maddelerin difüzyonuna izin vererek glomerüller kapillerlerin geçirgenliğini düzenler. Böylece albümin ve albümininden daha büyük moleküllerin idrara geçişini önler. Küçük molekül ağırlıklı maddeler Bowman kapsülünden proksimal tübüle enerji harcanmadan filtre olur, henle kulpunu ve distal tübülü geçerek toplayıcı kanallara geldiğinde idrar halini alır (Arınsoy vd., 2017; Hall, 2013).

İdrar oluşumu sırasında nefronlarda glomerüller filtrasyon, tübüler reabsorpsiyon ve tübüler sekresyon olayları meydana gelir (Yaman, 2009).

Glomerüler filtrasyon idrar oluşumunun ilk basamağıdır. Afferent arteriyol ile glomerül kapiller ağına gelen kanın, proteinleri ve hücreleri dışındaki tüm elemanları Bowman kapsülü içerisine filtre olur. Bu filtrat kanın plazmasına benzerlik gösterir fakat albümin ve globülin gibi plazma proteinleri filtrasyon bariyerini geçemedikleri için protein içeriği çok azdır. Filtrat, inorganik iyonların büyük kısmını ve düşük molekül ağırlıklı organik maddeleri barındırır (Hall, 2013).



Şekil 2.3. Tübüllerde meydana gelen olaylar.

(Özsayın, 2019).

Süzülen bütün maddelerin dışarı atılması canlının ölümüne neden olacağından gerekli olan moleküller tübüler reabsorpsiyon ile kan dolaşımına kazandırılır (Barrett vd., 2018). Tübül sistemi; proksimal tübül, distal tübül, Henle kulpu ve toplama kanallarından oluşur. Bowman kapsülüne filtre olan sıvı önce böbrek korteksinde bulunan proksimal tübüle, buradan da böbrek medullasının derinliklerine inen Henle kulpuna akar. Henle kulpunun çıkan kolunun duvarında nefron fonksiyonunun kontrolünde önemli rolü olan ve özelleşmiş epitel hücrelerden oluşan bir plak içeren, makula densa olarak nitelendirilen bir bölüm vardır. Sıvı, makula densadan sonra böbreğin korteksinde bulunan distal tübüle ulaşır, toplayıcı kanal ile devam eder. Toplayıcı kanallar birleşerek böbrek pelvisine boşalır. Reabsorpsiyonun en fazla olduğu bölge proksimal tübüldür (Barrett vd., 2018; Hall, 2013).

Tübüler sekresyon canlı için gerekli maddelerin tübülüsleri saran kılcal damarlar ile kandan alınıp filtrata geçişidir (Şekil 2.3.). Aynı zamanda sıvı-elektrolit dengesinin korunması için gerekli distal tübüllerde ön planda olan bir işlevdir (Calbreath, 1992; Yaman, 2009; Özsayın, 2019).

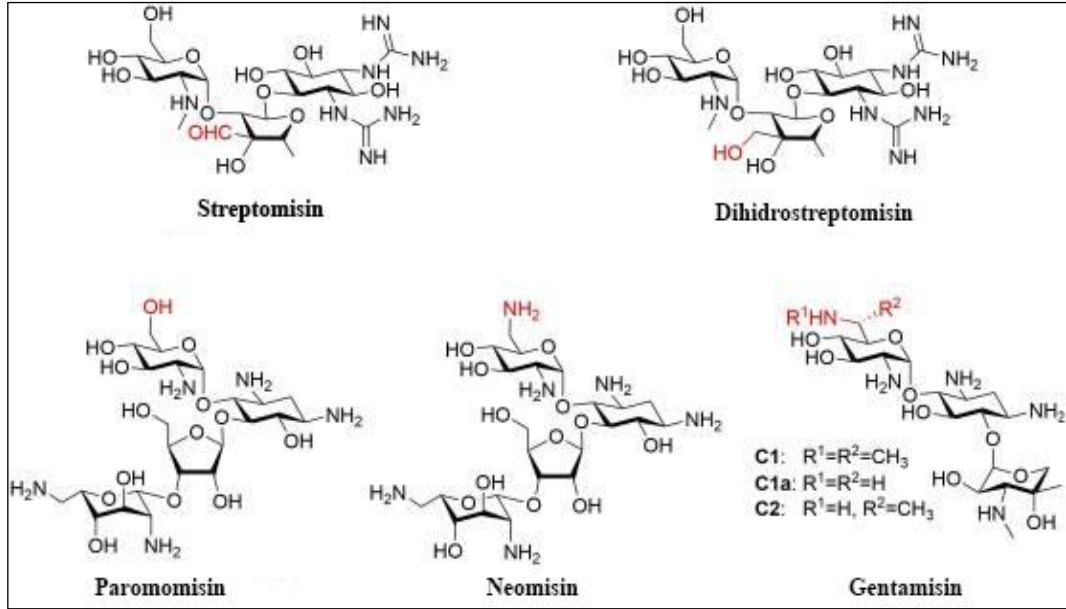
2.2. Aminoglikozidlerin Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri

Aminoglikozidler, *Streptomyces* ve *Micromonospora* türü mikroorganizmalardan elde edilen doğal ve yarı sentetik maddelerden oluşan bir antibiyotik grubudur. 1940'lı yıllarda, *Actinomycete*'ler ile ilgili çalışan Waksman ve arkadaşları tarafından keşfedilmişlerdir. Üyeleri arasında gentamisin, tobramisin, amikasin, netilmisin, neomisin, isepamisin, kanamisin, paromomisin, viomisin ve sisomisin bulunur. Ortak özellikleri, moleküllerinin bir heksoz (aminosiklitol) ve buna glikozid bağlarla bağlanmış amino şekerlerden oluşmasıdır. Spektinomisin, aminoglikozid grubu antibiyotiklere dahil edilse bile amino gruplarının sadece aminosiklitolda bulunmasından ötürü diğerlerinden ayrılır (Kayaalp, 2018; Leblebicioğlu vd., 1998).

Grup üyelerinin antibakteriyel etki mekanizmaları, spektrumları ve toksik etkileri benzerdir. Genellikle çok çeşitli aerobik bakteri suşları üzerinde konsantrasyona bağlı olarak hızlı bakterisid etkili gösterirler. Fizikokimyasal yönden en önemli özellikleri, moleküllerin aşırı polar olmasından dolayı en az lipofilik olan antibiyotik grubu olmalarıdır. Bu özellikleri sebebiyle mide-barsak kanalından çok az emilirler (en fazla % 10) ve beyin-omurilik sıvısına geçişleri zordur. Yine bu nedenle, sistemik enfeksiyonların tedavisinde parenteral kullanımları tercih edilir. Genellikle sülfat tuzları şeklinde hazırlanırlar ve sulu çözeltileri oda ısısında uzun süre etkinliğini devam ettirir. Ekstrasellüler sıvıya dağılımları kısıtlı olup memeli hücreleri içine zor girerler. (Kaya vd., 2013; Kayaalp, 2018; Mıstık, 2000).

Aminoglikozidler polar yapılı maddeler oldukları için bakteri hücrelerine sadece aktif taşımayla girerler ve bu yüzden anaerobik şartlarda aerobik veya anerobik bakterilere karşı etkili değildirler. Dar etki spektrumlu bileşiklerdir ve neredeyse tümü Gram-negatif bakterilere etki ederler. Ortamın pH'sının düşmesi, kanın

osmolaritesinin yükselmesi ve irin bulunması etkinliklerini azaltır. Bu grupta bulunan ilaçlar, subakut/kronik nefrotoksisite ve oto-vestibüler toksisite gibi ciddi yan etkilere yol açabilecekleri için kullanımları kısıtlıdır (Kaya vd., 2013; Rougier vd., 2004).



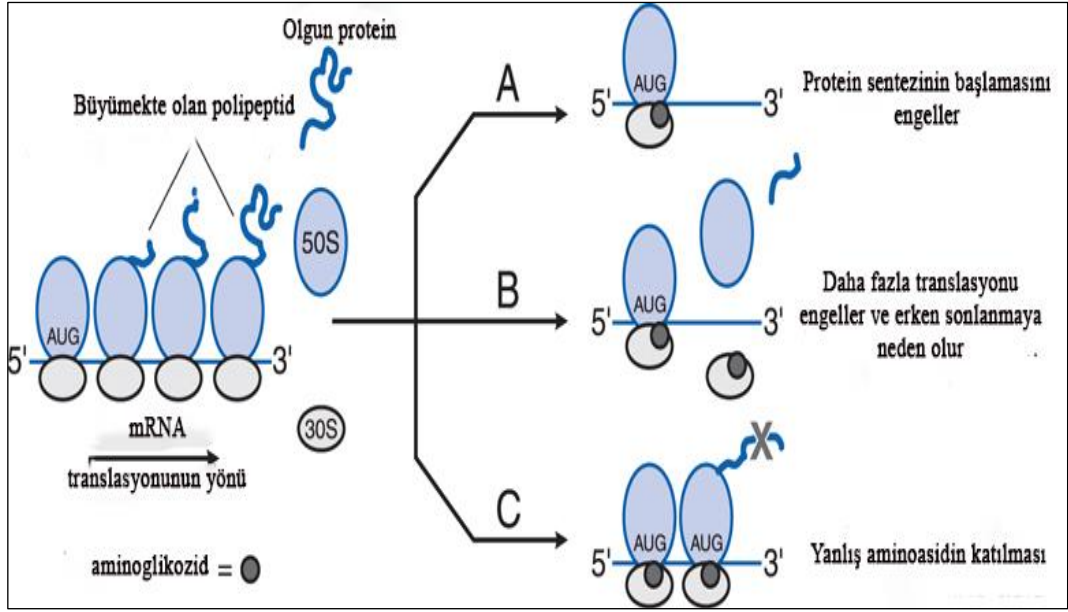
Şekil 2.4. Aminoglikozidlerin fizikokimyasal yapıları.

(Jospe-Kaufman vd., 2020).

Bu nedenle diğer antibiyotiklerin etkisiz olduğu ciddi sistemik enfeksiyonlar veya sinerjistik (β -laktam grubu antibiyotikler) etkili kombinasyonların gerekli olduğu durumlarda birincil tedavi olarak kullanılmaktadırlar (Avent vd., 2011).

2.2.1. Etki Mekanizması

Aminoglikozidler, bakteri hücre duvarı üzerindeki negatif yüklü lipopolisakkaritlere bağlanırlar. Buradan da dış zar porinlerinden pasif difüzyon yoluyla periplazmik boşluğa geçerler. Periplazmik boşluktan aminoglikozidlerin alımı ise enerjiye bağlı bir süreçtir (Taber vd., 1987).



Şekil 2.5. Aminoglikozidlerin protein sentezi üzerine etkileri.

A. Aminoglikozid 30S ribozomal alt birimlere bağlanır.

B. mRNA'nın yanlış okunmasına ya da C. fonksiyonu olmayan proteinlerin oluşumuna sebep olur.

(Brunton vd., 2009).

Aminoglikozidler sitoplazmaya girdikten sonra etki göstereceği esas yer, bakteri ribozomlarının 30S alt birimleridir (Şekil 2.5.). Bu alt birime kalıcı biçimde bağlanarak mRNA üzerinden gelen iletilerin yanlış okunmasını sağlar ve böylece protein sentezini inhibe ederek yüksek derecede bakterisit etki gösterirler. Bu inhibisyon, yapısı bozulmuş ve bir fonksiyonu olmayan anormal proteinlerin sentezlenmesine yol açar (Shakil vd., 2008). Streptomisin dışındakiler ilave olarak 50S alt birimine de bağlanırlar. Hızlı bakterisit etkinlik göstermelerinin sebebi; ribozomlara geri dönüşümsüz bağlanmaları, sentezlenen anormal proteinlerin bakteri hücre membranında birikerek membranın geçirgenliğini arttırması ve bunun sonucu olarak fazla miktarda ilacın hücre içine girip hayati öneme sahip maddelerin hücreden dışarı kaçmasıdır (Kayaalp, 2018).

2.2.2. Farmakokinetik Özellikler

Aminoglikozidler, iyi tanımlanmış bir farmakokinetik profile sahiptirler. Polariteleri yüksek olduğundan mide-barsak kanalından emilimleri iyi değildir ve bu nedenle sistemik etki elde etmek istenildiğinde oral yoldan kullanılmazlar. Ülser veya

inflatuar bağırsak hastalığı gibi durumlarda ise gentamisinin gastrointestinal kanaldan emilimi artar. Gerekli durumlarda kas içi yoldan da kullanılabilirler (Mckay vd., 1994). Aminoglikozidlerin tamamı intramusküler enjeksiyon yerinden hızlıca emilip 30-90 dakikada doruk plazma konsantrasyonuna ulaşırlar. Polar özelliklerinden dolayı göze, santral sinir sistemine ve hücrelerin çoğuna geçişleri yoktur. Plazma proteinlerine çok az bağlanırlar. Sanal dağılım hacimleri yağsız vücut ağırlığına göre hesaplanır (Brunton vd., 2009; Tanyel, 2017).

Aminoglikozidlerin böbrek korteksi, iç kulağın endolenf ve perilenfi hariç salgılara ve dokulara geçişleri kısıtlıdır. Karaciğerden aktif olarak salgılanmalarına bağlı olarak safradaki konsantrasyonları plazmadakinin %30'u kadardır fakat esas atılım yolları glomerüler filtrasyondur. Bundan dolayı aminoglikozidlerin plazma seviyeleri böbrek fonksiyonlarına büyük oranda bağlıdır (Trevor vd., 2010). Oral veya rektal yolla kullanıldıklarında bile böbrek yetmezliği olan hastalarda uzun sürede toksik konsantrasyonda birikebilirler. Sağlıklı bir canlıda aminoglikozidlerin yarılanma ömrü 2-3 saattir ve postantibiyotik etkileri uzundur (Brunton vd., 2009; Kayaalp, 2018).

2.2.3. Yan Etkileri

Aminoglikozidler güvenli kullanım aralıkları dar olan ilaçlardır (Aygün, 2002). Yüksek polariteleri nedeniyle absorpsiyonları ve birçok dokuya geçişleri kısıtlı olsa da böbrek korteksi, iç kulağın endolenf ve perilenfine geçişleri için bu durum söz konusu değildir. Aminoglikozidlere bağlı toksisitelerin nedeni de genellikle bu bölgelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmalarıdır (Trevor vd., 2010). Bütün aminoglikozidler nefrotoksisite, ototoksisite ve nöromusküler blokaj meydana getirme potansiyeline sahiptir. Bu istenmeyen etkiler aminoglikozidlerin kullanımlarını kısıtlar (Brunton vd., 2009).

2.3. Aminoglikozid Nefrotoksitesitesi

Nefrotoksitesite, aminoglikozidlerin, özellikle de gentamisinin en önemli yan etkilerinden biridir. Aminoglikozid ilaçlardan herhangi birini kullanan hastaların yaklaşık olarak %10-25'inde geri dönüşümlü ve orta şiddette böbrek bozukluğu oluşur (Cao vd., 2019; Mestry vd., 2020).

Aminoglikozid toksisitesinin tipik klinik görünümü, plazmada kreatinin, üre ve diğer metabolik ürünlerde artış; yanı sıra proteinüri, enzimüri, aminoasidüri, glikozüri ve elektrolit değişiklikleri (hiperkalsiüri, hipermagnesüri, hipokalsemi ve hipomagnezemi) ile seyreden nonoligürik veya poliürik renal yetmezliktir (Kays vd., 1991; Klastersky vd., 1974; Mingot-Leclercq ve Tulkens, 1999).

Geleneksel olarak, nefrotoksitesitenin aminoglikozidlerin böbrek proksimal tübül hücrelerinde birikerek hasar oluşmasıyla ortaya çıktığı düşünülmektedir. Fakat tübüler etkiler, azalmış glomerüler filtrasyon oranını tek başına açıklayamaz. Aminoglikozidlerin etkileri proksimal tübülde sınırlı değildir; glomerüler ve vasküler etkiler de nefrotoksitesitede önemli rol oynamaktadır (Lopez-Novoa vd., 2011).

2.3.1. Tübüler etkiler

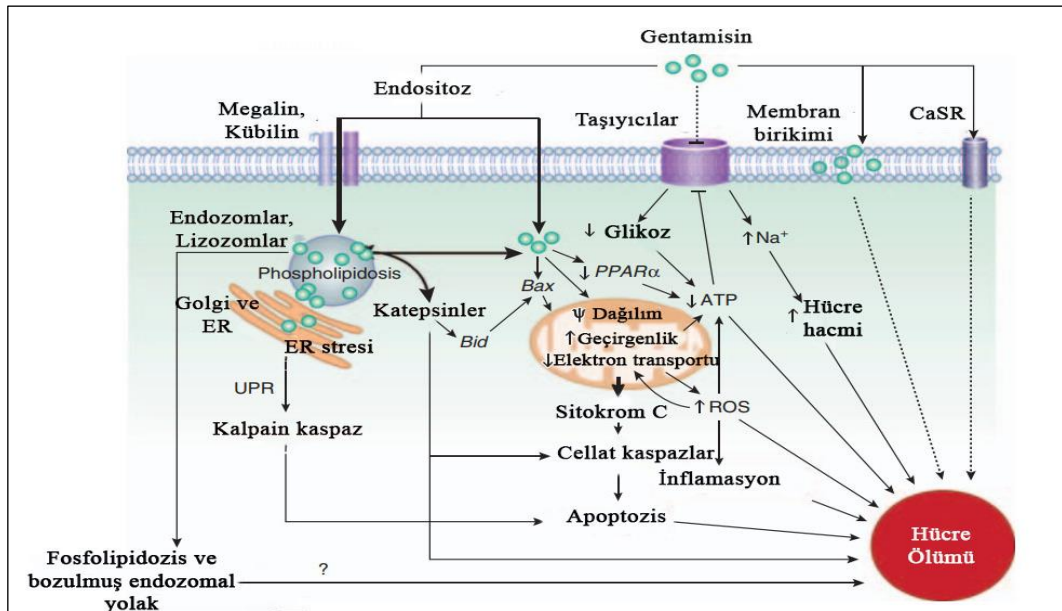
Aminoglikozid kaynaklı tübüler toksisitesinin epitel hücrelerin (özellikle proksimal tübüllerde) ölümü ve sıvı-elektrolit taşınmasında görevli hücresel bileşenlerin fonksiyonlarında bozulma sonucu gerçekleştiği ifade edilmiştir (Lopez-Novoa vd., 2011).

Deneyssel olarak uygulanan gentamisin tedavisinin, sıçanlarda tübül epitel hücrelerin apoptozuna ve nekrozuna yol açtığı gösterilmiştir (El Mouedden vd., 2000). Apoptozis, ATP'ye ihtiyaç duyan bir süreçtir. Hücrenin ATP rezervleri azaldığında apoptoz yerini nekroza bırakır (Chiarugi, 2005).

Sitotoksitesite, özellikle ilacın biriktiği böbrek proksimal tübül hücrelerinde meydana gelir. Renal proksimal tübüler hücreleri, megalin ve kübilin olarak

adlandırılan protein ve katyonları taşıyan endositik bir reseptör kompleksine sahiptir (Nagai vd., 2001; Nagai ve Takano, 2014). Bu kompleksin aminoglikozidleri endositozla hücre içine taşıdığı bildirilmiştir. İlacın bu hücrelerdeki yüksek birikimi ise megalin ve kübilin tarafından oluşturulan dev endositik komplekslerin proksimal tübüllerde yoğun olmasıyla ilişkilendirilmiştir (Schmitz vd., 2002).

Filtrasyona uğrayan ilacın bir bölümü proksimal tübülüs hücrelerinin apikal membranındaki anyonik fosfolipidlere (özellikle anyonik megalin) bağlanarak pinositozla hücre içine alınır (Şekil 2.6.) Bu ilaçlar daha sonra lizozomlarda, golgide ve endoplazmik retikulumda birikir (Aronoff vd., 1983; Smith ve Lietman, 1983). Buradaki yoğunluk plazmadakinin 1000 katına kadar yükselebilir (Kaya vd., 2013; Lopez-Novoa vd., 2011). Zar fosfolipidlerine bağlanan ilaç fosfolipidozise sebep olur. Lizozomal fosfolipidozis, fosfolipazların işlevi için gerekli negatif yükte azalma ve A1, A2, C1 fosfolipazların inhibisyonundan kaynaklanır. Fosfolipidoz, aminoglikozidlerin toksisite seviyeleri ile sıkı bir şekilde ilişkilidir (Kaloyanides, 1992).



Şekil 2.6. Gentamisin'in böbreklerdeki sitotoksik etkisinin mekanizması.

ATP: Adenozin trifosfat, CaSR: Kalsiyum algılayan reseptör, ER: Endoplazmik retikulum, PPAR α : Peroksizom proliferatör aktive reseptör- α , ROS: Reaktif oksijen türleri, UPR: Katlanmamış protein

cevabı

(Lopez-Novoa vd., 2011).

Endozomal yapılarıdaki aminoglikozid konsantrasyonu belirli bir eşiği aştıktan sonra zarın yapısı bozulur ve içerik sitozole dökülür. Böbrek tübülüs hücrelerindeki bozukluğun ilk belirtisi fırçamsı kenarlarından enzimlerin salgılanmasıdır. Bundan ötürü idrarda N-asetil- β -glukozaminidaz atılımı artış gösterir (Patel vd., 1975). Lizozomal içeriğin sitoplazmaya salınması sonucu mitokondriyal solunum fonksiyonları bozulur ve reaktif oksijen bileşikleri açığa çıkar (Chwieralski vd., 2006). Gentamisin artan sitoplazmik konsantrasyonu süperoksit anyonları ve hidroksil radikallerini artırarak oksidatif strese neden olur ve hücrelerde ATP üretimini bozar (Mather ve Rottenberg, 2001; Morales vd., 2010). İlaç, tedavi boyunca böbrek korteksinde birikmeye devam eder ve birkaç gün sonra böbreğin biriktirme kapasitesinde bozulma, orta şiddette proteinüri, hiyalin ve granüler silindirler görülür. Glomerüler filtrasyon hızı birkaç gün geçtikten sonra düşer (Schentag vd., 1979).

Ek olarak lizozomal içerik hücrenin ölümüne sebep olabilen katepsin adı verilen oldukça aktif proteazları barındırır. Yüksek miktarda katepsin, ATP'nin az olduğu durumlarda hızlı ve nekrotik hücre ölümüne yol açan bir proteolize neden olur (Chwieralski vd., 2006).

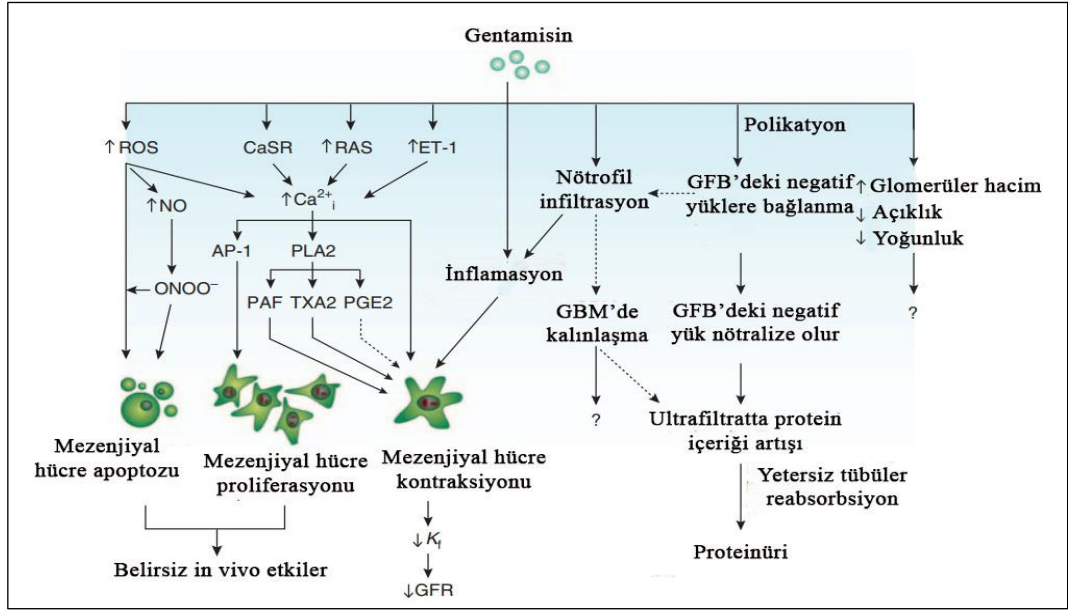
Endoplazmik retikulumdaki ilaç, protein sentezini inhibe eder, translasyonel doğruluğu ve proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonunu bozar. Bu endoplazmik retikulumda stres oluşturur ve hücrenin kalpain ve kaspaz-12 aracılığıyla apoptozise gitmesine sebep olur (Shimizu vd., 2003). Son olarak ekstraselüler kalsiyum algılama reseptörünün (CaSR) gentamisin ve diğer aminoglikozidlerle aktivasyonunun, CaSR içeren tübül hücrelerinde hafif bir apoptozisi indüklediği bildirilmiştir (Randjelović vd., 2017).

Hücre membranındaki çift fosfolipid tabakasına bağlanan aminoglikozidler, reseptör fonksiyonlarını ve transport işlemlerini etkiler (Fukuda vd., 1991; Sorribas vd., 2001). Örneğin; Na-K adenozin trifosfat hücre homeostazisi için önemli bir bileşendir ve transportunun bozukluğu nekroz veya apoptozise yol açabilir (Lieberthal ve Levine, 1996). Hasara uğrayan ve tamir edilemeyen membran dolayısıyla hücre ölümü görülebilir ancak proksimal tübül hücrelerinin rejenerasyon yeteneği olduğundan genellikle böbrek fonksiyon bozukluğu geri dönüşümlüdür (Brunton vd., 2009; Ecker, 1998).

Oluşan bu yapısal değişiklikler sonucu ortaya çıkan doku ve hücre kalıntıları tübül lümenine dökülerek tübüleri kısmen veya tamamen tıkar. Tübül tıkanıklık, etkilenen nefronların boşaltım işlevini azaltır veya durdurabilir. Ayrıca tübül içindeki ve Bowman kapsülündeki hidrostatik basıncı artırarak glomerül filtrasyon hızını azaltır. İntratübül basıncının artması filtratın intersitisyel boşluğa ve peritübül kapillerlere doğru geri sızmasına yol açar ve filtrat ürünlerinin atılımını azaltır (Neugarten vd., 1983). Tübül hasarı, tübüloglomerül feedback mekanizmasını tetikler. Tübüloglomerül feedback anjiyotensin-II, adenozin aracılı afferent ve efferent arteriyolere olan etkileriyle glomerül filtrasyon hızını düşürür. Tübüloglomerül feedback, sıvı-elektrolit kaybını önlemek için koruyucu bir mekanizma olarak etkinleştirilir (Vallon, 2003).

2.3.2. Glomerül Etkileri

Glomerül, nefronun kimyasal maddelerle temas eden ilk kısmıdır. Gentamisin, filtrasyonu değiştiren glomerül etkilere sahiptir. Örneğin; gentamisin mezanjial kontraksiyona sebep olarak ultrafiltrasyon katsayısı ve glomerül filtrasyon hızında azalmaya yol açar. Mezanjial kasılmaya, trombosit aktive edici faktör (PAF) salgılanması, renin-anjiyotensin sistem aktivasyonu, endotelin-1 ve tromboksan A2 gibi vazokonstriktör maddelerin üretimi, CaSR'nın uyarılması ve reaktif oksijen radikallerinin artışı gibi birkaç mekanizma aracılık eder (Friedlander vd., 1987; Martínez-Salgado vd., 2007).



Şekil 2.7. Gentamisinin glomerüler etkileri.

AP-1: Aktivatör protein-1, CaSR: Kalsiyum algılayan protein, ET-1: Endotelin-1, GBM: Glomerüler bazal membran, GFB: Glomerüler filtrasyon bariyeri, GFR: Glomerüler filtrasyon oranı, K_f : Ultrafiltrasyon katsayısı, NO: Nitrik oksit, PAF: Trombosit aktive edici faktör, PGE2: Prostaglandin E2, PLA2: Fosfolipaz A2, RAS: Renin-anjiyotensin sistem, ROS: Reaktif oksijen türleri, TXA2:

Tromboksan A2

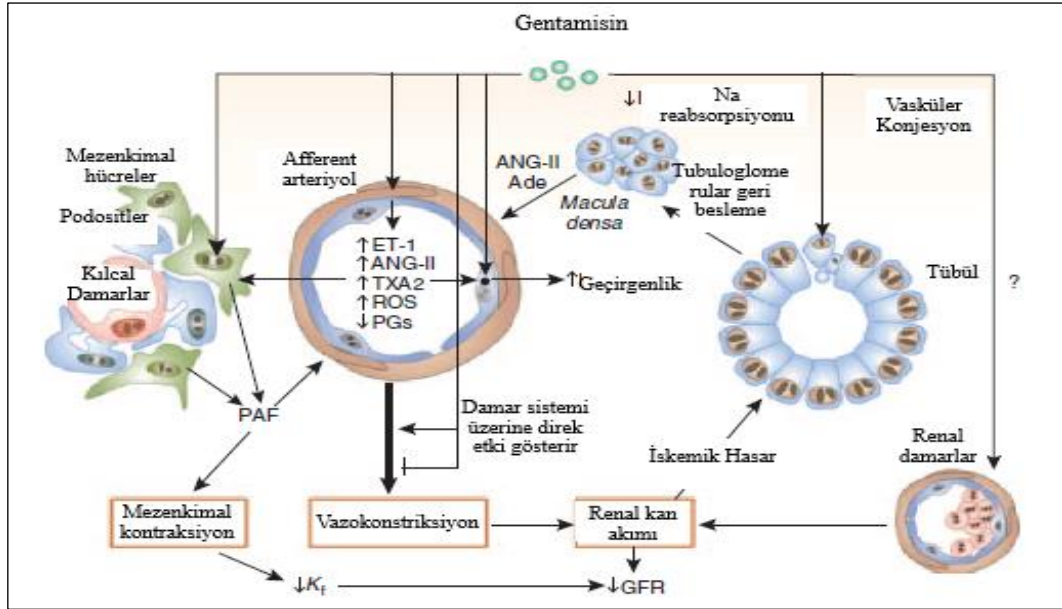
(Lopez-Novoa vd., 2011).

Gentamisin aynı zamanda Şekil 2.7.'de gösterildiği üzere mezanjiyal hücrelerin proliferasyonundaki artışla beraber bunu kompanse eden apoptozu da uyarır. Mezanjiyal proliferasyona kalsiyuma bağlı AP-1 aktivasyonu aracılık eder (Martínez-Salgado vd., 2004). Serbest oksijen radikali (SOR) ve nitrik oksit (NO) üretimindeki artış mezanjiyal hücre apoptozuna neden olur (Martínez-Salgado vd., 2007).

Yüksek dozlu tedaviler glomerüllerin hafif genişlemesi gibi morfolojik değişikliklere yol açar. Negatif yüklerin nötrleştirilmesi sebebiyle glomerüler filtrasyon bariyerinin seçiciliği kaybolur (Martínez-Salgado vd., 2007). Bu durum reabsorbsiyonun azalmasına ve proteinüriye yol açar (Rennke ve Venkatachalam, 1979).

2.3.3. Vasküler Etkiler

Gentamisin, renal vasküler yatağın artan direncinin sonucu olarak böbrek kan akımında bir azalmaya neden olur (Klotman ve Yarger, 1983).



Şekil 2.8. Gentamisin'in vasküler etkileri.

Ade: Adenozin, ANG-II: Anjiyotensin-II, ET-1: Endotelin-1, GFR: Glomerüler filtrasyon oranı, K_f : Ultrafiltrasyon katsayısı, PAF: Trombosit aktive edici faktör, PGs: Prostaglandinler, ROS: Reaktif oksijen türleri, TXA2: Tromboksan A2

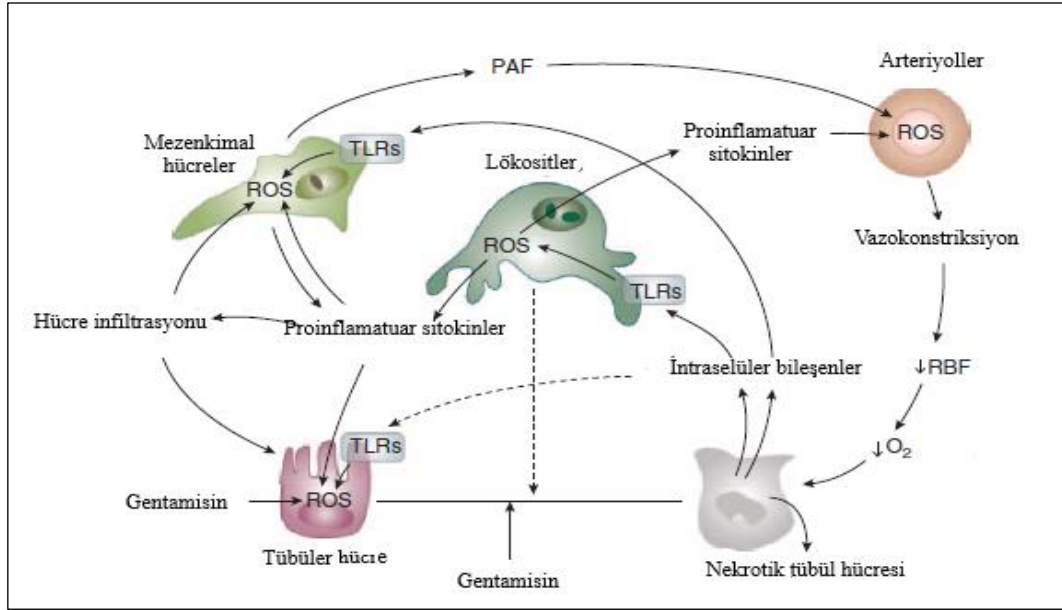
(Lopez-Novoa vd., 2011).

Renal kan akımının düşük olması; glomerüler filtrasyon hızının düşmesine ve ATP'nin azalmasına neden olarak tübül hücrelerini, hücre ölümüne karşı duyarlı hale getirir. Aminoglikozid tedavisi sonucu endotelin-1, anjiyotensin-II, tromboksan A2 ve prostaglandinler gibi vazokonstriktörlerin üretimi artar (Şekil 2.8.) Ayrıca gentamisin vazokonstriktör üretimini uyarmanın yanı sıra vazodilatatör prostaglandinlerin sentezini de bloke eder (Papanikolaou vd., 1992).

2.3.4. Nefrotoksisitenin Patofizyolojisi

Aminoglikozid nefrotoksisitesi, böbrek yetmezliğinin ana nedeninin tübül hasar ve tübül disfonksiyon olduğu bir tübülopatidir. Tübül disfonksiyon, sıvı ve

elektrolit kaybına yol açarak tübüloglomerüler feedback yanıtını oluşturur. Böylece renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızını azaltır (Şekil 2.9.) Fizyolojik koşullar altında filtrattaki sıvı ve elektrolitlerin yaklaşık %99'u tübül boyunca yeniden emildiğinden, tübüler reabsorpsiyondaki azalmayı telafi etmek için glomerüler filtrasyon hızında büyük bir azalma sağlanmalı ve yaşamı tehdit eden sıvı-elektrolit kaybı önlenmelidir (Lopez-Novoa vd., 2011).



Şekil 2.9. Gentamisin'in tübüler, glomerüler ve vasküler etkilerinin rolü.

PAF: Trombosit aktive edici faktör, RBF: Renal kan akımı, ROS: Reaktif oksijen türleri, TLRs: Toll benzeri reseptör
(Lopez-Novoa vd., 2011).

Tübüler obstrüksiyon, tübüler hasarla birlikte giderek artar ve glomerüler filtrasyon hızının azalmasını destekler. Mezanjiyal, vasküler ve tübüler hücreler; SOR, PAF, anjiyotensin-II ve endotelin-I gibi kontraksiyon faktörleri üreterek renal kan akımı ve filtrasyon katsayısını azaltan otokrin ve parakrin bir etki gösterirler. Azalmış glomerüler filtrasyon hızı ve renal kan akımı, tübüler hasarı şiddetlendirmeye katkıda bulunabilir; çünkü tübüler hücelere gereken oksijen ve besin maddelerinin ulaşmasını engeller ve oksidatif stresi kolaylaştırırlar (Moran vd., 1992).

Oksidatif stresin, aminoglikozid nefrotoksitesinde anahtar bir role sahip olduğu ileri sürülmüştür (Abdel-Naim vd., 1999). Gentamisin proteinler, lipitler, nükleik asitler dahil birçok hücresel moleküle zarar vererek hücre fonksiyonunu bozan

ve hücre ölümüne yol açan mitokondriyal SOR üretimini doğrudan artırır. Mezanjiyal ve vasküler kasılmaya katkıda bulunup inflamasyona eşlik eder. Aynı zamanda gentamisin nefrotoksisitesinin, deney hayvanlarında ve insanlarda hücre infiltrasyonunu ve sitokin üretimini arttırdığı, kılcal hiperpermeabilitenin bulunduğu inflamatuvar yanıtı indüklediği gösterilmiştir (Ali, 2003).

2.3.5. Nefrotoksisite Risk Faktörleri

Yaşlılık, daha önceden var olan böbrek hastalığı, hipovolemi, hipotansiyon, hepatik disfonksiyon gibi durumlar hastalarda gentamisine bağlı nefrotoksisite oluşumu riskini artırmaktadır (Wargo ve Edwards, 2014).

İlacın yüksek dozu, ilacın dozları arasındaki sürenin kısa olması, ilacın üç gün ve daha uzun süre kullanımı da riski artıran faktörlerdendir. Bunlardan farklı olarak vankomisin, amfoterisin B, furosemid, klindamisin ve kontrast madde kullanımı nefrotoksisitenin şiddetini artırır. Yine aminoglikozidlerin kullanıldığı saatler de önem taşır. Örneğin; yapılan bir çalışmada 00:00 ile 07:30 saatleri arasında aminoglikozidlerin daha nefrotoksik olduğu bildirilmiş ve bunun sebebi olarak da idrar pH'sının daha düşük olması gösterilmiştir (Prins vd., 1997).

Nefrotoksik etki oluşturmaları bakımından aminoglikozidler farklılık gösterir bu da aminoglikozid molekülündeki serbest amino gruplarının sayısıyla bağlantılıdır. Neomisin (6 amino grubu) böbrek korteksinde en yüksek konsantrasyonda birikir. Streptomisin (3 amino grubu) ise kortekste birikmediğinden en az nefrotoksik etkili olanıdır. Nefrotoksisite oluşturma riskine göre aminoglikozidler neomisin > gentamisin > tobramisin > amikasin > netilmisin > streptomisin olarak sıralanabilir (Özelsancak, 2016).

2.3.6. Aminoglikozidlerle İlişkili Nefrotoksisiteyi Azaltma Yaklaşımları

Aminoglikozidlerle ilişkili nefrotoksisiteyi hafifletmek için çeşitli yaklaşımlar ve tedaviler denenmiştir.

Toksisitenin şiddeti, maruz kalınan toplam ilaç miktarıyla bağlantılıdır. Toksikasyonları önlemek için doz ayarlaması yapılması gerekmektedir (Brunton vd., 2009; Kayaalp, 2018). Hayvan deneylerinde sürekli infüzyon yoluyla verildiklerinde aralıklı vermeye oranla daha nefrotoksik oldukları gösterilmiştir (Powell vd., 1983). Aminoglikozidler, eskiden günlük dozlarının üçe bölünmesi suretiyle kullanılmıştır. Örneğin; gentamisin her 8 saatte bir olarak 1.5-2 mg/kg dozunda kullanılmıştır (Drusano, 2004; Turnidge, 2003). Fakat günümüzde tek doz uygulama yaygındır (Brunton vd., 2009; Kayaalp, 2018).

Klinik olarak, hastaların dikkatli bir şekilde izlenmesi ve dozlama rejimlerinin bireyselleştirilmesi, aminoglikozidlerle ilişkili nefrotoksisite insidansını bir dereceye kadar azaltmıştır. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), başlangıç noktası olarak vücut ağırlığına göre aminoglikozid dozajını önermektedir. Son on yılda yapılan birçok çalışma, dip ve tepe düzeylerdeki değişikliklerin sürekli izlenmesinin, nefrotoksisite oluşumunu en aza indirip, başarılı tedaviye rehberlik edebileceğini ileri sürmektedir (Rougier vd., 2003; Vidal vd., 2007; Stankowicz vd., 2015). Ek çalışmalar, dozlar arasındaki daha uzun aralıkların ve bireyselleştirilmiş dozlamamın nefrotoksisite vakasını azaltabileceğini göstermiştir (Bland vd., 2018).

Çalışmaların çoğunda antioksidanların yararlı etkileri değerlendirilmiştir. Antioksidanlar etkilerini doğrudan gentamisin sitotoksisitesinin hafifletilmesi, mezanjiyal konstriksiyonun inhibe edilmesi ve antiinflamatuvar etkilerle gösterirler (Park vd., 2009). Genel kanı, başlangıçta bir savunma ve onarım mekanizması olarak ortaya çıkan inflamatuvar yanıtın, böbrek hasarının ilerlemesine katkıda bulunduğu yönündedir. Bundan dolayı gentamisinin neden olduğu böbrek hasarından koruyan stratejiler genellikle inflamatuvar yanıtı inhibe eder (Sue vd., 2009). SOR'un inflamasyonun başlangıcına ve sinyalizasyonuna katıldığı bilinmektedir (Cachofeiro vd., 2008). Bu durum antioksidanların gentamisinin neden olduğu böbrek hasarını hafifletmekte neden etkili olduğunu açıklayabilir. Bunu destekler şekilde, süperoksit anyon ve hidrojen peroksit gibi SOR, inflamatuvar sürecin başlangıcında anahtar bir role sahip olan nükleer faktör κB (NF- κB) 'yi aktive eder. NF- κB inhibitörleri ise böbreği gentamisin kaynaklı hasara karşı korur (Tuğcu vd., 2006).

Kurkumin, kalsiyum, C vitamini gibi antioksidanlar aminoglikozidlerle birlikte uygulanmış ve koruyucu etkiler sergilemişlerdir. Angiotensin II reseptör blokleri losartan, serum BUN ve kreatinin düzeylerini ve oksidatif stresi azaltarak renal tübüler hasarı önlemiştir. Kalsiyum kanal blokörlerinin gentamisin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkisi kalsiyum antagonistlerinin pre ve postglomerular damarlar üzerine yaptıkları vazodilatatör etkiye bağlanmıştır (Çelebi vd., 2023).

Diğer in vivo girişimler arasında seftriakson, sefalosporinler, florokinonlar ve isepamisin gibi diğer antibiyotiklerin birlikte uygulanması yer alır (Ali, 2003).

Çalışmalar, aminoglikozidlerin alımının doyurulabilir bir süreç olduğunu ve büyük olasılıkla taşıma aracılı bir sürecin sonucu olduğunu bulmuştur (Nagai vd., 2001). Ek olarak bu çalışmalar, aminoglikozidlerin megalin ve yakından ilişkili kübilin için önemli bir bağlanma affinitesi sergilediğini göstermiştir. Bu teori, aminoglikozid ile ilişkili nefrotoksisite araştırmalarının çoğunun temelini oluşturmaktadır (Moestrup vd., 1995; Nagai ve Takano, 2004; Schmitz vd, 2002).

Megalin spesifik olmadığı için bazı ksenobiyotikler, özellikle polar ksenobiyotikler de ona bağlanabilir. Aminoglikozidler çok polar bileşiklerdir ve bu nedenle kolaylıkla megaline bağlanırlar. Çalışmalar, megalin knockout sıçanlarda, renal korteksteki amikasin birikiminin, vahşi tip sıçanlarda görülenden önemli ölçüde daha az olduğunu göstermektedir (Nagai vd., 2001). Ek olarak Nagai, gentamisin uygulamasının bilinen diğer megalin ligandlarının idrarla atılımını arttırdığını da göstermiştir. Bu durum megalinin böbrekte aminoglikozidlerin taşınması ve birikmesinden bir şekilde önemli ölçüde sorumlu olduğunu ortaya koymuştur. Aminoglikozidlerin böbrekte birikmesinin apoptotik ve nekrotik yolları tetiklediği bilindiğinden, megalinin aminoglikozidle ilişkili nefrotoksisitede rol oynayabileceği düşünülmektedir.

2.4. B₁₂ Vitamininin Tanımı ve Tarihçesi

Kobalamin olarak da isimlendirilen B₁₂ vitamini, suda eriyen ve sadece mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilen bir vitamindir (Robertson vd., 1993).

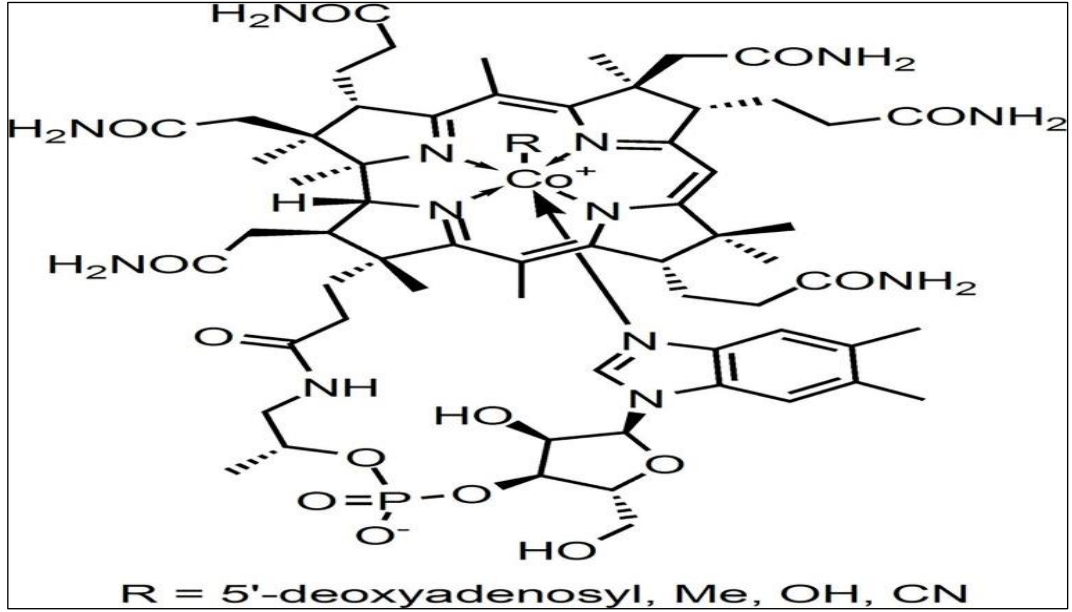
Esasen farklı türevleri olan bir vitamin grubudur. B₁₂ vitamini, genellikle bitkiler ve hayvanlar tarafından sentezlenemez. Etki gücü yüksek olan bu vitamin organizma için önemli bir besin maddesidir. Hematopoezde, sinir hücrelerinin sağlıklı çalışmasında ve DNA replikasyonunda önemli görevleri bulunmaktadır (Akış, 2012; Güngören, 2008).

B₁₂ vitamini ile ilgili çalışmalar, G. Minot ve W. Murphy'nin, fazla miktarda karaciğer tüketiminin pernisiyöz anemiye tedavi edebileceğini keşfetmeleriyle başlamıştır. Bu çalışmaları sebebiyle 1934 yılında Nobel ödülü almışlardır. B₁₂ vitamini ilk olarak 1947 yılında İngiltere'de Dr. E. Lester Smith tarafından karaciğerden izole edilmiş; 1948 yılında kristal saf B₁₂ vitamini keşfedilmiş ve tanımlanmıştır. B₁₂ vitamininin bu kristal yapısını X ışını kristalografisi ile gösteren Hodgkin'in çalışması da 1964 yılında Nobel kimya ödülünü kazanmıştır (Scott ve Molloy, 2012).

Daha sonra Woodward ve Eschenmoser B₁₂ vitaminini kimyasal bir yöntemle sentezlemişlerdir. Ardından aerobik *Pseudomonas denitrificans* ve anaerobik *Propionibacterium shermanii* kullanılarak biyosentetik B₁₂ vitamini üretilmiştir. Bu bakteriler B₁₂ vitamininin yüksek verimli üreticileri olup B₁₂ vitaminini tıbbi uygulamalar ve bilimsel araştırmalar için erişilebilir hale getirmiştir (Vijayaraghavan ve Dunn, 1951). Ardından, B₁₂ vitamininin ko-enzimatik işlevi keşfedilmiştir (Banerjee ve Ragsdale, 2003; Hodgkin vd., 1956). Ayrıca radyoaktif olarak işaretlenen B₁₂ vitamini kullanılarak B₁₂ vitamininin ince bağırsağın son kısmı olan ileumdan absorbe edildiği bulunmuştur (Alpers ve Russell-Jones, 2013).

2.4.1. B₁₂ Vitamininin Kimyasal Yapısı

B₁₂ vitamini, molekül ağırlığı yaklaşık 1355 Dalton olan bir makro moleküldür. Korrin halka, nükleotid grubu ve düzlemin ek grubundan meydana gelmektedir (Hodgkin, 1965).



Şekil 2.10. B₁₂ vitamininin kimyasal yapısı.

(Hodgkin vd., 1956).

Şekil 2.10.'da gösterildiği üzere korrin halka yapısı merkezinde kobalt elementine bağlı ve onun etrafını saran indirgenmiş 4 pirol halkasından oluşmaktadır (Kräutler, 2005).

Nükleotid grubu ribozoma N-glikozidik bağı aracılığıyla bağlanmış bazik 5.6-dimetilbenzimidazol bulunmaktadır. Bu sıradan bir nükleotid grubu değildir. 5.6-dimetilbenzimidazol ribonükleotid hem 3-fosfat yan zincirleri aracılığıyla pirol halkasına hem de kobalt atomuna bağlanmaktadır (Kräutler, 2005).

Düzlemin ek (R) grubu B₁₂ vitamininin 4 farklı gruba ayrılmasına neden olduğu için vitaminin adlandırılmasında kullanılmaktadır. İlk grup siyanür içeren siyanokobalamin formudur. İkincisi hidroksil bulunduran hidroksikobalamin formudur. Bu grup insanda en çok bulunan B₁₂ vitamini formudur. Üçüncü grup ise 5'deoksiadenozil bulunduran adenozyilkobalamin formudur. Dördüncü ve son grup ise metil şeklinde koenzim aktivitesine sahip metilkobalamin formudur. Bu gruplardan ilk ikisi stabil olup ilaç olarak kullanılırken diğerleri dokularda aktif koenzim olarak fonksiyon görürler (Hodgkin, 1965).

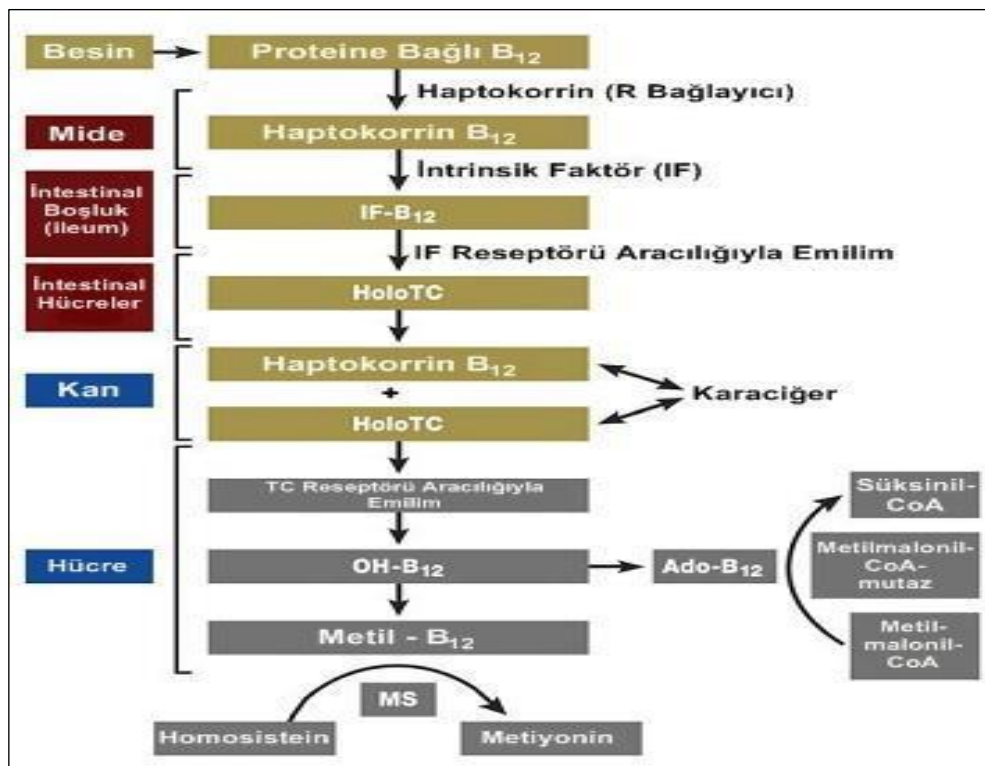
2.4.2. B₁₂ Vitamininin Farmakokinetiği

B₁₂ vitamini, diyetle alınan yiyeceklere bağlı olarak bulunur. Emilimi aktif ve pasif olmak üzere iki ayrı mekanizma ile olur. İnce bağırsaklara suprafizyolojik dozlarda (500 µg/gün) B₁₂ vitamini ulaştığında jejunum ve ileumdan direkt olarak pasif emilim gerçekleşir. Oral alımın yaklaşık %1 bu yolla absorbe edilmektedir. Aktif mekanizma ise; kobalaminin besinlerden ayrılması, R proteinlerine bağlanma, R proteinlerinin pankreas enzimlerince sindirilmesi ve intrinsik faktöre (IF) bağlanma, B₁₂ vitamini-IF bileşiğinin endositoz ile ince bağırsakta hücre içine alınması, Transkobalamin-II'ye bağlı B₁₂ vitamininin portal dolaşımına ana depo bölgesi olan karaciğere taşınması şeklinde 5 basamakta gerçekleşir (Fyfe vd., 2004; Rachmilewitz vd., 1977).

İntrinsik faktör, transkobalamin-II ve haptokorrin kobalaminin taşınmasında görevli proteinlerdir. IF mide fundusunda mukozal pariyetal hücrelerde sentez edilen, ısıya dayanıksız ve alkali ortamda stabil olabilen bir glikoproteindir. IF'nin her 1 mg'ı yaklaşık 30 µgr kobalamini bağlayabilmektedir (Tipton, 2016; Watanabe, 2007). İnce bağırsak hücrelerinden veya depolardan B₁₂ vitaminini alıp, dokulara taşıyan, glikolize olmamış bir proteindir. TC-II; plazmada, beyin, omurilik sıvısında ve seminal sıvılarda bulunmaktadır (Watkins ve Rosenblatt, 2016). Transkobalamin-O, TCI, transkobalamin-III, R bağlayıcı protein ve kobalofilin olarak da isimlendirilir. Haptokorrin, farklı derecelerde glikolize olmuş bir proteindir. Plazmada kobalaminlerin %80-90'ı haptokorrine bağlanmaktadır. Kobalamin bağlayıcı proteinler içerisinde kobalamine en yüksek affiniteye sahip olan proteindir (Carmel, 2003).

B₁₂ vitamininin ana emilim yolu aktif mekanizmadır. (Şekil 2.11.). Hayvansal gıdalarda proteinlere bağlı olarak bulunan B₁₂ vitamininin mideye ulaşması ile başlamaktadır (Chanarin ve Muir, 1978). Midede hidroklorik asit ve pepsin, proteine bağlı olan B₁₂ vitaminini proteinden ayırarak serbestleştirir. Serbest haldeki B₁₂ vitamininin büyük bir kısmı, tükürük ve midenin pariyetal hücrelerinden salgılanan R proteinine bağlanır, geriye kalan B₁₂ vitamini ise IF'ye bağlanır. Tükürük, süt, mide sıvısı ve safra gibi sekresyonlarda, fagositlerde ve plazmada bulunan R proteini aynı zamanda immün sistem savunmasında da rol oynamaktadır. B₁₂ vitamini-R bağlayıcı

protein kompleksi duodenuma ulaştığında, duodenum alkali ortamında pankreatik enzimler (özellikle tripsin) aracılığıyla R bağlayıcı protein sindirime uğrattılır ve serbest kalan B₁₂ vitamini glikoprotein olan IF'ye bağlanır (Nielsen vd., 2012; Rothenberg vd., 1978). B₁₂ vitamini-IF kompleksi proteolitik sindirime dirençlidir. B₁₂ vitamini-IF kompleksi ileumun distal 80 cm'lik kısmına parçalanmadan gelir. Distal ileuma geldiğinde ise bu kompleks mukoza epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan kübilin adı verilen 460 kDa'luk spesifik reseptöre bağlanır. B₁₂ vitamini-IF kompleksi endositoz ile hücre içine alınır. Kobalamin bazal membrandan portal kan dolaşımına geçmekte ve TC-II proteinine bağlanmaktadır (Kozyraki ve Cases, 2013).



Şekil 2.11. B₁₂ vitamininin taşınması ve hücresel emilimi.

IF: İntrinsik Faktör, HoloTC: Holotranskobalamin, OH-B₁₂: Hidroksikobalamin, Metil-B₁₂: Metilkobalamin, MS: Metiyonin Sentaz, AdoCbl: Adenozilkobalamin (Fyfe vd., 2004).

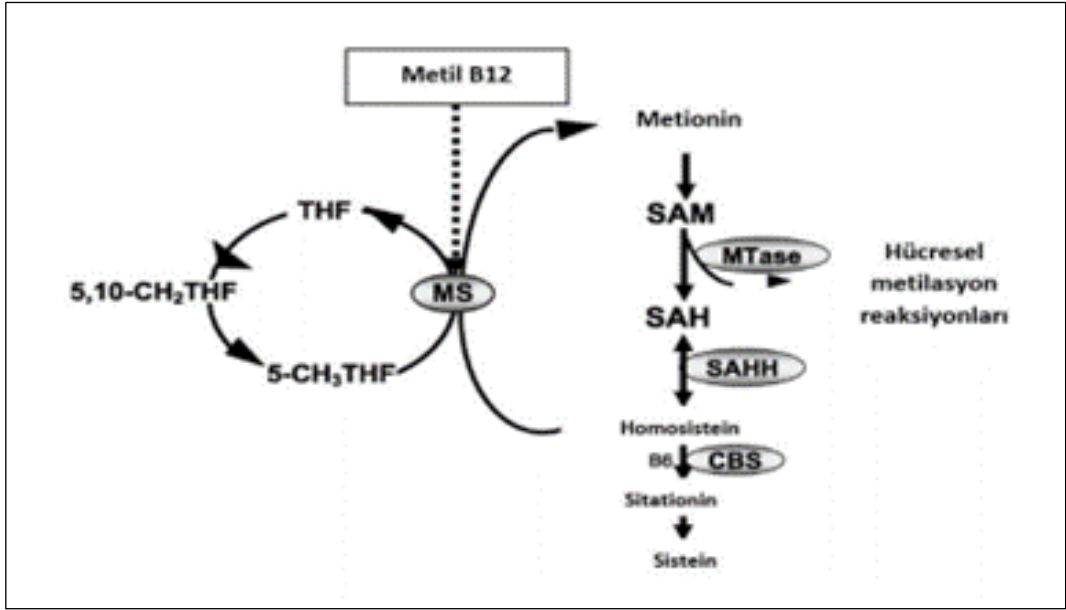
B₁₂ vitamini-IF kompleksinin kübilin reseptörüne bağlanabilmesi için Ca⁺² iyonu ve 5.5-7.5 arasında pH'nın olması gerekmektedir. B₁₂ vitamini reseptozom adı verilen asidik veziküllerde IF- B₁₂ vitamini kompleksinden ayrılarak TC-II'ye bağlanır (Lindemans vd., 1989). TCII- B₁₂ vitamini kompleksi dolaşıma salınır. Bu kompleks özellikle karaciğer, kemik iliği ve diğer dokuların plazma membranında bulunan TCII

reseptörleri tarafından hücre içine alınır. Hücre içine alınan TCII- B₁₂ vitamini kompleksi lizozomlarda parçalanarak B₁₂ vitamini serbest hale gelir. TC-II yeni absorbe edilen B₁₂ vitaminini bağlayabilir fakat dolaşımdaki B₁₂ vitamininin çoğu haptokorrine bağlıdır (Hall vd., 1987). TC-II eksikliğinde serum B₁₂ vitamini düzeyleri normal olmasına rağmen; plazmadan kemik iliğine ve diğer hücrelere B₁₂ vitamini girişinde yetersizliğe sebep olabildiği için megaloblastik anemiye neden olabilir. Haptokorrinin yapım yeri ise lökositlerdir. Myeloproliferatif hastalıklarda granülosit üretimi arttığı için serum haptokorrin ve B₁₂ vitamini düzeyleri artış gösterir (Amagasaki vd., 1990; Torunn vd., 1998).

Günlük besinlerle alınana eşit oranda B₁₂ vitamini de vücuttan atılır. Atılım karaciğer ve böbreklerden olur. B₁₂ vitamininin günde 1.4-9 µg'ı karaciğerden safraya geçerek bağırsaklara salınır (Jacobsen ve Glushchenko, 2009). Safra içinde bağırsağa atılan vitaminin enterohepatik siklusu nedeniyle büyük bir kısmı geri alınır. Safradaki B₁₂ vitamininin dışkı ile atılımı yaklaşık 0.4 µg/gün'dür. B₁₂ vitamininin enterohepatik dolaşımı IF'ye bağlıdır. IF yokluğunda B₁₂ vitamininin tamamı feçesle atılır (Seetharam ve Alpers, 1991).

2.4.3. B₁₂ Vitamininin Organizmadaki Görevleri

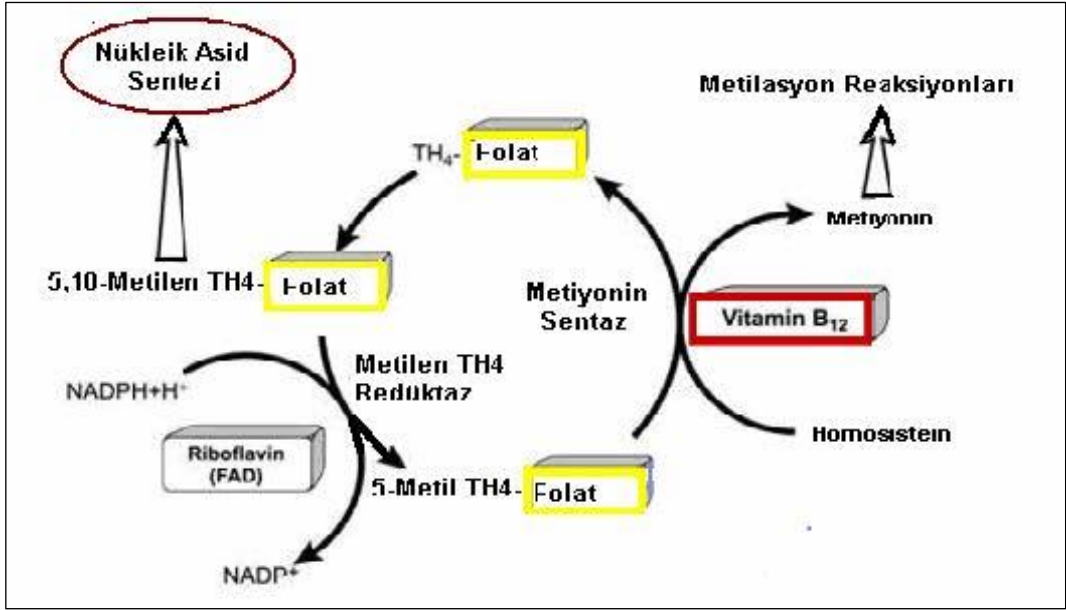
Metabolize olan B₁₂ vitamini; DNA sentezi, eritrosit üretimi ve miyelin kılıf sentezi gibi birçok reaksiyonda folik asitle beraber görev yapmaktadır (Zhang vd., 2015). Metilkobalamin, metiyonin oluşturmak üzere N-metil tetrahidrofolattan homosisteine metil grubu aktarılmasında görev alır (Şekil 2.12.). Bu reaksiyon aksayacak olursa folat mekanizması da etkilenir. B₁₂ vitamini eksikliği olan kişilerde DNA sentez bozuklukları ve megaloblastik değişiklikler görülmesinin nedeni de bu reaksiyonun aksamasıdır (Francis vd., 2005).



Şekil 2.12. Remetilasyon yolu ile metiyonin oluşumu.

THF: Tetrahidrofolat, MS: Metiyonin sentaz, SAM: S-adenozilmetyyonin,
 MTase: Metiltransferaz, SAH: S-adenozil homosistein, CBS: Sistasyon beta sentaz
 (Watkins ve Rosenblatt, 2016).

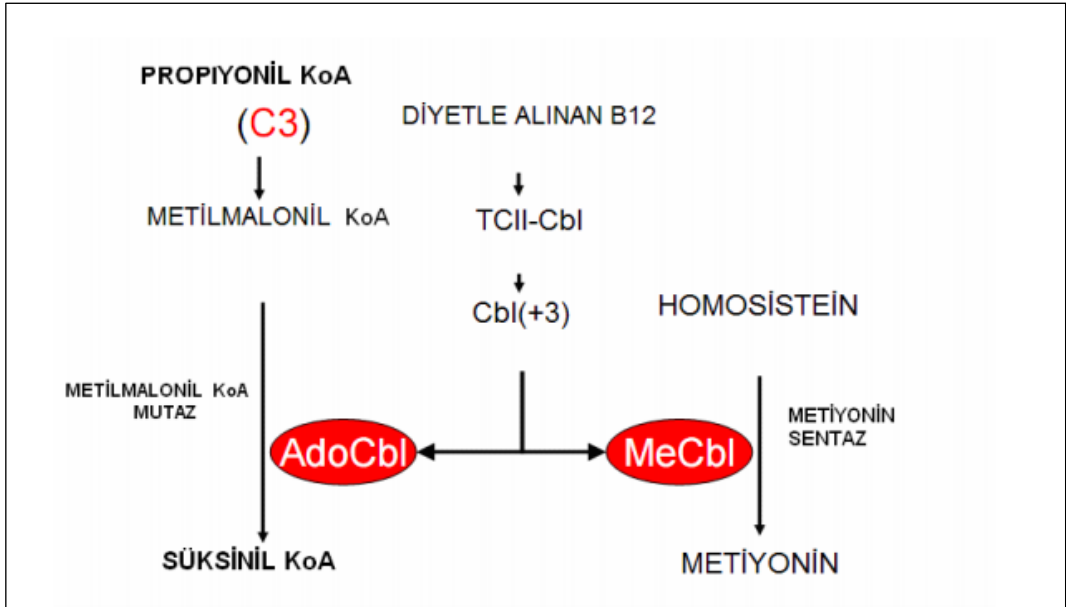
Kobalamin eksikliğinde görülen nörolojik komplikasyonlardan kısmi olarak homosisteinin metiyonine dönüşümünün bozulması sorumludur. Bu reaksiyon sonucu oluşan metiyonin, miyelin sentezi için gerekli olan kolin ve kolin içeren fosfolipidlerin üretimi için gereklidir (Şekil 2.13.). Kobalamin eksikliği folat metabolizmasından bağımsız olarak demiyelizasyona bağlı sinir sistemi hasarı ve nörolojik bulgulara neden olabilmektedir. Metiyonin eksikliğinin sonucu olarak S-adenozilmetyyonin açığı meydana gelir. S-adenozilmetyyonin, metil tetrahidrofolat redüktaz inhibitörüdür. Tetrahidrofolat redüktaz inhibe edilemediğinden metil tetrahidrofolat artış gösterir. Bu durum B₁₂ vitamini eksikliğinde oluşan nöropatileri açıklamak için öne sürülen hipotezlerden biridir (Ede ve Ayaz, 2016; Fowler vd., 2013).



Şekil 2.13. B₁₂ vitamini, folat ve DNA sentezi ilişkisi.

(Sönmezşık, 2009).

B₁₂ vitamininin adozilkobalamin formu, metilmalonil KoA'nın süksinil KoA'ya dönüşümünde kofaktör olarak görev yapar (Şekil 2.14.).



Şekil 2.14. Metyonin sentaz reaksiyonu ve süksinil KoA oluşumu.

KoA: Koenzim A, TC-II: Transkobalamin-II, Cbl: Kobalamin,

AdoCbl: Adozilkobalamin, MeCbl: Metilkobalamin

(Güngören, 2008).

Bakteri ve memeli sistemlerinde adenzilkobalamine bağımlı tek enzim metilmalonil KoA mutazdır. Adenzilkobalamin bağımlı metilmalonil KoA mitokondriyal matrikste bulunur. Bu kofaktörün yokluğunda metilmalonil KoA ve prekürsörü olan propiyonil KoA'nın dokudaki düzeyleri belirgin olarak artar. Biriken yağ asitleri hücre yapısına girerek, özellikle sinir sisteminde miyelin bozulmasına sebep olur ve nörolojik bulgulara yol açar (Bailey vd., 2011). Deneysel hayvanlarının NO'ya maruz bırakılması ile oluşturulan kobalamin nöropati çalışmaları, metilkobalamine bağımlı metiyonin sentez reaksiyonunun nöropati oluşumunda daha önemli olduğunu göstermiştir (Allen vd., 1993; Fowler vd., 2013).

2.4.4. B₁₂ Vitamini Kaynakları

B₁₂ vitamini insanda ince bağırsak ve kalın bağırsakta bulunan bakteriler tarafından az miktarda sentezlenmektedir. Bununla birlikte, bağırsak florasının değişikliği ve sentezlenen vitaminin absorpsiyonunun az olması nedeniyle vücudun ihtiyacı olan B₁₂ vitamini karşılanamamaktadır. İnsanlar için B₁₂ vitamininin kaynakları et, süt ürünleri, bazı deniz ürünleri ve yumurta gibi diyetel alıma bağımlı olan hayvansal gıdalardır (Stabler ve Allen, 2004). Tablo 2.1'de bazı besinlere ait B₁₂ vitamini içerikleri gösterilmektedir. Hayvanlarda ise at, kedi, köpek gibi monogastrik hayvanların dışarıdan alması gerekmekte olup, geviş getirenlerde buna gerek yoktur. Çünkü kobalt varlığında rumende bulunan *Selemonas*, *Peptostreptococcus* ve *Butyrvibrio* grubu bakteriler bu vitamini sentezleyebilir. Fermente ürünler veya bakteriyel kontaminasyon hariç bitkisel kaynaklı gıdalar normalde B₁₂ vitamini içermezler. Bununla beraber, baklagillerde bitki kökünde bulunan ve simbiyotik olarak yaşayan mikroorganizmalar tarafından sentezlenerek tanelerde depolandığı da bildirilmektedir (Dommissse, 1991; Payında ve Hansen, 2000).

B₁₂ vitamini besinlerde birkaç formda bulunmaktadır. Et ve balık çoğunlukla adenzilkobalamin ve hidroskobalamin ihtiva ederken, süt ürünlerinde bunların yanı sıra metilkobalamin de bulunur. Yumurta beyazı, peynir ve haşlanmış mezzit balığında küçük miktarlarda siyanokobalamin bulunur. Diyetle alınan B₁₂ vitamininin biyoyararlanımının %50 olduğu ifade edilmektedir (Hoey vd., 2009; Sobczyńska-Malefora vd., 2014).

Tablo 2.1. Bazı besinlerin B₁₂ vitamini içerikleri.

Besinler (100 g)	B ₁₂ vitamini içeriği (mcg)	
	USDA	TürKomp
Dana karaciğeri	59.3	133.5
Koyun eti	2.31	2.62
Yumurta	0.89	0.69
Yoğurt, tam yağlı	0.37	0.42
İnek sütü, tam yağlı	0.45	0.48
İstavrit	9.43	7.39
Alabalık	4.3	4.01

USDA: Amerikan Tarım Bakanlığı, TÜRKOMP: Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı

Bu çalışmada gentamisin'in neden olduğu nefrotoksisite üzerine B₁₂ vitamininin olası nefroprotektif etkisi araştırıldı. Bu amaçla böbrek dokusunda hasarı belirlemek için MDA düzeyleri, antioksidan (SOD) ve proinflatuar belirteçler (TNF- α , IL-6, IL-1 β) ölçülmüştür. Ek olarak, böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için sıçanların kanındaki üre ve kreatinin değerleri, aminoglikozidlerin etkisinde rolü olduğu düşünülen kalsiyum düzeyleri ve böbrek hasarı belirteçleri olan NGAL ve KIM-1 seviyeleri analiz edildi. Böbrekteki histopatolojik değişiklikler transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile değerlendirildi.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. DeneY Hayvanı

Çalışmamızda deneY hayvanı olarak Balıkesir Üniversitesi DeneY Hayvanları Üretim, Bakım, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (BAUN-DEHAM) alınan 10-12 haftalık, 280-420 gr. ağırlıklarında 42 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar standart ışık (12 saat aydınlık/12 saat karanlık), ısı ($22 \pm ^\circ\text{C}$) ve kafeslerde ad libitum besleme (pellet yem ve içme suyu) yapılarak barındırıldı. DeneYlere başlamadan önce sıçanların yedi gün süreyle ortama ve uygulamayı yapacak kişilere adaptasyonu sağlandı. Çalışmamız, Balıkesir Üniversitesi Hayvan DeneYleri Yerel Etik Kurulunda (BAUN-HADYEK) değerlendirilerek 24.02.2022 tarih ve 2022/1-13 sayılı karar ile onaylandı.

3.1.2. İlaçlar

Gentamisin (GENTA ampul, Menarini İlaç, Türkiye) 100 mg/kg/gün, B₁₂ vitamini (Vitamin B₁₂, V6629, Sigma) 3 µg/kg/gün olacak şekilde serum fizyolojik içerisinde çözdürülerek hazırlandı ve intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. DeneY Grupları ve Uygulama Protokolü

Hayvanlar tartılıp grup ağırlık ortalamaları birbirlerine yakın olacak şekilde randomize olarak altı gruba ayrılmış olup, uygulama prosedürü Tablo 3.1.'de gösterilmiştir. (n=7) Her bir sıçan, çalışma boyunca günlük olarak tartılmış ve

ağırlıklarına uygun dozlarda ilaç uygulaması yapılmıştır.

Tablo 3.1. Deney grupları ve ilaç uygulama prosedürü.

Gruplar	n	İlaç Uygulama Prosedürü (i.p.)	
		I. Hafta	II. Hafta
Kontrol Grubu	7	0.1 ml/kg SF	0.1 ml/kg SF
Gentamisin Grubu	7	0.1 ml/kg SF	100 mg/kg gentamisin
B1 Grubu	7	0.1 ml/kg SF	3 µg/kg Vit B ₁₂
B2 Grubu	7	3 µg/kg Vit B ₁₂	3 µg/kg Vit B ₁₂
Eş Zamanlı Tedavi Grubu (ET)	7	0.1 ml/kg SF	100 mg/kg gentamisin + 3 µg/kg Vit B ₁₂
Ön Tedavi Grubu (ÖT)	7	3 µg/kg Vit B ₁₂	100 mg/kg gentamisin + 3 µg/kg Vit B ₁₂

Kontrol grubuna tüm çalışma süresi boyunca 0,1 ml/kg serum fizyolojik uygulandı. Gentamisinin ve B₁₂ vitamininin dozu önceki çalışmalara dayanılarak belirlendi (Luo vd., 2014; Öztürk vd., 2021). Gentamisin grubu sıçanlara yedi gün boyunca intraperitoneal olarak gentamisin tedavisi uygulandı. B1 grubuna bir hafta boyunca B₁₂ vitamini ve B2 grubuna iki hafta boyunca B₁₂ vitamini uygulandı. Eşzamanlı tedavi grubu bir hafta boyunca hem gentamisin hem de B₁₂ vitamini kombinasyonu aldı. Ön tedavi grubunda, bir hafta boyunca yalnızca B₁₂ vitamini uygulandı ve ardından yedi gün boyunca gentamisin ve B₁₂ vitamini birlikte uygulandı.

3.3. Biyokimyasal Analizler

Tüm deney gruplarından, uygulamaların bitiminden 24 saat sonra ketamin/ksilazin anestezisi (90/10 mg/kg, i.p.) altında kan (kalpten) ve böbrek örnekleri (sol ve sağ böbrek) alındı. Kan örnekleri +4°C, 3500 rpm ve 15 dakika süreyle santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serum örnekleri analiz edilinceye kadar -

80°C saklandı. Serum örneklerinde, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında bulunan; Beckmann Coulter AU680 otoanalizörü kullanılarak serum üre, kreatinin ve kalsiyum (Ca) düzeyleri analiz edildi.

Sol böbrek örneklerine biyokimyasal analizler için homojenizasyon işlemi uygulandı (Spector vd., 1982). Hemolize kan analiz sonuçlarına etki edebileceğinden dokular öncelikle PBS tampon ile (0.01M, pH=7.4) yıkanarak artık kan uzaklaştırıldı. Dokuların aktivite kaybının engellenmesi amacıyla homojenizasyon işlemi süresince buz üzerinde çalışıldı. Dokular yaklaşık olarak 200 mg ağırlığında küçük parçalara ayrılarak içerisinde buz bulunan taşıma kaplarına yerleştirildi ve numaralandırılmış cam tüplere konuldu. Cam tüplerin her birine sırasıyla 1 ml Tris-HCl tamponu eklenerek homojenizatörle (Scientific Industries, Digital Distructor Genie, USA) 1600 devir/dakika hızda 2 dakika süreyle homojenize edildi. Bu işlem sonrası 1 ml daha Tris-HCl tamponu eklenerek 1 dakika süreyle tekrar homojenizasyon sağlandı. Homojenizasyon işlemi sonrası bütün tüpler +4 °C, 5000×g'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak biyokimyasal parametrelerin ölçümü için kullanıldı. Biyokimyasal parametreler ticari kitler (FineTest, Rat Kidney Injury Molecule-1 ELISA Kit, China), (FineTest, Rat Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin, China), (FineTest, Superoxide Dismutase ELISA Kit, China), (BTLAB, Rat Interleukin 6 ELISA Kit, China), (BTLAB, Rat Interleukin 1β ELISA Kit, China), (BTLAB, Rat Tumor Necrosis Factor Alpha ELISA Kit, China), (CAYMAN, Malondialdehyde Colorimetric Assay Kit, USA) kullanılarak ELISA okuyucuda (Heales Elisa Reader, Mb-508) analiz edildi.

KIM-1, NGAL ve SOD parametreleri analizi için tüm reaktifler, standart çözeltiler, dilüsyonlar ve numuneler kit talimatlarına göre hazırlandı. Mikroplatedeki her bir kuyucuğa 100 µl numune eklendikten sonra 37 °C'de 90 dakika boyunca etüvde inkübe edildi. Sonrasında mikroplate iki kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µl biyotin solüsyonu eklendi ve 37 °C'de 60 dakika boyunca etüvde inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra mikroplate 3 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µl SABC çalışma solüsyonu eklendi ve 37 °C'de 30 dakika boyunca etüvde inkübe edildi. Son olarak mikroplate 5 kez yıkandı ve 90 µl TMB substrat çözeltisi eklenerek 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi. 50 µl durdurma çözeltisi eklendikten sonra 450 nm'de okunarak hesaplandı.

Pro-inflamatuar belirteçler (IL-6, IL-1 β ve TNF- α) için kitlerde bulunan çözeltiler ve reaktifler prosedüre göre hazırlandı. Standart kuyucuğuna 50 μ l standart eklendi. Örnek kuyucuklarına 40 μ l örnek eklendikten sonra 10 μ l antikor koyuldu. Ardından örnek kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 μ l streptavidin-HRP eklendi. Plaka kapatılıp 37 $^{\circ}$ C’de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra plaka yıkama tamponuyla 5 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 μ l substrat A ve B çözeltileri eklendi ve 37 $^{\circ}$ C’de 10 dakika inkübe edildi. Son olarak her bir kuyucuğa 50 μ l durdurma solüsyonu eklenerek 10 dakika içinde 450 nm’de okunarak hesaplandı.

MDA düzeylerinin analizi için 1.5 ml santrifüj tüplerine 100 μ l numune eklendi. Her tüpe 100 μ l SDS çözeltisi eklenerek karıştırıldı. Ardından 800 μ l reaktif eklenerek tüpler sıkıca kapatıldı ve kuru banyoda 95 $^{\circ}$ C’ de 1 saat bekletildi. Reaksiyonu durdurmak için tüpler çıkarılarak buz banyosuna yerleştirildi ve 5 dakika boyunca buz üzerinde bekletildi. Sonrasında santrifüj tüpleri oda sıcaklığında 1600 x g’de 10 dakika santrifüjlendi. Her tüpten 200 μ l’yi kolorimetrik analiz için şeffaf plakaya aktarıldı. Son olarak 530-540 nm’de okunarak hesaplandı.

3.4. Transmisyon Elektron Mikroskopisi

Sağ böbrek dokularından medulla ve korteks kısımlarını birlikte kapsayacak 5 mm x 1 mm boyutlarında örnekler alınmıştır. Bu örnekler mümkün olduğunca hava ile temastan kaçınılarak içerisinde 3 birim Glutaraldehit: 20 birim PBS bulunan eppendorf tüplerde 24 saat +4 $^{\circ}$ C’de fiksasyona tabi tutulmuştur. Fiksasyon süresi tamamlandığında dokular steril mikrosantrifüj tüpleri içerisine alınıp en az üç kez PBS tamponla 15 dk süreyle yıkanmıştır. Daha sonra PBS ile hazırlanmış %1’lik osmiyum tetraoksit ile 2 saat oda ısısında rotatorda (TedPella, ABD) karıştırılarak son fiksasyonu yapılmıştır. Bu işlem sonrası tekrar 3 kez 15 dakika PBS solüsyonu ile yıkanmıştır. Ardından yükselen alkol serilerinde dehidrasyon işlemi tamamlanmıştır. Şeffaflaştırma işlemi için 2 kez 30 dakika propilen oksitte bekletilmiştir. Sonrasında eşit miktarda karıştırılmış propilen oksit ve resin CY212 solüsyonunda 2 saat boyunca rotatorda karıştırılmış ve ardından saf resin CY212 içerisine alınarak 1 gece rotatorda karıştırılmaya bırakılmıştır. Ertesi gün gömme işlemi yapılmış ve polimerizasyon (60 $^{\circ}$ C’de 48 saat) işlemi uygulanmıştır. Ultramikrotom (Leica, EM UC7, Leica Co,

Austria) ile elektron mikroskopik inceleme için 60 nm kalınlığında kesitler alınarak metanol içerisinde hazırlanmış %5'lik uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanmıştır (Kocman vd., 2020) Boyanan kesitler transmisyon elektron mikroskop (HITACHI, HT7800, Japan) ile incelenerek 100 kV'de fotoğrafları çekilmiştir.

3.5. İstatistiksel Yöntem

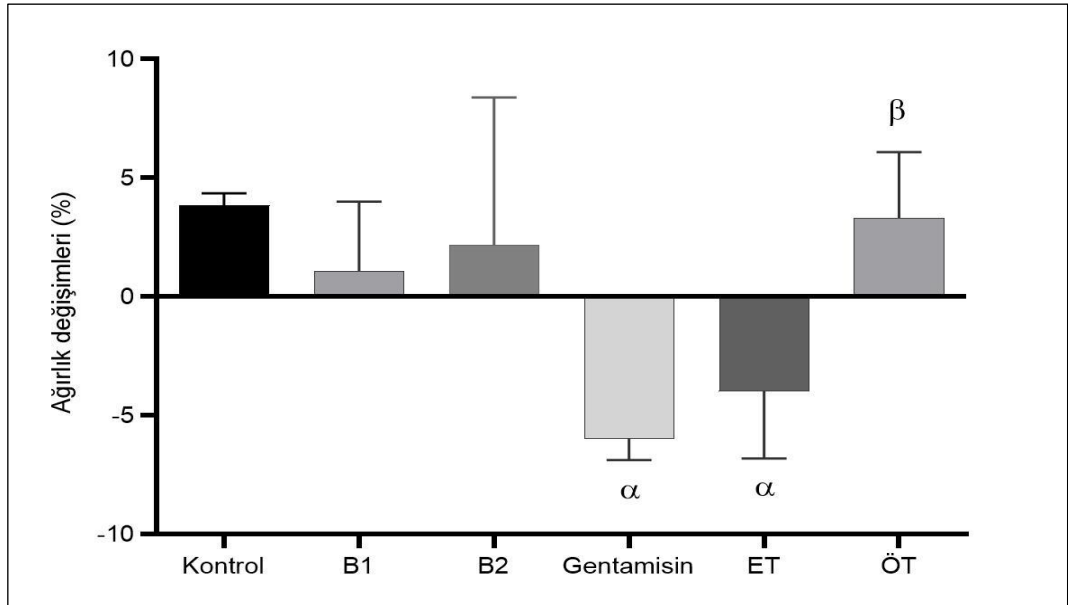
Elde edilen verilerin analizi için Prism 9.0 yazılımı (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, ABD) kullanılmış olup sonuçlar \pm SEM olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi ile analiz edildi. Analiz sonuçları 0.05'ten küçük p değerleri için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Çalışmanın etki büyüklüğü 0.75 olup testin gücü G*Power programıyla 0.95 olarak ölçülmüştür (Faul vd., 2009).

4. BULGULAR

Deney gruplarındaki sıçanlar günlük olarak takip edilmiş ve nefrotoksisite modeli uygulanan hayvanlarda 4. günden itibaren altlıklarında daha sık ıslanma, kirlilik, kambur duruş, huzursuzluk, kaşıntı, ishal ve kilo kaybı nefrotoksisite bulguları olarak kabul edilmiştir.

4.1. Vücut Ağırlık Değişimi (%)

Vücut ağırlık değişimleri (%) gruplar arası karşılaştırılmasında gentamisin (305.3 ± 10.91) ve ET (311.6 ± 27.91) gruplarında kontrol grubuna (379.7 ± 10.49) göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş gözlenmiştir [$F(2,21) = 8.870, p = 0.01$]. Ek olarak ÖT grubunda (323.6 ± 5.40) gentamisin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edilmiştir [$F(2, 21) = 10.44, p = 0.001$] (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Deney grupları ağırlık değişimleri (%) karşılaştırması.

Değerler ortalama±standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α: Kontrol grubuna göre, β: gentamisin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir. (n=7, $p < 0.05$; αα, ββ: $p < 0.01$)

Deney gruplarının son tartım ağırlık ortalamaları Tablo 4.1.'de verilmiştir.

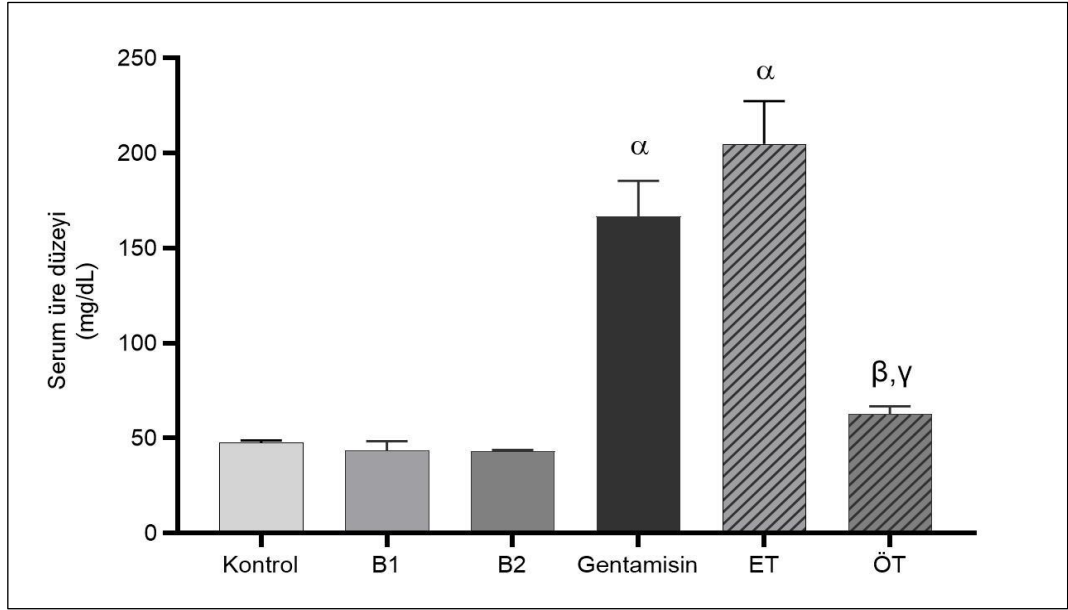
Tablo 4.1. Deney gruplarına ait son tartım ağırlık ortalamaları (Ortalama±SEM)

Gruplar	Ağırlık Ortalamaları
Kontrol	379.7±10.49
B1	354.3±8.41
B2	337.6±20.22
Gentamisin	305.3±10.91
ET	311.6±27.91
ÖT	323.6±5.40

4.2. Biyokimyasal Bulgular

4.2.1. Üre

Şekil 4.2.'deki grafik analiz sonuçlarına göre gentamisin (166.7±18.85) uygulaması üre değerlerinde kontrol grubuna (47.71±1.04) göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış oluşturmuştur. B₁₂ vitamini, gentamisin ile aynı anda uygulandığında (204.9±22.47) da kontrole göre anlamlı artış devam etmiştir. B₁₂ vitamini gentamisinden önce uygulanmaya başladığında (62.57±4.23), gentamisine bağlı olarak artan üre düzeylerini anlamlı olarak geri döndürmüştür [F (5.36) = 34.34, p < 0.0001]. Her iki B₁₂ vitamini grubunda da tek başına B₁₂ vitamini uygulaması üre değerlerinde kontrole göre değişiklik oluşturmamıştır.



Şekil 4.2. Deney grupları serum üre düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama±standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α: Kontrol grubuna göre, β: gentamisin grubuna göre, γ: ET grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

(n=7, p<0.05)

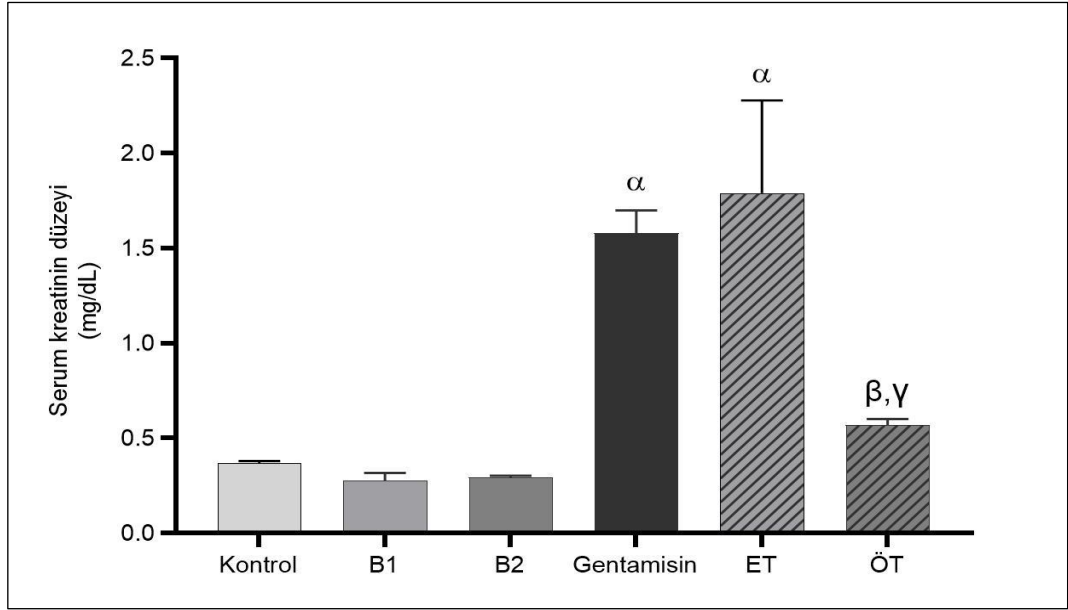
Deney gruplarının serum üre düzeyleri ortalaması Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Gruplara ait serum üre düzeyleri (Ortalama±SEM)

Gruplar	Serum Üre Düzeyleri (mg/dL)
Kontrol	47.71±1.04
B1	43.57±4.82
B2	43.00±0.78
Gentamisin	166.7±18.85
ET	204.9±22.47
ÖT	62.57±4.23

4.2.2. Kreatinin

Şekil 4.3.'deki grafik analiz sonuçlarına göre kontrol grubu (0.36 ± 0.01) ile Gentamisin (1.58 ± 0.11) ve ET (1.79 ± 0.48) grupları kıyaslandığında serum kreatinin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. ÖT grubunda (0.57 ± 0.03) ise kreatinin seviyelerinin gentamisin ve ET grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görülmüştür [F (5.36) = 8.012, p < 0.0007].



Şekil 4.3. Deney grupları serum kreatinin düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama±standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α: Kontrol grubuna göre, γ: ET grubuna göre anlamlılığı göstermektedir. (n=7, p<0.05)

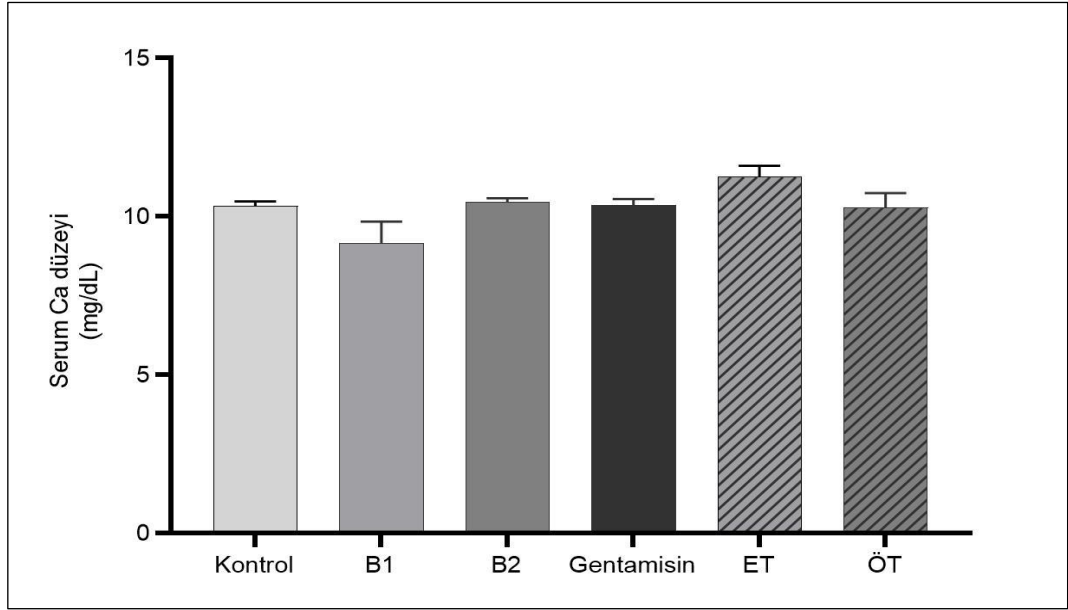
Deney gruplarının serum kreatinin düzeyleri ortalaması Tablo 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Gruplara ait serum kreatinin düzeyleri (Ortalama±SEM)

Gruplar	Serum Kreatinin Düzeyleri (mg/dL)
Kontrol	0.36±0.01
B1	0.27±0.03
B2	0.29±0.01
Gentamisin	1.58±0.11
ET	1.79±0.48
ÖT	0.57±0.03

4.2.3. Kalsiyum

Şekil 4.4.'deki grafik analiz sonuçlarına göre en yüksek serum kalsiyum düzeyine sahip ET grubu (11.26±0.35), en düşük serum kalsiyum düzeyine sahip B1 grubu (9.15±0.69) olarak gözlemlenmektedir. Deney grupları arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmamıştır. [F (3.24) = 2.291, p =0.1038].



Şekil 4.4. Deney grupları serum Ca düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama±standart hata (SEM) olarak verilmiştir. (n=7, p<0.05)

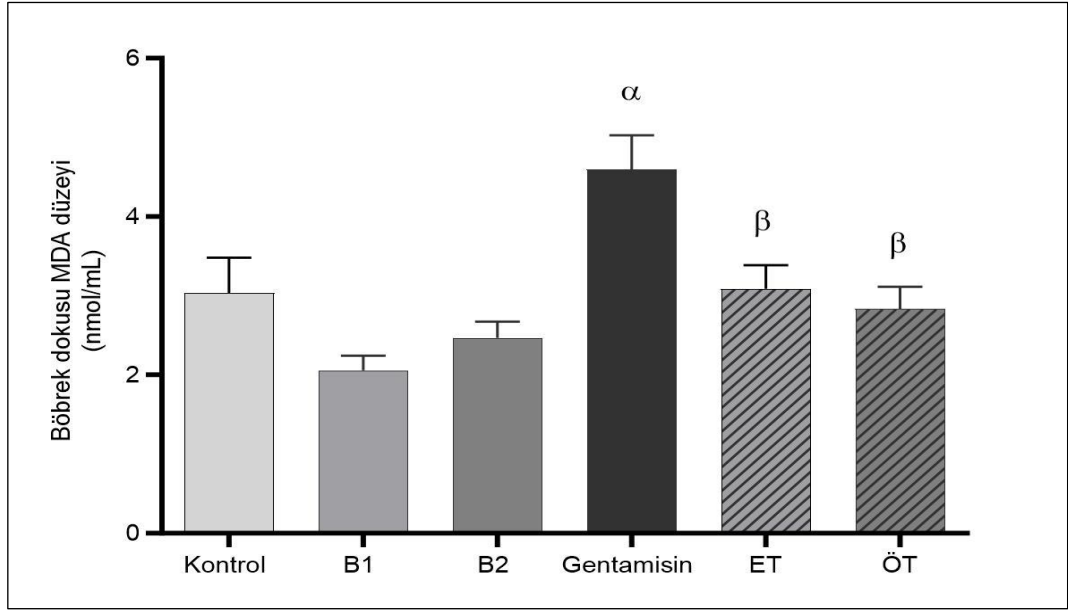
Deney gruplarının serum kalsiyum düzeyleri ortalaması Tablo 4.4.'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Gruplara ait serum kalsiyum düzeyleri (Ortalama±SEM)

Gruplar	Serum Kalsiyum Düzeyleri (%)
Kontrol	10.33±0.14
B1	9.15±0.69
B2	10.46±0.12
Gentamisin	10.37±0.19
ET	11.26±0.35
ÖT	10.30±0.44

4.2.4. Malondialdehit (MDA)

Gentamisin grubunda (4.59±0.43) kontrol grubuna (3.03±0.45) göre böbrek dokusu MDA düzeylerinin anlamlı oranda arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.5.). B₁₂ vitamini uygulamalarıyla ET (3.09±0.30) ve ÖT (2.83±0.28) grupları birlikte MDA düzeylerinde gentamisine bağlı artışın gerilediği ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir [F (2,18) = 7.615, p=0040]. Kontrol grubu ile B1 ve B2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.



Şekil 4.5. Deney grupları böbrek MDA düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama±standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α: Kontrol grubuna göre, β: gentamisin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir. (n=7, p<0.05)

Deney gruplarının böbrek dokusu MDA düzeyleri ortalaması Tablo 4.5.'de verilmiştir.

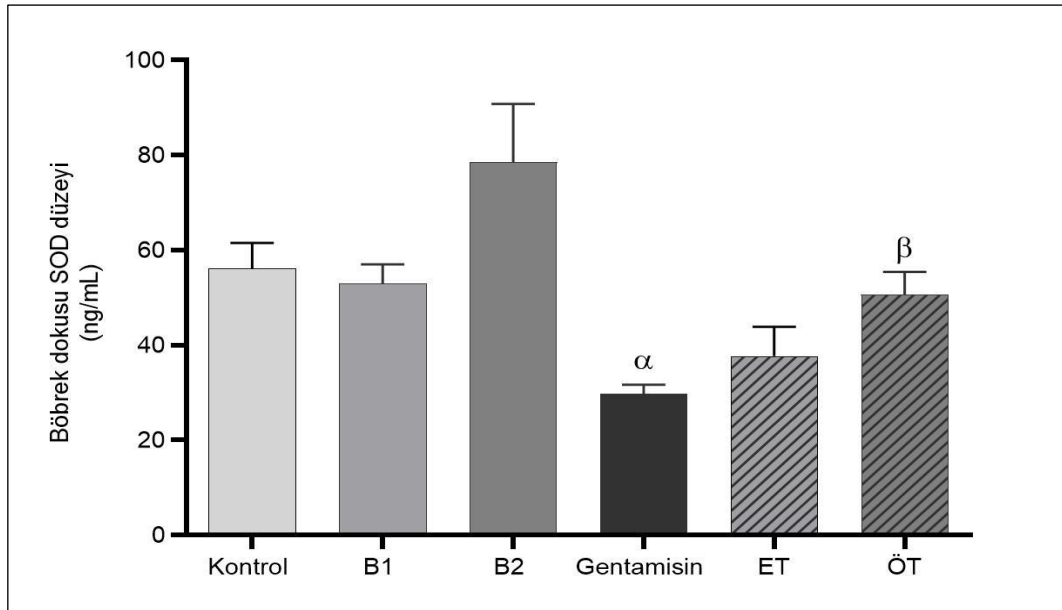
Tablo 4.5. Gruplara ait böbrek dokusu MDA düzeyleri (Ortalama±SEM)

Gruplar	Böbrek Dokusu MDA Düzeyleri (nmol/mL)
Kontrol	3.03±0.45
B1	2.05±0.18
B2	2.46±0.20
Gentamisin	4.59±0.43
ET	3.09±0.30
ÖT	2.83±0.28

4.2.5. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Gentamisin grubunun (29.73±1.97) en düşük böbrek dokusu SOD düzeyine sahip olduğu gözlemlenmektedir (Şekil 4.6.). Kontrol grubu (56.18±5.38) ile gentamisin grubu karşılaştırıldığında, gentamisin grubunda görülen azalmanın istatistiksel yönden anlamlı olduğu saptanmıştır. ÖT grubunda (50.70±4.76) ise B₁₂

vitamini uygulaması gentamisine bağlı azalan SOD düzeylerini istatistiksel açıdan anlamlı olarak artırmıştır [F (3.24) = 6.221, p =0028].



Şekil 4.6. Deney grupları böbrek SOD düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama±standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α : Kontrol grubuna göre, β : gentamisin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir. (n=7, p<0.05)

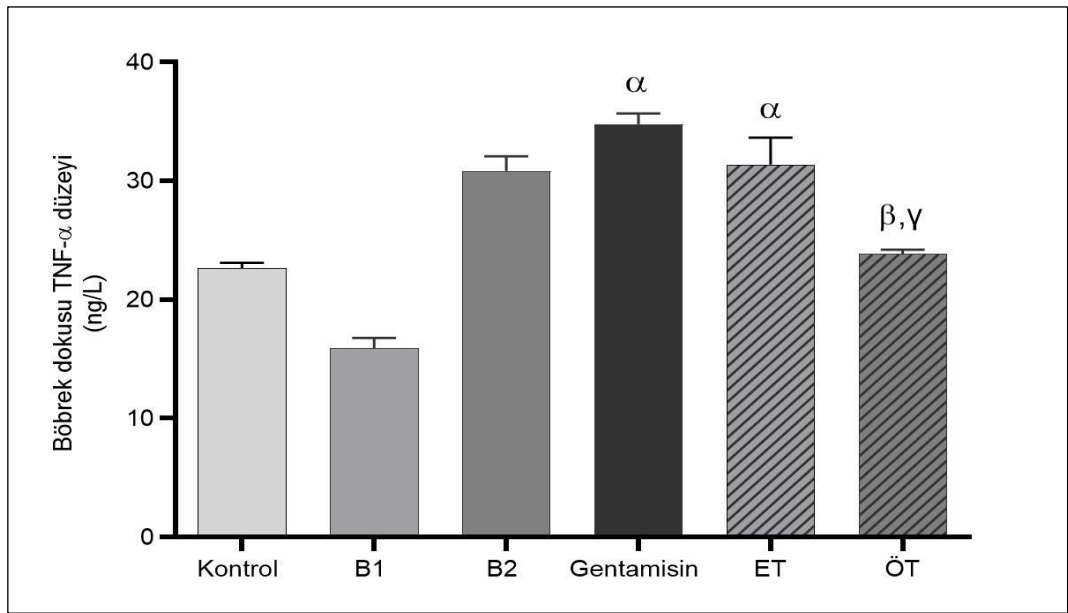
Deney gruplarının böbrek dokusu SOD düzeyleri ortalaması Tablo 4.6.'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Gruplara ait böbrek dokusu SOD düzeyleri (Ortalama±SEM)

Gruplar	Böbrek Dokusu SOD Düzeyleri (ng/mL)
Kontrol	56.18±5.38
B1	53.03±4.02
B2	78.50±12.29
Gentamisin	29.73±1.97
ET	37.68±6.16
ÖT	50.70±4.76

4.2.6. Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α)

Şekil 4.7.'deki grafik analiz sonuçlarına göre kontrol grubuyla (22.64 ± 0.46) gentamisin grubu (34.78 ± 0.92) karşılaştırıldığında böbrek dokusu TNF- α düzeyinin, gentamisin grubunda anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir. B₁₂ vitamini uygulaması, ET grubunda (31.39 ± 2.26) gentamisine bağlı artışı önleyememiştir. ÖT grubunda (23.85 ± 0.35) ise TNF- α düzeyleri B₁₂ vitamini uygulaması ile istatistiksel açıdan anlamlı olarak geri döndürülmüştür [F (3,24) = 21.85, p < 0.0001].



Şekil 4.7. Deney grupları böbrek TNF- α düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama \pm standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α : Kontrol grubuna göre, β : gentamisin grubuna göre, γ : ET grubuna göre anlamlılığı göstermektedir.

(n=7, p<0.05)

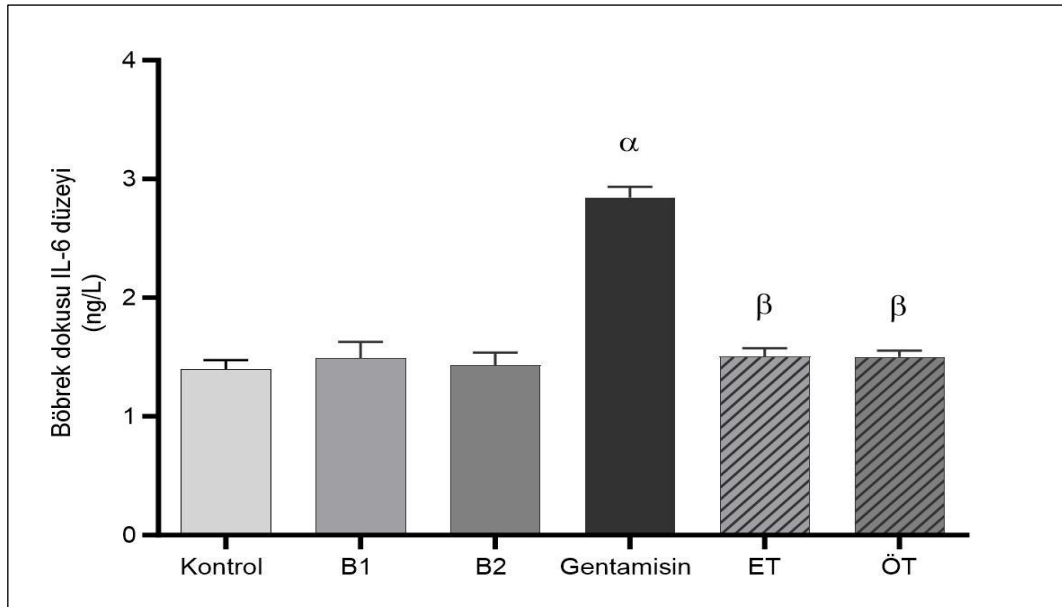
Deney gruplarının böbrek dokusu TNF- α düzeyleri ortalaması Tablo 4.7.'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Gruplara ait böbrek dokusu TNF- α düzeyleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Böbrek Dokusu TNF- α Düzeyleri (ng/L)
Kontrol	22.64 \pm 0.46
B1	15.90 \pm 0.88
B2	30.86 \pm 1.21
Gentamisin	34.78 \pm 0.92
ET	31.39 \pm 2.26
ÖT	23.85 \pm 0.35

4.2.7. İnterkökin-6 (IL-6)

Şekil 4.8.'deki grafik analiz sonuçlarına göre en yüksek IL-6 düzeyinin gentamisin grubunda (2.84 \pm 0.09) olduğu gözlemlenmiştir. Gentamisin grubuyla kontrol grubu (1.39 \pm 0.07) arasında IL-6 düzeyleri bakımından istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir. Tek başına Vitamin B₁₂ uygulanan gruplarda IL-6 düzeyleri kontrol grubuna göre fark göstermezken, B₁₂ vitamini uygulaması hem ET (1.50 \pm 0.07) hem ÖT grubunda (1.50 \pm 0.05) gentamisine bağlı artışı önlemiştir [F (3.24) = 85.82, p<0.0001].



Şekil 4.8. Deney grupları böbrek IL-6 düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama \pm standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α : Kontrol grubuna göre, β :Gentamisin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir. (n=7, p<0.05)

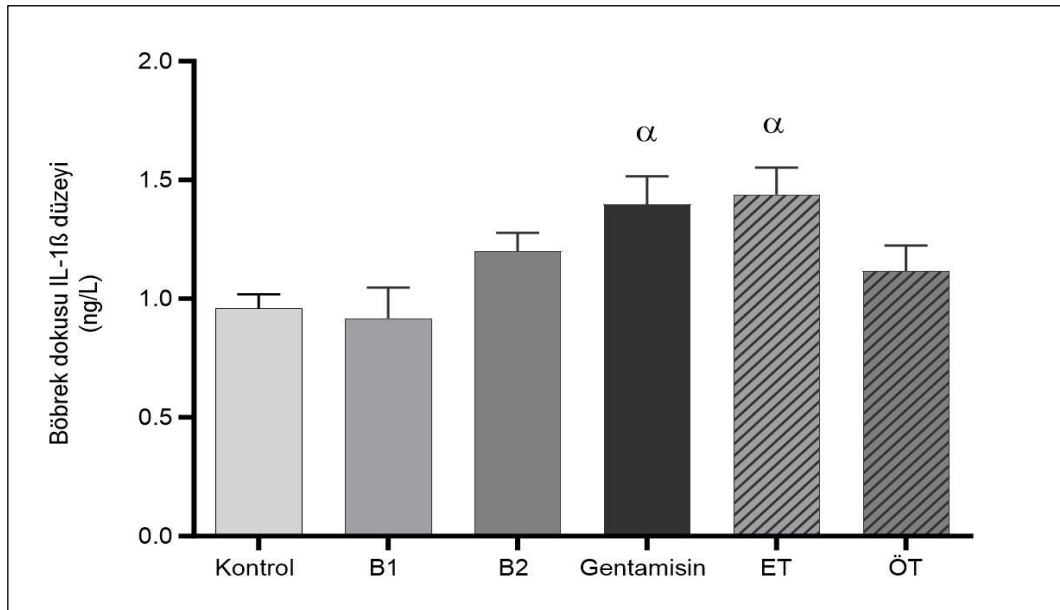
Deney gruplarının böbrek dokusu IL-6 düzeyleri ortalaması Tablo 4.8.'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Gruplara ait böbrek dokusu IL-6 düzeyleri (Ortalama±SEM)

Gruplar	Böbrek Dokusu IL-6 Düzeyleri (ng/L)
Kontrol	1.39±0.07
B1	1.49±0.13
B2	1.43±0.10
Gentamisin	2.84±0.09
ET	1.50±0.07
ÖT	1.50±0.05

4.2.8. İnterlökin-1 β (IL-1 β)

Gentamisin uygulaması (1.39±0.12) IL-1 β düzeylerini kontrol grubuna (0.95±0.06) göre anlamlı düzeyde arttırmıştır [F (3.24) = 4.990, p=0.0079]. ET grubunda (1.44±0.11) B₁₂ vitamini uygulaması gentamisine bağlı artışı önleyememiştir. ÖT grubunda (1.11±0.10) ise B₁₂ vitamini uygulaması gentamisine bağlı artışı azaltmakla birlikte anlamlı bir düşme gösterememiştir (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Deney grupları böbrek IL-1 β düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama±standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α : Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir. (n=7, p<0.05)

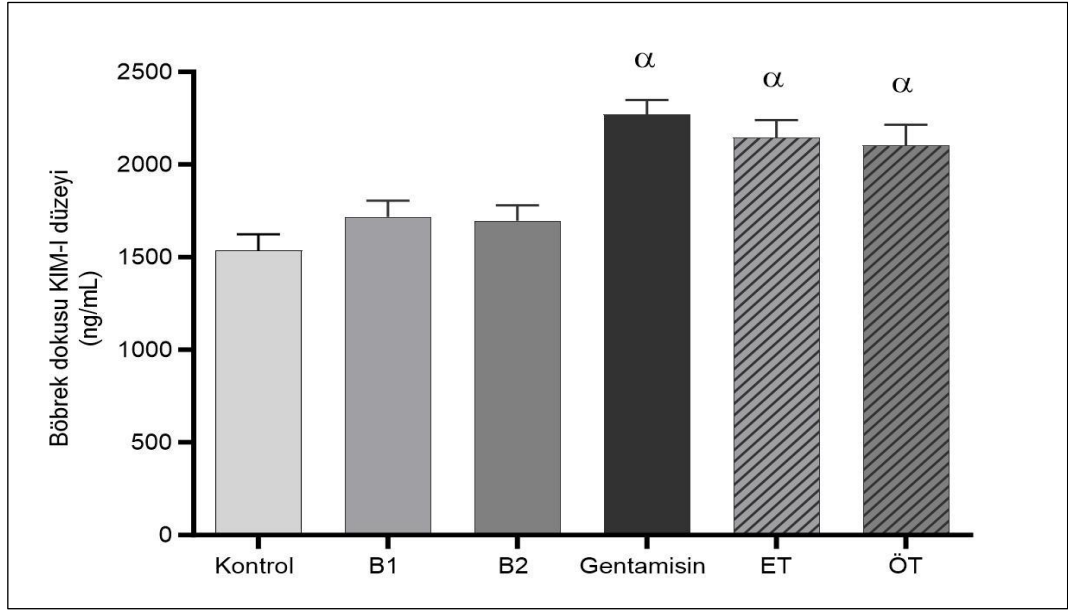
Deney gruplarının böbrek dokusu IL-1 β düzeyleri ortalaması Tablo 4.9.'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Gruplara ait böbrek dokusu IL-1 β düzeyleri (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Böbrek Dokusu IL-1 β Düzeyleri (ng/L)
Kontrol	0.95 \pm 0.06
B1	0.91 \pm 0.13
B2	1.20 \pm 0.08
Gentamisin	1.39 \pm 0.12
ET	1.44 \pm 0.11
ÖT	1.11 \pm 0.10

4.2.9. Böbrek Hasar Molekülü-1 (KIM-1)

Şekil 4.10.'daki grafik analiz sonuçlarına göre gentamisin grubunda (2271 \pm 77.34) ET (2148 \pm 92.70) ve ÖT gruplarında (2103 \pm 113.2) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. ET ve ÖT gruplarında da B₁₂ vitamini uygulaması gentamisine bağlı artışı önleyememiştir; bu gruplarda da kontrol grubuna (1536 \pm 87.31) göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. [F (3.24) = 12.21, p <0.0001]. Her iki B₁₂ vitamini grubunda da tek başına B₁₂ vitamini uygulaması KIM-1 değerlerinde kontrole göre değişiklik oluşturmamıştır.



Şekil 4.10. Deneysel grupları böbrek KIM-1 düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama±standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α: Kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir. (n=7, p<0.05)

Deneysel gruplarının böbrek dokusu KIM-1 düzeyleri ortalaması Tablo 4.10.'da verilmiştir.

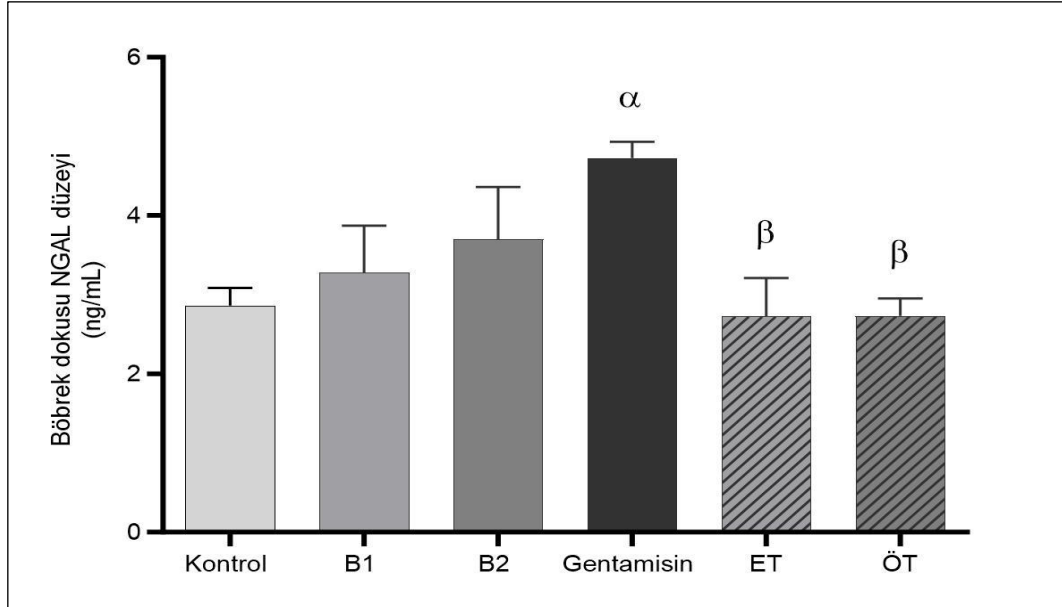
Tablo 4.10. Gruplara ait böbrek dokusu KIM-1 düzeyleri (Ortalama±SEM)

Gruplar	Böbrek Dokusu KIM-1 Düzeyleri (ng/mL)
Kontrol	1536±87.31
B1	1718±86.49
B2	1697±84.40
Gentamisin	2271±77.34
ET	2148±92.70
ÖT	2103±113.2

4.2.10. Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (NGAL)

Şekil 4.11.'deki grafik analiz sonuçlarına göre kontrol grubuyla (2.86±0.22) gentamisin grubu (4.73±0.20) karşılaştırıldığında böbrek NGAL düzeylerinde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Gentamisin grubuyla ET (2.72±0.49) ve ÖT (2.73±0.22) grupları arasında da istatistiksel olarak fark saptanmıştır. Gentamisinle beraber ve gentamisin uygulamasından önce başlanarak

uygulanan B₁₂ vitamini gruplarında böbrek NGAL düzeylerinin gentamisin grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ve kontrole değerlerine yaklaştığı görülmüştür [F (3,24) = 10.15, p=0.0002].



Şekil 4.11. Deneysel grupların böbrek dokusu NGAL düzeylerinin karşılaştırması.

Değerler ortalama±standart hata (SEM) olarak verilmiştir.

α: Kontrol grubuna göre, β:Gentamisin grubuna göre anlamlılığı göstermektedir. (n=7, p<0.05)

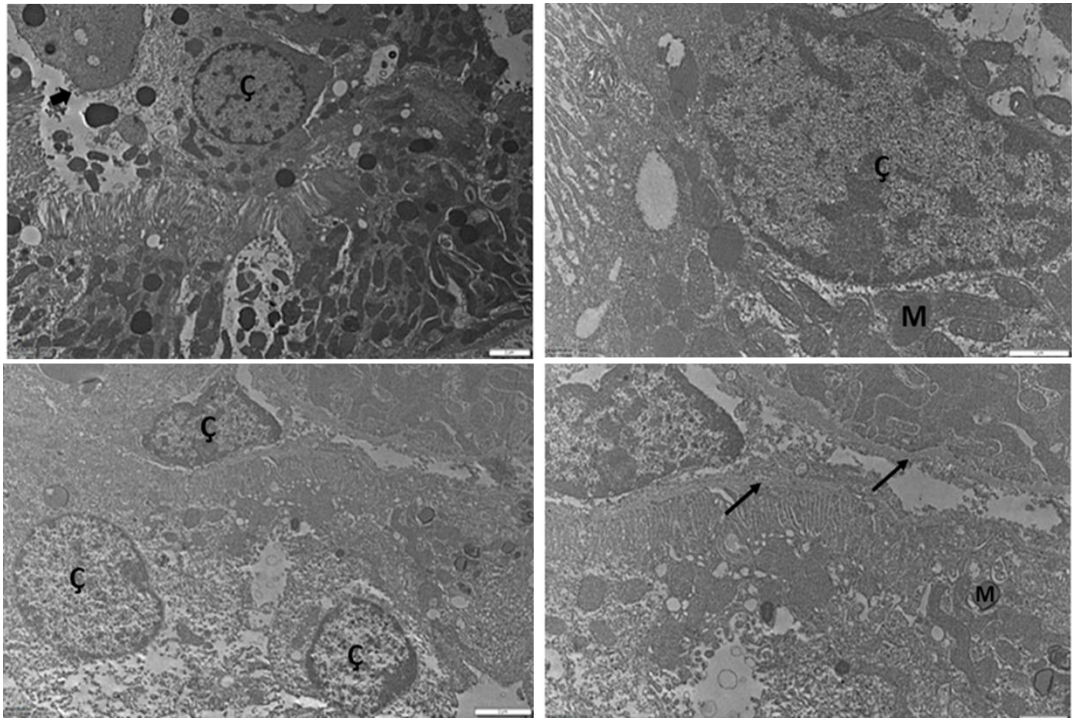
Deneysel gruplarının böbrek dokusu NGAL düzeyleri ortalaması Tablo 4.11.'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Gruplara ait böbrek dokusu NGAL düzeyleri (Ortalama±SEM)

Gruplar	Böbrek Dokusu NGAL Düzeyleri (ng/mL)
Kontrol	2.86±0.22
B1	3.28±0.59
B2	3.70±0.66
Gentamisin	4.73±0.20
ET	2.72±0.49
ÖT	2.73±0.22

4.3. Elektron Mikroskopik Bulgular

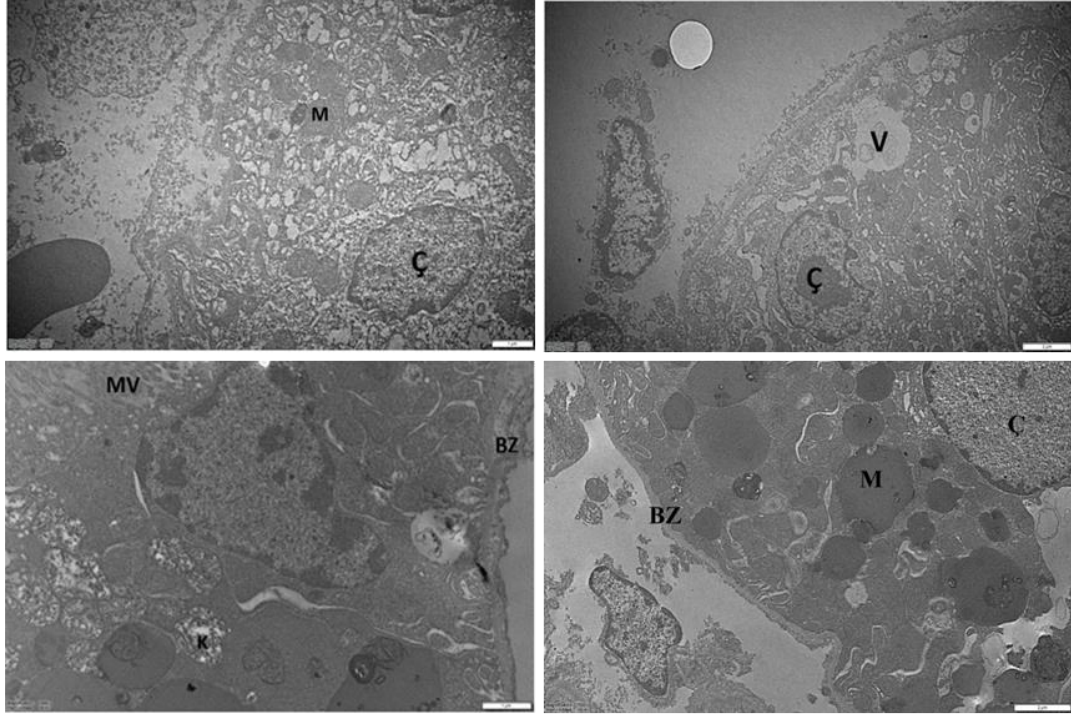
Kontrol grubu örneklerinin elektron mikroskopik bulgularına göre herhangi bir patolojik bulguya rastlanılmamıştır. Sitoplazmalarında bol miktarda mitokondri ve lizozom yer almaktadır. Çekirdek düzenli ve homojen görünümlüdür. Bol miktarda düzenli görünümde mitokondri bulunmakta olup düzenli zar ve krista yapıları açıkça görülebilmektedir. Renal tübüllerde bütünlük olup bazal lamina yapısı düzenlidir. Renal tübüllerdeki mikrovillus yapıları düzenli, bol, ince ve paraleldir (Şekil 4.12)



Şekil 4.12. Kontrol grubu sıçanların böbrek elektron mikroskobu görüntüleri.

Ç: Çekirdek, M: Mitokondri, Podositler:(➡➡), Bazal Zar (➡➡)

Gentamisin uygulanan gruplarda çekirdek zarı hasarları (çekirdek zarında içe doğru kıvrılmalar, çekirdek zarında küçülme ve heterokromatik görünüm), mitokondrielerde şekil bozuklukları, zar ve krista hasarları, bazal laminada bozulmalar ve mikrotübül yapılarında düzensizlikler, otofajik kofullar, stoplazmik debrisler ve koful oluşumları görülmektedir. Ek olarak elektronca yoğun görünüm, myeloid yapılar, mikrovilluslarda azalma ve düzensizlik bulunmaktadır (Şekil 4.13.).



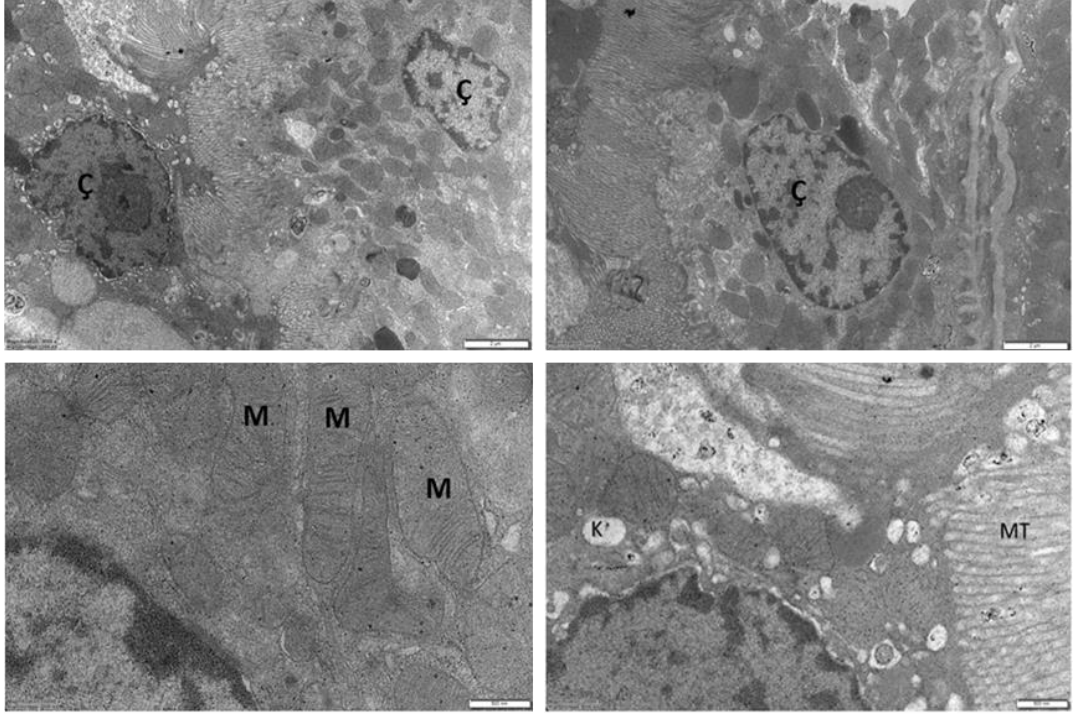
Şekil 4.13. Gentamisin grubu sıçanların böbrek elektron mikroskobu görüntüleri.

M: Mitokondrilerde şişme, Ç: Çekirdek zarında içe doğru kıvrılmalar ve heterokromatik görünüm

V: Hücrelerde vakuolizasyon, MV: Mikrovillus yapılarındaki azalma K: Koful oluşumu

BZ: Bazal zardaki bozulmalar

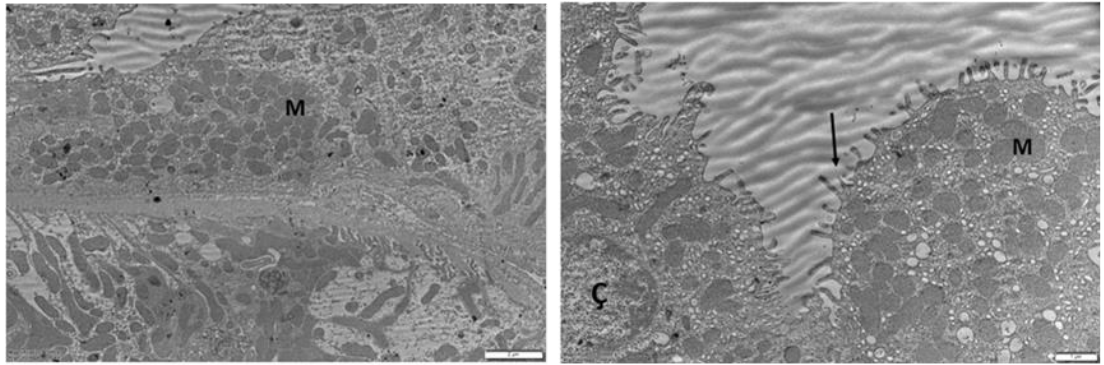
B1 grubu elektron mikroskobik bulgularında kontrol grubuna kıyasla çekirdekte kısmen hasarlar gözlemlenmiştir. Çekirdek heterokromatin yapıdadır ve dış zarda girinti-çıkıntılar artmıştır. Diğer yandan nispeten daha düzenli çekirdek yapısı gözlemlenmektedir. Çekirdekler genel olarak sağlıklıdır. Mitokondri görünümleri de genel olarak kontrol grubuna benzerlik göstermekte olup zar ve krista yapılarının düzenli olduğu görülmektedir. Ayrıca mikrotübül yapılar düzenli olup kontrol grubu ile benzerlik göstermektedir. Genel olarak mitokondri sayısında artış olmakla beraber genel yapı bütünlük içindedir. Ek olarak az sayıda koful ve otofajik koful benzeri yapılar da gözlemlenmiştir. Tüm bulgular göz önüne alındığında B1 grubunun genel olarak kontrol grubuna yakın sağlıklı bulgular içerdiği saptanmıştır (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. B1 grubu sıçanların böbrek elektron mikroskobu görüntüleri.

Ç: Çekirdekdeki heterokromatin yapı ve girinti-çıkıntılar, Ç: Nispeten daha düzenli çekirdek yapısı,
M: Düzenli mitokondri yapıları, MT: Düzenli mikrotübül yapıları, K: Koful

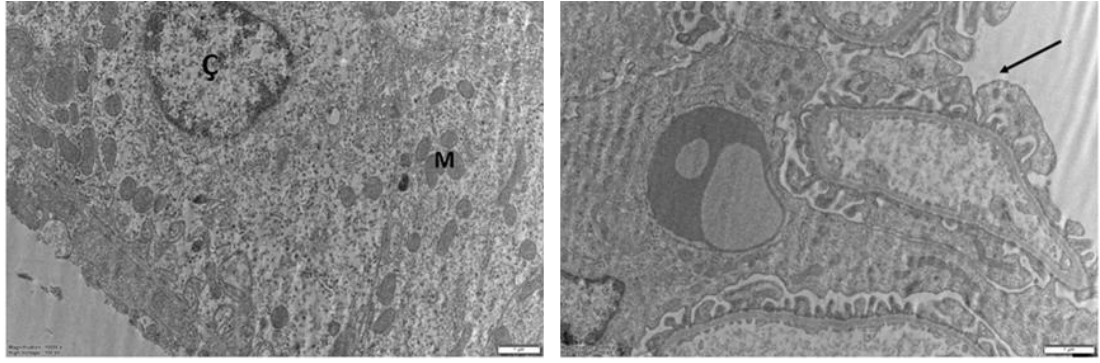
B2 grubunda en dikkat çeken özellik B1 grubuna göre çok daha sağlıklı ve düzenli doku morfolojisi bulunmasıdır. Mitokondriler bol miktarda, krista ve zar yapıları bütün olarak gözlemlenmektedir. Çekirdek sağlıklı, çekirdekçik ve zar yapıları düzenli görünümündedir. Mikrotübül, mikrovillus, bazal lamina ve renal tübül yapıları da oldukça düzenli görünümündedir. B2 grubu B1 grubuna göre kontrol grubuna daha yakın sağlıklı bulgular içermektedir (Şekil 4.15.).



Şekil 4.15. B2 grubu sıçanların böbrek elektron mikroskobu görüntüleri.

M: Krista ve zar yapıları bütünlük gösteren, bol miktarda mitokondri, Ç: Çekirdek, Podositler:(→),

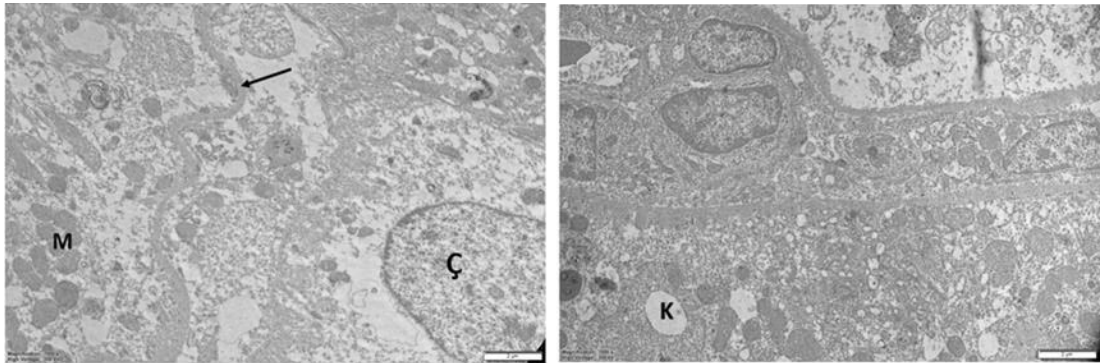
ET grubunda bazal laminanın çok düzenli, çekirdeğin eurokromatik yapıda oldukça büyük ve zar yapısının çok iyi korunmuş olduğu gözlemlendi. Mitokondriler oldukça sağlıklı ve intakt görünümde, zar ve krista yapıları ise düzenli olarak izlenmektedir. Glomerüler bölgede podosit yapıları düzenli görünümde (Şekil 4.16.).



Şekil 4.16. ET grubu sıçanların böbrek elektron mikroskobu görüntüleri.

Ç: Çekirdek ökromatik ve sağlam zar yapısı mevcut, M: Mitokondriler sağlıklı, düzgün zar ve krista yapılarına sahip, Glomerüler bölgede düzenli podosit yapıları: (→)

ÖT grubunda glomerüler bölgede podosit yapıları düzenli görünümde, mitokondriler oldukça sağlıklı ve düzenli olarak izlenmektedir. Çekirdek, bazal lamina ve mitokondri yapıları genel olarak düzenli görünümde olup koful yapıları da mevcuttur. Bunun yanı sıra lizozomal artış, tübül yapılarında hasarlar ve otofajik kofullarda gözlenmektedir (Şekil 4.17.)



Şekil 4.17. ÖT grubu sıçanların böbrek elektron mikroskobu görüntüleri.

M: Sağlıklı mitokondriler, Ç: Düzenli çekirdek yapısı, Bazal Zar (→), K: Otofajik koful ve lizozomal aktivitede artış

5. TARTIŞMA

Bulgularımız, sıçanlarda gentamisine bağlı ortaya çıkan nefrotoksisite üzerinde B₁₂ vitamininin koruyucu etkisinin olabileceğini göstermiştir. Gentamisin uygulamasına bağlı oluşan serum üre ve kreatinin seviyesi artışı, B₁₂ vitamini uygulamasının gentamisinden önce başlanması ile nlenmiştir. Hem ET hem de T gruplarında B₁₂ vitamini, böbrekte gentamisine indüklenen IL-6 ve NGAL düzeylerini önemli lde iyileştirerek ve T grubunda gentamisin uygulaması ile artan TNF- α seviyesini anlamlı olarak geri döndürerek antiinflamatuvar etki sağlamıştır. Benzer şekilde, B₁₂ uygulaması gentamisine bağlı artan böbrek MDA düzeylerini ET ve T gruplarında tersine çevirerek ve T grubunda gentamisin uygulaması ile azalan SOD düzeyini anlamlı olarak geri döndürerek antioksidan etkinlik göstermiştir.

Elektron mikroskopisi, fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak çeşitli mediatörlerin kan ve serum düzeyinde yükselmeye yol açabilecek değişiklikleri, ışık mikroskopunda patolojik bulgu saptanmazken görmemize olanak sağlar. B₁₂ vitamini uygulaması ile birlikte hem ET hem de T grubunda gentamisin toksisitesine bağlı hasar bulguları belirgin olarak gerilemiş görünümdedir. Elektron mikroskopisi sonuçlarında, ET ve T grupları arasında hafif farklılıklar mevcuttur ancak, bazal lamina, çekirdek ve mitokondrilerin düzenli olması gibi böbrek fonksiyonları için önemli olan parametrelerin hem T hem de ET grubunda sağlıklı görünümü böbrek dokusu ve serum değerlerindeki anlamlı düzelmeyi desteklemektedir.

Aminoglikozidler, sonrasında daha yeni antibiyotikler bulunmasına rağmen Gram negatif bakterilerin neden olduğu çeşitli enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gentamisin, geniş etki spektrumu, hızlı bakterisidal aktivitesi, nispeten düşük direnç oranı ve düşük maliyeti nedeniyle en yaygın kullanılan aminoglikozid antibiyotiklerden biridir. Son yıllarda hızla artan çoklu ilaç direnci, farklı antibiyotiklerle sinerjistik etkisi olan aminoglikozidlerle tedavinin halen etkin bir tedavi seçeneği olarak sürdürülmesine neden olmuştur (Leblebicioğlu, 2004; Chan, 2021). Ancak toksik etkileri klinikte güvenli kullanımını zorlaştırmaktadır. Bu

antibiyotiklerle tedaviye başladıktan 2-5 gün sonra hastaların %10-25'inde nefrotoksisite gelişebileceği öngörülmektedir (Mestry vd., 2020). Akut böbrek yetmezliği riskinin yüksek olması nedeniyle gentamisin alan hastalarda böbrek fonksiyonları yakından izlenmelidir.

Nefrotoksisite ile ilgili yapılan birçok deneysel çalışmada akut böbrek hasarı oluşturmak için aminoglikozidlerin prototip ilacı olan gentamisin kullanılmaktadır. Sıçanlarda gentamisin ile oluşturulan nefrotoksisite modellerinde, gentamisin grubu serum üre ve kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu durumun gentamisinin yol açtığı böbrek fonksiyonlarındaki bozulmaların bir göstergesi olduğu ifade edilmiştir (Karahana vd., 2005; Özsoy vd., 2022; Tomşa vd., 2022).

Kreatinin gerek beşerî gerekse veteriner hekimlikte glomerüler filtrasyon hızının dolaylı ölçüsü olarak en sık kullanılan parametredir. (Laker, 1996; Braun vd., 2008). Böbrek problemleri başta olmak üzere özellikle böbrekte filtrasyon yetersizliği olması durumunda serumdaki kreatinin seviyeleri artış göstermekte ve bu artış zayıf böbrek fonksiyonunun bir işareti olarak değerlendirilmektedir. Protein metabolizmasında aminoasitlerin son ürünü olan üre ise, karaciğerde üretilir ve böbrekler ile atılır (Akpolat ve Utaş, 2006).

Çalışmamızda daha önceki araştırmalarla uyumlu olarak gentamisin uygulanan gruplarda serum üre ve kreatinin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir. Bu bulgular, gentamisinin glomerüler ve tübüler toksik etkilerini gösteren önceki çalışmalarla paralellik taşımaktadır. B₁₂ vitamini gentamisinle birlikte uygulandığında üre ve kreatinin düzeylerinde gentamisinin oluşturduğu artışı değiştirememiştir. Bununla birlikte, B₁₂ vitamini ön-tedavi olarak başlandığında üre ve kreatinin seviyelerini kontrol değerlerine yaklaştırmıştır.

İsviçre albino sıçanlarında yapılan bir çalışmada, 5 gün boyunca 0.5-1 ml/kg/gün B₁₂ kompleksi enjeksiyonu, gentamisin (80mg/kg/gün) uygulaması nedeniyle artan serum üre ve kreatinin düzeylerini önemli ölçüde şiddetlendirmiştir. Araştırmacılar bu durumun B₁₂ kompleksi içinde bulunan askorbik asit bileşeninden kaynaklı olabileceğini düşünmüşlerdir. Bununla birlikte, B₁₂ kompleksi enjeksiyonları

10 gün süreyle verildiğinde bizim çalışmamıza benzer şekilde, gentamisin'in neden olduğu serum üre ve kreatinin artışını iyileştirmiştir. (Bello ve Chika, 2010).

Hajihashemi vd., (2017), sıçanlarda tek başına gentamisin (100 mg/kg, 8 gün, i.p.) veya eşzamanlı olarak B12 vitamini (6 mg/kg kobalamin) ile birlikte gentamisin uygulamasının kontrol grubuna kıyasla plazma kreatinin konsantrasyonunu anlamlı olarak değiştirmediğini; fakat B₁₂ vitamini uygulamasının plazma üre konsantrasyonunu gentamisin grubuna göre anlamlı derecede düşürdüğünü bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise uygulanan eş zamanlı tedavinin üre değerlerini azaltmadığını tespit ettik. Bu çalışmada uygulanan B₁₂ vitamininin bizim çalışmamızdan çok daha yüksek dozda (6mg/kg) uygulanması farkın nedeni olabilir.

Çalışmamıza benzer şekilde nefrotoksisite oluşturulan ve B₁₂ vitamini ile tedavi yapılan başka bir çalışmada ise bizim sonuçlarımıza benzer sonuçlar alınmıştır. Sıçanlarda metotreksat (20 mg/kg, tek doz, i.p.) ile indüklenen nefrotoksisitede serum üre ve kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttığı, B₁₂ vitamininin (0,5 mg/kg ve 1 mg/kg, i.p.) uygulandığı gruplarda ise serum üre ve kreatinin seviyelerinde anlamlı düşüşler görülerek kontrol grubu düzeylerine geldiği ifade edilmiştir (Abdulwahhab vd., 2022). Bu çalışmada B₁₂ vitamini aynı bizim çalışmamızdaki gibi nefrotoksisite oluşturulmadan önce ön tedavi şeklinde uygulanmaya başlanmıştır. Bu çalışma ile bizim çalışmamızın benzer sonuçlar gösterdiğini tespit ettik.

Kalsiyum organizmada hücre bölünmesi, hücrelerarası iletişim, kas kasılması ve B₁₂ vitamininin hücre içerisine alınması gibi birçok işleve katılır. Aminoglikozid nefrotoksisitesinin esas olarak oksidatif stres kaynaklı tübüler hasar oluşumuna bağlı olduğu düşünülse de son dönemlerde tübüler, glomerüler ve vasküler etkilerin birlikteliğine dikkat çekilmektedir. Gentamisin mezenjyal hücrelerde kalsiyum salıverilmesini arttırmaktadır. Bu artış kalsiyum bağımlı fosfolipaz A2, PAF ve tromboksan A2'nin sentez ve salıverilmesinin artmasına, ROS ve NO üretimini artmasına ve BCL-2/Bax değişikliklerinin indüklenmesine yol açar. Hücre içi araçların seviyelerindeki bu değişiklikler, mezenjyal hücrelerde gentamisin tarafından indüklenen kasılma, proliferasyon ve apoptozda kilit rol oynar (Klasterky vd., 1974). Bu nedenle çalışmamızda serum kalsiyum düzeyleri de değerlendirildi.

Gentamisin grubu dahil tüm gruplarda serum kalsiyum seviyelerinin artmadığı gözlemlendi. Medineli vd., (2021)'nin yaptığı çalışmada da bizim sonuçlarımızı destekler şekilde gentamisin serum kalsiyum düzeylerini arttırmadığı bildirilmiştir.

Gentamisin neden olduğu böbrek hasarının gelişiminde oksidatif hasar ve inflamasyon önemli ölçüde rol oynar (Aslankoç vd., 2019). Gentamisin böbrek mitokondrisinde süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali üretimini indüklediği bildirilmiştir (Lopez-Hernandez ve Lopez-Novoa, 2012; Ding ve Choi, 2014). SOD, vücudun serbest radikaller karşısında ilk savunma hattı olan enzimdir. Organizma için esansiyeldir ve süperoksit anyonlarına karşı en önemli endojen antioksidan enzimdir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Zelko vd., 2002).

B₁₂ vitamini eksojen antioksidanlardandır (Chan vd., 2018; Karamshetty vd., 2016; Moreira vd., 2011). Yapısında bulunan tiyosinat bağıyla oksijen bağlayarak hücrel oksidatif dengeyi iyileştirmekte ve güçlü bir antioksidan özellik göstermektedir (Yin vd., 2016; Sezgin, 2019). İndirgenmiş B₁₂'nin süperoksit ile SOD'unkine yakın bir oranda reaksiyona girdiği gösterilmiş ve B₁₂ vitamininin oksidatif stres koşullarında ikinci bir savunma hattı olarak hareket ettiği öne sürülmüştür (Li vd., 2020).

Gentamisin uygulamasına bağlı oluşan nefrotoksisitede SOD seviyelerindeki azalma daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Abdelsameea vd., 2015; Özsoy vd., 2022). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da diğer çalışmalarla uyumlu olarak gentamisin uygulaması ile böbrek dokusu SOD düzeylerinde belirgin bir düşüş gözlemlenirken, B₁₂ vitamini ile ön tedavi gentamisin neden olduğu bu azalmayı anlamlı olarak arttırmıştır. Literatürde gentamisin nefrotoksisitesinde B₁₂ vitamini uygulanmasının SOD üzerine etkileri ile ilgili bilgi bulunamamıştır. Bu nedenle farklı ilaçlar ile oluşturulan nefrotoksisite çalışmaları taranmıştır.

Yapılan bir çalışmada metotreksat (20 mg/kg, tek doz, i.p.) uygulanan sıçanların böbrek dokusunda SOD düzeylerinde istatistiksel olarak anlamsız hafif bir düşüş gözlemlendiği, metotreksat ile B₁₂ vitamininin (3 µg/kg, 15 gün, i.p.) beraber uygulandığı grupta ise SOD düzeylerinin kontrol ve B₁₂ vitamini gruplarına benzer olduğu ifade edilmiştir (Öztürk vd., 2021). Bu çalışmada böbrekte toksisite

oluşturmak için gentamisinden farklı olarak tek doz metotreksat kullanılmış olması SOD düzeylerindeki farklılığın sebebi olabilir.

Diğer bir çalışmada ise siklofosfamidin (150 mg/kg, tek doz, i.p.) neden olduğu nefrotoksisite sonucu azalan böbrek SOD ve glutatyon peroksidaz düzeylerinin B₁₂ vitamini (0.1 mg/kg, 7 gün, oral) uygulaması ile istatistiksel olarak önemli ölçüde artış sağladığı bildirilmiştir (Ghanim vd., 2020). Sonuçlarımız literatür sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Serbest radikal aktivasyonunun bir göstergesi de çoklu doymamış yağ asitlerinin içerdiği karbon bağ yapılarının oksidatif olarak bozulması sonucu lipit peroksidasyonunda gözlenen artıştır. Lipit peroksidasyonun ana ürünü ve en toksik olanı malondialdehit (MDA), doku hasarının iyi bir göstergesi olarak kabul edilir ve peroksidasyon düzeyini ölçmek için en sık kullanılan parametrelerdendir (Murray vd., 1996, Pisoschi ve Pop, 2015).

Gentamisin uygulamasına bağlı oluşan nefrotoksisitede MDA seviyelerinde artış olduğu önceki çalışmalarda ortaya konmuştur (Saeedavi vd., 2023; Yıldırım vd., 2017) Yapılan bir çalışmada gentamisin uygulamasına bağlı olarak böbrek dokusunda artan MDA düzeylerinin, B₁₂ vitamini uygulamasıyla anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (Hajhashemi vd., 2017). Aminoglikozidlere benzer şekilde nefrotoksisite oluşturan başka bir ilaç olan metotreksat ile indüklenen böbrek hasarında da sıçanlarda siyanokobalamin uygulaması, metotreksat uygulamasına bağlı olarak artan MDA düzeylerini kontrol grubu değerlerine yaklaştırmıştır (Abdulwahhab vd., 2022). Çalışmamızda da literatür bilgileri ile uyumlu olarak gentamisin grubu sıçanlarının böbrek dokusunda MDA düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda arttı. B₁₂ vitamini uygulanan gruplarda ise MDA seviyeleri kontrol değerlerine yaklaştı. Literatür verileri ve sonuçlarımız, B₁₂ vitamini uygulamasının oksidatif strese bağlı oluşan lipid peroksidasyonunu azaltarak böbrekte koruyucu rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Gentamisin tarafından indüklenen nefrotoksisite, böbrek dokularında aşırı ROS üretimi yoluyla inflamatuvar süreçleri de arttırmaktadır. Bu sebeple nefrotoksisitenin patogenezinde oksidatif stres kadar inflamasyonun da önemli rol

oynadığı ifade edilmiştir (Mahmoud vd., 2014). İnflamasyonda önemli olan biyobelirteçlerden bazıları temel pro-inflamatuvar sitokinler olan IL-1, IL-6 ve TNF- α 'dır.

Gentamisin uygulaması ile nefrotoksisite oluşturulan birçok çalışmada TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi proinflamatuvar belirteçlerin düzeylerinin istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir (Ansari vd., 2016; Atsamo vd., 2021). Çalışmamızda böbrek dokusu TNF- α , IL-6 ve IL-1 β düzeylerinin, gentamisin grubunda anlamlı derecede arttığı görülmüştür. Gentamisine eş zamanlı ve bir hafta öncesinden başlanarak uygulanan B₁₂ vitamini, IL-6 düzeylerini her iki grupta da kontrol düzeylerine yaklaştırmıştır. Gentamisin uygulamasından bir hafta öncesinde ön-tedavi olarak uygulanan B₁₂ vitamini, gentamisine bağlı TNF- α düzeyi artışını istatistiksel olarak anlamlı oranda engellemiştir. Benzer şekilde, gentamisinden bir hafta öncesinde başlanan B₁₂ vitamini, gentamisine bağlı IL-1 β düzeyini artışını azaltmıştır, ama anlamlı olarak değiştirememiştir.

Yapılan bir çalışmada tamoksifenin (45 mg/kg, 30 gün, oral) neden olduğu böbrek hasarı sonucu artış gösteren TNF- α ve IL-6 düzeylerinin tamoksifenle eş zamanlı uygulanan siyanokobalamin (6 mg/kg, 30 gün, i.p.) ile önemli ölçüde gerilediği gözlemlenmiştir (Alshanwani vd., 2021). Sıçanlarda asetik asit ile indüklenen kolit modelinde, aynı şekilde artış gösteren TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi proinflamatuvar belirteç düzeylerinin B₁₂ vitamini (1 mg/kg, 3 gün, i.p.) uygulamasıyla kontrol grubu düzeylerine geldiği ifade edilmiştir (Özsoy vd., 2023). Arsenik kaynaklı hücre toksisitesinde de sıçanlarda artmış serum TNF- α ve IL-6 seviyeleri B₁₂ vitamini (0.63 μ g/kg, 30 gün, oral) uygulanması ile önemli ölçüde düzelmiştir (Mukherjee vd., 2006) Çalışmamızda da B₁₂ vitamini uygulaması, önceki çalışmalarla tutarlı olarak IL-6 düzeylerini her iki grupta da kontrol düzeylerine yaklaştırmıştır. TNF- α artışını ön-tedavi ile engelleyebilmiş, bununla birlikte IL-1 β üzerinde anlamlı etkiler ortaya koyamamıştır. Aradaki fark diğer çalışmalarda daha yüksek doz B₁₂ vitamini kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Fakat sonuçlar aynı doğrultudadır.

NGAL, esas olarak nötrofillerin salgılayıcı bir akut faz proteindir (Nakov, 2019; Thorsvik vd., 2017). Fizyolojik koşullarda glomerüllerden filtre olan NGAL'ın, hemen hemen tamamına yakını proksimal tübülden eksprese olan megalin reseptörleri

aracılığıyla absorbe edilir ve endositoz ile hücre içine alınır. Sonuçta da sağlıklı bireylerde idrarda düşük miktarlarda bulunur (Kjedsen ve ark., 1993; Goetz ve ark., 2000). NGAL, özellikle nefrotoksik ve iskemik hasardan sonra belirgin ve bol miktarda plazma ve idrardan eksprese edilmektedir. Ek olarak NGAL inflamasyon, enfeksiyon ve böbrek hasarının bir biyobelirtecidir (Bennett vd., 2008).

Potansiyel böbrek hasarı biyobelirteçleri arasından en umut verici olanlardan bir tanesi Böbrek Hasarı Molekülü-1 (KIM-1)'dir (Waanders vd., 2010; Moresco vd., 2018). İlk olarak Ichimura tarafından akut böbrek hasarı sonucunda idrara geçen bir böbrek tübül hasar belirteci olarak tanımlanmış olup daha sonra kronik böbrek hastalıklarında uzun dönem prognozunu da gösterdiği tespit edilmiştir (Ichimura vd., 1998; Song vd., 2019).

Gentamisine indüklenmiş nefrotoksisitede KIM-1 ve NGAL düzeylerinin oluşan böbrek hasarı sonucu arttığı çalışmalarda gösterilmiştir (Adil vd., 2016; Al-Kuraishy vd., 2020; Fouad ve Ahmed, 2021). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak gentamisin uygulanan grupta KIM-1 ve NGAL düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttığı gözlemlenmiştir. Gentamisine beraber ve gentamisin uygulamasından önce başlanarak uygulanan B₁₂ vitamini gruplarında böbrek NGAL düzeylerinin gentamisin grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ve kontrol değerlerine döndüğü görülmüştür. Bununla beraber, B₁₂ vitamini uygulaması gentamisine bağlı böbrek hasarı sonucu artan KIM-1 düzeylerinde bir değişiklik meydana getirememiştir. Bunun nedeni, çalışmamızda direkt olarak böbrek dokusu KIM-1 düzeylerinin değerlendirilmiş olması olabilir.

Gentamisin nefrotoksisitesinde anahtar faktör, ilacın proksimal tübül epitel hücrelerinde birikmesidir. İlacın bu hücrelerdeki yüksek birikimi, megalin ve kübilin olarak adlandırılan protein ve katyonları taşıyan endositik bir reseptör kompleksinin proksimal tübüllerde yoğun olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu kompleksin aminoglikozidleri endositozla hücre içine taşıdığı bildirilmiştir. Aminoglikozidlerin alımının büyük olasılıkla taşıma aracılığıyla bir sürecin sonucu olduğu ve doyurulabilir bir süreç olduğu bulunmuştur. Megalinin, aminoglikozidlerin böbrek proksimal tübüllerine alımında ve nefrotoksisitede önemli bir role sahip olduğunu ileri sürülmektedir (Nagai vd., 2001). Ayrıca, megalinin, vitamin ve hormon bağlayıcı

proteinler, lipoproteinler, albümin ve hemoglobin gibi birkaç taşıyıcı protein dahil olmak üzere en az 30 farklı ligandı bağladığı rapor edilmiştir (Christensen ve Birn, 2002). Megalin knock-out farelerde gentamisin birikiminin büyük ölçüde azalması; megalin vasıtası ile endositozun nefrotoksisitenin ana yolu olduğunu göstermiştir (Schmitz vd., 2002).

Megalin, aminoglikozidlerin yanısıra, polimiksin B (Moestrup vd., 1995) ve kolistin gibi nefrotoksik ilaçların alımına da aracılık eder (Suzuki vd., 2013). Ayrıca bir karbapenem antimikrobiyal olan imipenem ile birlikte kullanılan silastatin de megaline doğrudan bağlanmaktadır. Silastatinin öncelikli uygulanmasının, megalinin diğer megalin ligandı ilaçlarla bağlanmasını rekabetçi bir şekilde inhibe ettiği ortaya konmuştur. Silastatin, megalini bloke ederek gentamisin, kolistin, vankomisin ve sisplatinin neden olduğu nefrotoksisiteyi etkili bir şekilde baskılamaktadır (Hori vd., 2017).

B₁₂ vitamini plazmada TC'ye bağlanır ve bu kompleksin taşınmasında da megalinin yüksek afiniteli bir reseptör olduğu belirlenmiştir (Moestrup vd., 1996). TC-B₁₂ glomerüllerde filtrelenir ve B₁₂ vitamininin tübüler geri emiliminin bağırsak alımına eşit olduğu tahmin edilmektedir. Megalin eksikliği olan farelerde B₁₂ vitamini ve TC'nin idrarla atılımı oldukça yüksektir. Ayrıca, vitamin yüklenen hayvanlarda böbreklerde büyük miktarda B₁₂ vitamini birikimi gözlenmiştir. Çalışmamızda B₁₂ vitamini, gentamisin uygulamasından önce başladığında daha etkin bir koruma sağladığı ve hasarı engellediği görülmüştür. Bu nedenle, B₁₂ vitamininin gentamisinin megaline bağlanmasını inhibe ederek aminoglikozid birikimi ile ilişkili nefrotoksisiteyi hafifletmiş olabileceği de düşünülebilir. Yine de çalışmamızın kısıtlılığı olarak, çalışmamızda doğrudan bunu destekleyecek bir parametre incelenmediğinden tüm sonuçları buna bağlamak mümkün değildir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada gentamisin ile birlikte veya öncesinde başlanarak verilen B₁₂ vitamininin gentamisinin neden olduğu nefrotoksisite üzerine etkileri karşılaştırılmış ve B₁₂ vitamininin olası nefroprotektif etkisi araştırılmıştır. Bulgularımız, sıçanlarda gentamisine bağlı ortaya çıkan nefrotoksisite üzerinde B₁₂ vitamininin koruyucu etkisinin olabileceğini göstermiştir. Gentamisin uygulamasına bağlı oluşan serum üre ve kreatinin seviyesi artışı, B₁₂ vitamini uygulamasının gentamisinden önce başlanması ile önlenmiştir. Hem ET hem de ÖT gruplarında B₁₂ vitamini, böbrekte gentamisine indüklenen IL-6 ve NGAL düzeylerini önemli ölçüde iyileştirerek ve ÖT grubunda gentamisin uygulaması ile artan TNF- α seviyesini anlamlı olarak azaltarak antiinflamatuvar etki sağlamıştır. Benzer şekilde, B₁₂ vitamini gentamisine bağlı artan böbrek MDA düzeylerini ET ve ÖT gruplarında tersine çevirerek ve ÖT grubunda gentamisin uygulaması ile azalan SOD düzeyini anlamlı olarak artırarak antioksidan etkinlik göstermiştir. Ayrıca, elektron mikroskopisi sonuçları da eş zamanlı ya da önceden B₁₂ vitamini uygulanmasının gentamisin toksisitesine bağlı histopatolojik hasarı engellediğini göstermiştir.

Çoklu ilaç direnci krizinin giderek artmasıyla birlikte, aminoglikozidler gibi eski ama hâlâ etkili antimikrobiklerin mümkün olduğunca güvenli bir şekilde kullanılabilmesi kritik hale gelmiştir. Sonuçlarımız; gentamisin uygulamasına bağlı ortaya çıkan oksidatif stres ve inflamasyon nedeniyle oluşan nefrotoksisitenin engellenmesinde antioksidan, antiinflamatuvar etkileri ve güvenli yan etki profili ile B₁₂ vitamininin potansiyel bir seçenek olabileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda B₁₂ vitamininin nefrotoksisiteden korunmada özellikle gentamisinden önce uygulanmaya başlandığında daha etkin olabileceği biyokimyasal incelemelerle ortaya konulmuştur. Bu bulgular, B₁₂ vitamininin, gentamisinin megalin aracılı endositozunu inhibe ettiğini düşündürse de B₁₂ vitamininin nefrotoksisite üzerindeki koruyucu etkileriyle ilgili kesin mekanizmaları açıklığa kavuşturmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Naim, A. B., Abdel-Wahab, M. H., & Attia, F. F. (1999). Protective effects of vitamin E and probucol against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacological Research*, 40(2), 183-187.
- Abdelsameea, A. A., Mohamed, A. M., Amer, M. G., & Attia, S. M. (2016). Cilostazol attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Experimental and toxicologic pathology*, 68(4), 247-253.
- Abdulwahhab, R. Q., & Alabdali, S. M. A. (2022). Study of the protective effects of cyanocobalamin on methotrexate induced nephrotoxicity in rats. *F1000Research*, 11.
- 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. *Renal failure*, 38(6), 996-1006.
- Akış, M. (2012). *Sağlıklı ve fenilketonürlü çocuklarda fonksiyonel B12 vitamin eksikliğinin plazma metilmalonik asit ve homosistein düzeyleri ile araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir).
- Akpolat, T., & Utaş, C. (2006). *Günlük nefroloji ve böbrek yetmezliğinde ilaç kullanımı*. Türk Nefroloji Derneği.
- Ali, B. H. (2003). Agents ameliorating or augmenting experimental gentamicin nephrotoxicity: some recent research. *Food and Chemical Toxicology*, 41(11), 1447-1452.
- Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., & Al-Nami, M. S. (2020). Irbesartan attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats through modulation of oxidative stress and endogenous antioxidant capacity. *International journal of preventive medicine*, 11(1), 16.
- Allen, R. H., Stabler, S. P., Savage, D. G., & Lindenbaum, J. (1993). Metabolic abnormalities in cobalamin (vitamin B12) and folate deficiency. *The FASEB journal*, 7(14), 1344-1353.
- Alpers, D. H., & Russell-Jones, G. (2013). Gastric intrinsic factor: The gastric and small intestinal stages of cobalamin absorption. A personal journey. *Biochimie*, 95(5), 989-994.
- Alshanwani, A. R., Mohamed, A. M., Faddah, L. M., Shaheen, S., Arafah, M. M., Hagar, H., Alhusaini, A. M., Alharbi, F. M. B., AlHarthii, A., & Badr, A. M. (2021). Cyanocobalamin and/or calcitriol mitigate renal damage-mediated by tamoxifen in rats: Implication of caspase-3/NF-κB signaling pathways. *Life sciences*, 277, 119512. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119512>.
- Amagasaki, T., Green, R. ve Jacobsen, D. W. (1990). Expression of transcobalamin II receptors by human leukemia K562 and HL-60 cells. *Blood*, 76(7), 1380-1386. doi:10.1182/blood.v76.7.1380.1380.
- Ansari, M. A., Raish, M., Ahmad, A., Ahmad, S. F., Mudassar, S., Mohsin, K., Shakeel, F., Korashy, H. M., & Bakheet, S. A. (2016). Sinapic acid mitigates gentamicin-induced nephrotoxicity and associated oxidative/nitrosative stress, apoptosis, and inflammation in rats. *Life sciences*, 165, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.09.014>.
- Arınsoy, T., Güngör, Ö., & Koçyiğit, İ. (Ed.). (2017). *Böbrek Fizyopatolojisi. İçinde Böbrek Anatomisi* (ss. 1-6). Reaktif.
- Aronoff, G. R., Pottratz, S. T., Brier, M. E., Walker, N. E., Fineberg, N. S., Glant, M. D., & Luft, F. C. (1983). Aminoglycoside Accumulation Kinetics in Rat Renal Parenchyma. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 23(1), 74-78.

Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., ... & Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 26(3), 362-369.

Atsamo, A. D., Lontsie Songmene, A., Metchi Donfack, M. F., Ngouateu, O. B., Nguenefack, T. B., & Dimo, T. (2021). Aqueous extract from cinnamomum zeylanicum (lauraceae) stem bark ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats by modulating oxidative stress and inflammatory markers. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 1-12.

Avent, M. L., Rogers, B. A., Cheng, A. C., & Paterson, D. L. (2011). Current use of aminoglycosides: indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. *Internal Medicine Journal*, 41(6), 441-449. <https://doi.org/10.1111/j.1445-5994.2011.02452.x>.

Aygün, G. (2002). *Akılci Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi No: 31*. 39-54.

Bailey, R. L., Carmel, R., Green, R., Pfeiffer, C. M., Cogswell, M. E., Osterloh, J. D., ... Yetley, E. A. (2011). Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12. *American Journal of Clinical Nutrition*, 94(2), 552-561. doi:10.3945/ajcn.111.015222.

Banerjee, R. ve Ragsdale, S. W. (2003). The many faces of vitamin B12: Catalysis by cobalamin-dependent enzymes. *Annual Review of Biochemistry*, 72, 209-247. doi:10.1146/annurev.biochem.72.121801.161828.

Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., & Brooks, H. L. (2018). Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi. İçinde Ü. İsoğlu-Alkaç & M. N. Ermutlu (Ed.), *Böbrek Fizyolojisi* (25. baskı, ss. 671-673). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Bello, S., & Chika, A. (2010). Influence of vitamin b-12 complex injection (eldervit-12) on gentamicin nephrotoxicity in rats: a preliminary study. *Global Journal of Pure and Applied Sciences*, 16(1).

Bennett, M., Dent, C. L., Ma, Q., Dastrala, S., Grenier, F., Workman, R., ... & Devarajan, P. (2008). Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*, 3(3), 665-673.

Berkowitz, A. (2016). Basitleştirilmiş Klinik Patofizyoloji. İçinde A. Nurten & Ö. Anđ (Ed.), *Renal Sistem* (ss. 47-70). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Bland, C. M., Pai, M. P., & Lodise, T. P. (2018). Reappraisal of contemporary pharmacokinetic and pharmacodynamic principles for informing aminoglycoside dosing. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 38(12), 1229-1238. <https://doi.org/10.1002/phar.2193>.

Braun JP, Lefebvre HP, Watson ADJ. (2008). Creatinine in the Dog: A Review. *Vet Clin Pathology*, 32(4):162-179.

Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. (2009). Goodman & Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli. İçinde Ö. Süzer (Ed.), *Mikrobiyal Hastalıkların Tedavisi* (ss. 1155-1171). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Cachofeiro, V., Goicochea, M., De Vinuesa, S. G., Oubia, P., Lahera, V., & Lño, J. (2008). Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney International*, 74, 4-9. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.516>.

Calbreath, D. (1992). Clinical Chemistry: A Fundamental Textbook. İçinde *Anatomy and physiology of the kidney* (2. baskı, ss. 240-248). Philadelphia: W.B. Saunders Company.

Cao, L., Zhi, D., Han, J., Kumar Sah, S., & Xie, Y. (2019). Combinational effect of curcumin and metformin against gentamicin-induced nephrotoxicity: Involvement of antioxidative, anti-inflammatory and antiapoptotic pathway. *Journal of Food Biochemistry*, 43(7), 1-9.

- Carmel, R. (2003). Mild transcobalamin I (haptocorrin) deficiency and low serum cobalamin concentrations. *Clinical Chemistry*, 49(8), 1367–1374. doi:10.1373/49.8.1367.
- Chan, K. (2021). *The Role of Megalin in Aminoglycoside-Associated Toxicity in the Kidney* (Doctoral dissertation).
- Chan, W., Almasieh, M., Catrinescu, M. M. ve Levin, L. A. (2018). Cobalamin-Associated Superoxide Scavenging in Neuronal Cells Is a Potential Mechanism for Vitamin B12–Deprivation Optic Neuropathy. *American Journal of Pathology*, 188(1), 160–172. doi:10.1016/j.ajpath.2017.08.032.
- Chanarin, I. ve Muir, M. (1978). Evidence for intestinal origin of transcobalamin II during vitamin B12 absorption. *British Medical Journal*, 1(6125), 1453–1455. doi:10.1136/bmj.1.6125.1453.
- Chiarugi, A. (2005). “Simple but not simpler”: toward a unified picture of energy requirements in cell death. *The FASEB Journal*, 19(13), 1783–1788. https://doi.org/10.1096/fj.05-4200rev.
- Chou, C. K., Li, Y. C., Chen, S. M., Shih, Y. M., & Lee, J. A. (2015). Chitosan prevents gentamicin-induced nephrotoxicity via a carbonyl stress-dependent pathway. *BioMed Research International*, 2015, 1–8.
- Christensen, E. I., & Birn, H. (2002). Megalin and cubilin: multifunctional endocytic receptors. *Nature reviews Molecular cell biology*, 3(4), 258-267.
- Chwieralski, C. E., Welte, T., & Bühling, F. (2006). Cathepsin-regulated apoptosis. *Apoptosis*, 11(2), 143–149. https://doi.org/10.1007/s10495-006-3486-y.
- Çavuşoğlu, H. (2015). *Çocuk Sağlığı Hemşireliği* (11. Baskı). Ankara: Sistem Ofset Basımevi.
- Çelebi, M., Çelebi, Ç., & Aksöz, E. (2023). Gentamisine Bağlı Nefrotoksititeyi Önleme Potansiyeli Olan Tedavilerin Gözden Geçirilmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14(3), 425-437. https://doi.org/10.22312/sdusbed.1176151.
- Ding, Y., & Choi, M. E. (2014). Regulation of autophagy by TGF- β : emerging role in kidney fibrosis. In *Seminars in nephrology* (Vol. 34, No. 1, pp. 62-71). WB Saunders.
- Dommissse, J. (1991). Subtle vitamin-B12 deficiency and psychiatry: a largely unnoticed but devastating relationship? *Medical Hypotheses*, 34(2), 131–140. doi:10.1016/0306-9877(91)90181-W.
- Drusano, G. L. (2004). Antimicrobial pharmacodynamics: critical interactions of ‘bug and drug’. *Nature Review Microbiology*, 2, 289–300.
- Eaton, D. C., & Pooler, J. P. (2005). Vander’in Böbrek Fizyolojisi. İçinde G. Süleymanlar & A. Sifil (Ed.), *Böbrek İşlevleri, Anatomisi ve Temel İşlemler* (6. baskı, ss. 1–22). Palme Yayıncılık.
- Ecder, S. T. (1998). Antibiyotik Nefrotoksitesisi. *Ankem Dergisi*, 12(3), 366–368
- Ede, G. ve Ayaz, A. (2016). B12 Vitamini ve Folik Asidin Adipozite Üzerine Etkisi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 44(1), 47–54.
- El Mouedden, M., Laurent, G., Mingeot-Leclercq, M. P., Taper, H. S., Cumps, J., & Tulkens, P. M. (2000). Apoptosis in renal proximal tubules of rats treated with low doses of aminoglycosides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(3), 665–675. https://doi.org/10.1128/AAC.44.3.665-675.2000.
- Eralp, M. O. (2013). *DeneySEL Olarak Oluşturulan Böbrek İskemi Reperfüzyon Sonrası Oluşan Böbrek Hasarına Karşı Carnosol’un Koruyucu Etkisinin İncelenmesi Uzmanlık Tezi*. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Faul, F., Erdfelder, E., Buchner, A., & Lang, A. G. (2009). Statistical power analyses using G* Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behavior research methods*, 41(4), 1149-1160.

Fowler, R., Vllasaliu, D., Falcone, F. H., Garnett, M., Smith, B., Horsley, H., ... Stolnik, S. (2013). Uptake and transport of B12-conjugated nanoparticles in airway epithelium. *Journal of Controlled Release*, 172(1), 374–381. doi:10.1016/j.jconrel.2013.08.028.

Francis, M. F., Cristea, M. ve Winnik, F. M. (2005). Exploiting the vitamin B12 pathway to enhance oral drug delivery via polymeric micelles. *Biomacromolecules*, 6(5), 2462–2467. doi:10.1021/bm0503165.

Friedlander, G., Pirotzky, E., Amiel, C., & Benveniste, J. (1987). Renal effects of platelet-activating factor in the rat. *Agents and Actions*, 22(1/2), 165–170. https://doi.org/10.1007/BF01968833.

Fukuda, Y., Malmborg, A. S., & Aperia, A. (1991). Gentamicin inhibition of Na⁺,K⁺-ATPase in rat kidney cells. *Acta Physiologica Scandinavica*, 141(1), 27–34. https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1991.tb09040.x.

Fyfe, J. C., Madsen, M., Højrup, P., Christensen, E. I., Tanner, S. M., De La Chapelle, A., ... Moestrup, S. K. (2004). The functional cobalamin (vitamin B12)-intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless. *Blood*, 103(5), 1573–1579. doi:10.1182/blood-2003-08-2852.

Ghanim, W. K., Al-Shawi, N. N., & Al-Moziel, M. S. (2020). Effects of two different doses of vitamin B2 and a single dose of vitamin B12 against cyclophosphamide induced nephrotoxicity. *Medico-legal Update*, 20(3), 493.

Goetz, D. H., Willie, S. T., Armen, R. S., Bratt, T., Borregaard, N., & Strong, R. K. (2000). Ligand preference inferred from the structure of neutrophil gelatinase associated lipocalin. *Biochemistry*, 39(8), 1935-1941.

Güngören, M. (2008). *Mersin bölgesinde vitamin B12 ve folik asit düzeylerine ait referans aralıklarının belirlenmesi*. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Mersin.

Hajhashemi, S., Hamidizad, Z., Rahbari, A., Ghanbari, F., & Motealeghi, Z. A. (2017). Effects of cobalamin (Vitamin B12) on gentamicin induced nephrotoxicity in rat. *Drug research*, 67(12), 710-718.

Hall, C. A., Colligan, P. D. ve Begley, J. A. (1987). Cyclic activity of the receptors of cobalamin bound to transcobalamin II. *Journal of Cellular Physiology*, 133(1), 187–191. doi:10.1002/jcp.1041330125.

Hall, J. (2013). Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. İçinde B. Çağlayan-Yeğen (Ed.), *Böbreklerde İdrar Oluşumu: I. Glomerül Filtrasyonu, Böbrek Kan Akımı ve Bunların Kontrolü* (12. baskı, ss. 303–321). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Halliwell B, Gutteridge JMC. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed, Oxford University Press, Newyork; p: 246-351.

Hodgkin, D. C. (1965). The x-ray analysis of complicated molecules. *Science*. doi:10.1126/science.150.3699.979.

Hodgkin, D. C., Kamper, J., Lindsey, J., Mackay, M., Pickworth, J., Robertson, J. H. ve Shoemaker, C. (1956). The Structure of Vitamin B12 I. An Outline of the Crystallographic Investigation of Vitamin B12. *Royal Society*, 242, 228–263.

Hoey, L., Strain, J. J. ve McNulty, H. (2009). Studies of biomarker responses to intervention with vitamin B-12: A systematic review of randomized controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89(6), 1981S-1996S. doi:10.3945/ajcn.2009.27230C.

Hori, Y., Aoki, N., Kuwahara, S., Hosojima, M., Kaseda, R., Goto, S., ... & Saito, A. (2017). Megalin blockade with cilastatin suppresses drug-induced nephrotoxicity. *Journal of the American Society of Nephrology*, 28(6), 1783-1791.

- Fouad, G. I., & Ahmed, K. A. (2021). The protective impact of berberine against doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Tissue and Cell*, 73, 101612.
- Ichimura, T., Bonventre, J. V., Bailly, V., Wei, H., Hession, C. A., Cate, R. L., & Sanicola, M. (1998). Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *Journal of Biological Chemistry*, 273(7), 4135-4142.
- Jacobsen, D. W. ve Glushchenko, A. V. (2009). The transcobalamin receptor, redux. *Blood*, 113(1), 3–4. doi:10.1182/blood-2008-10-181750.
- Jospe-Kaufman, M., Siomin, L., & Fridman, M. (2020). The relationship between the structure and toxicity of aminoglycoside antibiotics. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 30(13), 127218. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127218.
- Kaloyanides, G. J. (1992). Drug-phospholipid interactions: Role in aminoglycoside nephrotoxicity. *Renal Failure*, 14(3), 351–357. https://doi.org/10.3109/08860229209106642.
- Kandemir, F. M., Ozkaraca, M., Yildirim, B. A., Hanedan, B., Kirbas, A., Kilic, K., ... & Benzer, F. (2015). Rutin attenuates gentamicin-induced renal damage by reducing oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy in rats. *Renal failure*, 37(3), 518-525.
- Karahan, İ., Ateşşahin, A., Yılmaz, S., Çeribaşı, A. O., & Sakin, F. (2005). Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology*, 215(3), 198-204. https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.07.007.
- Karamshetty, V., Acharya, J. D., Ghaskadbi, S. ve Goel, P. (2016). Mathematical modeling of glutathione status in type 2 diabetics with vitamin B 12 deficiency. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 4(MAR), 16. doi:10.3389/fcell.2016.00016.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, R. A., & Rodwell, V. W. (1996). Fizyolojik Öneme Sahip Lipidler. [yazan] R.K., Granner, D.K., Mayes, R.A., Rodwell, V.W. Murray. Harper' in Biyokimyası., İstanbul. : 86 Barış Kitabevi.
- Kaya, S., Pirinççi, İ., Ünsal, A., Traş, B., Bilgili, A., & Akar, F. (2013). Veteriner Farmakoloji. İçinde S. Kaya (Ed.), *Kemoterapötikler* (5. baskı, ss. 379–392). Ankara: Medisan Yayınevi.
- Kayaalp, O. (Ed.). (2018). Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. İçinde *Aminoglikozidler* (13. baskı, ss. 233–241). Ankara: Pelikan Yayıncılık.
- Kays, S. E., Crowell, W. A., & Johnson, M. A. (1991). Iron supplementation increases gentamicin nephrotoxicity in rats. *Journal of Nutrition*, 121(11), 1869–1875. https://doi.org/10.1093/jn/121.11.1869.
- Kjeldsen, L., Johnsen, A. H., Sengeløv, H., & Borregaard, N. (1993). Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *Journal of Biological Chemistry*, 268(14), 10425-10432.
- Klustersky, J., Hensgens, C., Henri, A., & Daneau, D. (1974). Comparative clinical study of tobramycin and gentamicin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 5(2), 133–138. https://doi.org/10.1128/AAC.5.2.133.
- Klotman, P. E., & Yarger, W. E. (1983). Reduction of renal blood flow and proximal bicarbonate reabsorption in rats by gentamicin. *Kidney International*, 24(5), 638–643. https://doi.org/10.1038/ki.1983.205.
- Kocman, A. E., Dag, I., Sengel, T., Soztutar, E., & Canbek, M. (2020). The effect of lithium and lithium-loaded hyaluronic acid hydrogel applications on nerve regeneration and recovery of motor functions in peripheral nerve injury. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 31, 889-904.

- Kozyraki, R. ve Cases, O. (2013). Vitamin B12 absorption: Mammalian physiology and acquired and inherited disorders. *Biochimie*, 95(5), 1002–1007. doi:10.1016/j.biochi.2012.11.004.
- Kräutler B. (2005). Vitamin B12: chemistry and biochemistry. *Biochemical Society transactions*, 33(Pt 4), 806–810. https://doi.org/10.1042/BST0330806.
- Laker, M.F., Clinical chemistry for medical students, (1996). WB Saunders.
- Leblebicioğlu, H. (2004). Aminoglikozidlerin Klinik Kullanımı. *Türkiye Klinikleri Der*, 4(9), 14.
- Leblebicioğlu, H., Şencan, İ., Eroğlu, C., Sünbül, M., Esen, Ş., & Günaydın, M. (1998). Gram-Negatif Bakterilerde Aminoglikozid Direnç Mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 11(2), 50–52.
- Li, F., Bahnsen, E. M., Wilder, J., Siletzky, R., Hagaman, J., Nickekeit, V., ... & Maeda-Smithies, N. (2020). Oral high dose vitamin B12 decreases renal superoxide and post-ischemia/reperfusion injury in mice. *Redox biology*, 32, 101504.
- Lieberthal, W., & Levine, J. S. (1996). Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury. *American Journal of Physiology*, 271(3), 477–488. https://doi.org/10.1152/ajprenal.1996.271.3.f477.
- Lindemans, J., Kroes, A. C. M., Geel, J. v., van Kapel, J., Schoester, M. ve Abels, J. (1989). Uptake of transcobalamin II-bound cobalamin by HL-60 cells: Effects of differentiation induction. *Experimental Cell Research*, 184(2), 449–460. doi:10.1016/0014-4827(89)90343-1.
- López-Hernández, F. J., & López-Novoa, J. M. (2012). Role of TGF- β in chronic kidney disease: an integration of tubular, glomerular and vascular effects. *Cell and tissue research*, 347, 141-154.
- Lopez-Novoa, J., Quiros, Y., & Vicente, L. (2011). New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney International*, 79, 33–45.
- Luo, Q. H., Chen, M. L., Sun, F. J., Chen, Z. L., Li, M. Y., Zeng, W., ... & Geng, Y. (2014). KIM-1 and NGAL as biomarkers of nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 397, 53-60.
- Maden, M. (1994). *Deneyisel Gentamisin Nefrotoksitesinde Üriner Enzim Aktivitelerinin Önemi Doktora Tezi*. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Mahmoud, A. M., Ahmed, O. M., & Galaly, S. R. (2014). Thymoquinone and curcumin attenuate gentamicin-induced renal oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *EXCLI journal*, 13, 98–110.
- Martínez-Salgado, C., Eleno, N., Morales, A. I., Pérez-Barriocanal, F., Arévalo, M., & López-Novoa, J. M. (2004). Gentamicin treatment induces simultaneous mesangial proliferation and apoptosis in rats. *Kidney International*, 65(6), 2161–2171. https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00642.x.
- Martínez-Salgado, C., López-Hernández, F. J., & López-Novoa, J. M. (2007). Glomerular nephrotoxicity of aminoglycosides. *Toxicology and Applied Pharmacology*, C. 223, ss. 86–98. https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.05.004.
- Mather, M., & Rottenberg, H. (2001). Polycations induce the release of soluble intermembrane mitochondrial proteins. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1503(3), 357–368. https://doi.org/10.1016/S0005-2728(00)00231-0.
- Mckay, G. A., Thompson, P. R., & Wright, G. D. (1994). Broad Spectrum Aminoglycoside Phosphotransferase Type III from *Enterococcus*: Overexpression, Purification, and Substrate Specificity. *Biochemistry*, 33, 6936–6944.

- Medineli, M., Mert, H., İrak, K., & Mert, N. (2021). The Effect of Evening Primrose (*Oenothera biennis*) on the Some Biochemical Parameters in Rats with Gentamicin Induced Nephrotoxicity. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(6), 1008-1014.
- Mestry, S. N., Gawali, N. B., Pai, S. A., Gursahani, M. S., Dhodi, J. B., Munshi, R., & Juvekar, A. R. (2020). *Punica granatum* improves renal function in gentamicin-induced nephropathy in rats via attenuation of oxidative stress. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 11(1), 16–23.
- Mıstık, R. (2000). Aminoglikozid Antibiyotikler ve Günde Tek Doz Kullanımları. *Klinik Dergisi*, 13(2), 43–45.
- Miller, J. W., Wood, R. J., & Wolf, G. (2002). Vitamin B12 deficiency, tumor necrosis factor- α , and epidermal growth factor: a novel function for vitamin B12?. *Nutrition reviews*, 60(5).
- Mingeot-Leclercq, M. P., & Tulkens, P. M. (1999). Aminoglycosides: Nephrotoxicity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(5), 1003–1012. <https://doi.org/10.1128/aac.43.5.1003>.
- Morales, A. I., Demaille, D., Prieto, M., Puente, A., Briones, E., Arévalo, M., ... El-Mir, M. Y. (2010). Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. *Kidney International*, 77(10), 861–869. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.11>.
- Moestrup, S. K., Cui, S., Vorum, H., Bregengård, C., Bjørn, S. E., Norris, K., ... & Christensen, E. I. (1995). Evidence that epithelial glycoprotein 330/megalin mediates uptake of polybasic drugs. *The Journal of clinical investigation*, 96(3), 1404-1413.
- Moestrup, S. K., Birn, H., Fischer, P. B., Petersen, C. M., Verroust, P. J., Sim, R. B., ... & Nexø, E. (1996). Megalin-mediated endocytosis of transcobalamin-vitamin-B12 complexes suggests a role of the receptor in vitamin-B12 homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(16), 8612-8617.
- Moran, K., Mulhall, J., Kelly, D., Sheehan, S., Dowsett, J., Dervan, P., & Fitzpatrick, J. M. (1992). Morphological changes and alterations in regional intrarenal blood flow induced by graded renal ischemia. *Journal of Urology*, 148(2), 463–466. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)36629-6](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)36629-6).
- Moreira, E. S., Brasch, N. E. ve Yun, J. (2011). Vitamin B12 protects against superoxide-induced cell injury in human aortic endothelial cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(4), 876–883. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.05.034.
- Moresco, R. N., Bochi, G. V., Stein, C. S., De Carvalho, J. A., Cembranel, B. M. ve Bollick, Y. S. (2018). Urinary kidney injury molecule-1 in renal disease. *Clinica chimica acta*, 487, 15-21.
- Mukherjee, S., Das, D., Mukherjee, M., Das, A. S., & Mitra, C. (2006). Synergistic effect of folic acid and vitamin B12 in ameliorating arsenic-induced oxidative damage in pancreatic tissue of rat. *The Journal of nutritional biochemistry*, 17(5), 319–327. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.08.003>.
- Nagai, J. ve Takano, M. (2004). Molecular aspects of renal handling of aminoglycosides and strategies for preventing the nephrotoxicity. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 19(3), 159-170.
- Nagai, J. ve Takano, M. (2014). Entry of aminoglycosides into renal tubular epithelial cells via endocytosis-dependent and endocytosis-independent pathways. *Biochemical Pharmacology*, 90(4), 331–337. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.05.018>.
- Nagai, J., Tanaka, H., Nakanishi, N., Murakami, T., & Takano, M. (2001). Role of megalin in renal handling of aminoglycosides. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 281, 337–344. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.2001.281.2.f337>.
- Nakov, R. (2019). New markers in ulcerative colitis. *Clinica Chimica Acta*, 497, 141-146.
- Neugarten, J., Aynedjian, H. S., & Bank, N. (1983). Role of tubular obstruction in acute renal failure due to gentamicin. *Kidney International*, 24(3), 330–335. <https://doi.org/10.1038/ki.1983.162>.

- Nielsen, M. J., Rasmussen, M. R., Andersen, C. B. F., Nexø, E. ve Moestrup, S. K. (2012, 1 Haziran). Vitamin B 12 transport from food to the body's cells - A sophisticated, multistep pathway. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. Nature Publishing Group. doi:10.1038/nrgastro.2012.76.
- Ozturk, E., Karabulut, D., Akin, A. T., Kaymak, E., Kuloglu, N., & Yakan, B. (2021). Evaluation by different mechanisms of the protective effects of vitamin B12 on methotrexate nephrotoxicity. *Journal of molecular histology*, 53(1), 133–143. <https://doi.org/10.1007/s10735-021-10027-9>.
- Özelsancak, R. (2016). Antibakteriyel İlaçlara Bağlı Gelişen Nefrotoksisite. *Türkiye Klinikleri Nefroloji - Özel Konular*, 9(2), 19–23.
- Özsayın, G. H. (2019). *Gentamisin ile Sıçanlarda Oluşturulan Nefrotoksisite Üzerinde Cyclotrichium Niveum Ekstresinin Koruyucu Etkisi*. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Özsoy, Ş., Özsoy, Z., Gevrek, F., & Yeniova, A. Ö. (2023). Protective role of vitamin B12 on acetic acid induced colitis in rats. *Turkish journal of surgery*, 39(1), 7–16. <https://doi.org/10.47717/turkjsurg.2023.5903>.
- Pannérec, A., Migliavacca, E., De Castro, A., Michaud, J., Karaz, S., Goulet, L., ... & Feige, J. N. (2018). Vitamin B12 deficiency and impaired expression of amnionless during aging. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 9(1), 41-52.
- Papanikolaou, N., Peros, G., Morphake, P., Gkikas, G., Maraghianne, D., Tsipas, G., ... Bariety, J. (1992). Does gentamicin induce acute renal failure by increasing renal TXA2 synthesis in rats? *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 45(2), 131–136.
- Park, J. W., Bae, E. H., Kim, I. J., Ma, S. K., Choi, C., Lee, J., & Kim, S. W. (2009). Renoprotective effects of paricalcitol on gentamicin-induced kidney injury in rats. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 298(2), 301–313. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00471.2009>
- Patel, V., Luft, F. C., Moo, N., Yum, B., Patel, W.-Z., & Kleit, S. A. (1975). Enzymuria in Gentamicin-Induced Kidney Damage. İçinde *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (C. 7).
- Paulsen, F., & Waschke, J. (2018). *Sobotta Atlas of Human Anatomy General Anatomy and Musculoskeletal System* (16. baskı). Elsevier, Urban&Fischer Verlag.
- Payinda, G. ve Hansen, T. (2000). Vitamin B12 deficiency manifested as psychosis without anemia . *American Journal of Psychiatry*, 157(4), 660–661. doi:10.1176/appi.ajp.157.4.660.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>.
- Powell, S. H., Thompson, W. L., Luthe, M. A., Stern, R. C., Grossniklaus, D. A., Bloxham, D. D., ... Klinger, J. D. (1983). Once-daily vs continuous aminoglycoside dosing: efficacy and toxicity in animal and clinical studies of gentamicin, netilmicin, and tobramycin. *Journal of Infectious Diseases*, 147(5), 918–932. <https://doi.org/10.1093/infdis/147.5.918>.
- Prins, J. M., Weverling, G. J., Van Ketel, R. J., & Speelman, P. (1997). Circadian variations in serum levels and the renal toxicity of aminoglycosides in patients. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 62(1), 106–111. [https://doi.org/10.1016/S0009-9236\(97\)90156-9](https://doi.org/10.1016/S0009-9236(97)90156-9).
- Rachmilewitz, B., Rachmilewitz, M., Chaouat, M. ve Schlesinger, M. (1977). The synthesis of transcobalamin II, a vitamin B12 transport protein by stimulated mouse peritoneal macrophages. *Biomedicine Express*, 27(6), 213–214.
- Randjelović, P., Veljković, S., Stojiljković, N., Sokolović, D., & Ilić, I. (2017). Gentamicin nephrotoxicity in animals: Current knowledge and future perspectives. *EXCLI Journal*, C. 16, ss. 388–399. <https://doi.org/10.17179/excli2017-165>.

- Rennke, H. G., & Venkatachalam, M. A. (1979). Glomerular permeability of macromolecules. Effect of molecular configuration on the fractional clearance of uncharged dextran and neutral horseradish peroxidase in the rat. *Journal of Clinical Investigation*, 63(4), 713–717. <https://doi.org/10.1172/JCI109354>.
- Ritter, J., Flower, R., Henderson, G., & Rang, H. (2015). *Rang & Dale's Pharmacology 8th Edition*. Churchill Livingstone.
- Robertson, K. R., Stern, R. A., Hall, C. D., Perkins, D. O., Wilkins, J. W., Gortner, D. T., ... Evans, D. L. (1993). Vitamin B12 Deficiency and Nervous System Disease in HIV Infection. *Archives of Neurology*, 50(8), 807–811. doi:10.1001/archneur.1993.00540080018007.
- Rosenfield, A. T., Taylor, K. J., Crade, M., & DeGraaf, C. S. (1978). *Anatomy and Pathology of the Kidney by Gray Scale Ultrasound*.
- Rothenberg, S. P., Weiss, J. P. ve Cotter, R. (1978). Formation of Transcobalamin II-Vitamin B12 Complex by Guinea-Pig Ileal Mucosa in Organ Culture After in Vivo Incubation with Intrinsic Factor-Vitamin B12. *British Journal of Haematology*, 40(3), 401–414. doi:10.1111/j.1365-2141.1978.tb05812.x.
- Rougier, F., Ducher, M., Maurin, M., Corvaisier, S., Claude, D., Jelliffe, R., & Maire, P. (2003). Aminoglycoside dosages and nephrotoxicity: quantitative relationships. *Clinical pharmacokinetics*, 42, 493-500. <https://doi.org/10.2165/00003088-200342050-00007>.
- Rougier, F., Claude, D., Maurin, M., & Maire, P. (2004). Aminoglycoside nephrotoxicity. *Current Drug Targets - Infectious Disorders*, 4(2), 153–162. <https://doi.org/10.2174/1568005043340858>.
- Saeedavi, M., Goudarzi, M., Fatemi, I., Basir, Z., Noori, S. M. A., & Mehrzadi, S. (2023). Gentisic acid mitigates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Tissue and Cell*, 84, 102191.
- Schentag, J. J., Gengo, F. M., Plaut, M. E., Danner, D., Mangione, A., & Jusko, W. J. (1979). Urinary Casts as an Indicator of Renal Tubular Damage in Patients Receiving Aminoglycosides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 16(4), 468–474.
- Schmitz, C., Hilpert, J., Jacobsen, C., Boensch, C., Christensen, E. I., Luft, F. C., & Willnow, T. E. (2002). Megalin deficiency offers protection from renal aminoglycoside accumulation. *Journal of Biological Chemistry*, 277(1), 618–622. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109959200>.
- Scott, J. M., & Molloy, A. M. (2012). The discovery of vitamin B(12). *Annals of nutrition & metabolism*, 61(3), 239–245. <https://doi.org/10.1159/000343114>.
- Seetharam, B. ve Alpers, D. H. (1991). Gastric Intrinsic Factor and Cobalamin Absorption. *Comprehensive Physiology* içinde (ss. 437–461). Wiley. doi:10.1002/cphy.cp060420.
- Sezgin, Y. (2019). Vitamin B12 Yetersizliğine Yaklaşım. *Konuralp Medical Journal*, 11(3), 482-488.
- Shakil, S., Khan, R., Zarrilli, R., & Khan, A. U. (2008). Aminoglycosides versus bacteria - a description of the action, resistance mechanism and nosocomial battleground. *Journal of Biomedical Science*, 15(1), 5–14.
- Shimizu, A., Takumida, M., Anniko, M., & Suzuki, M. (2003). Calpain and caspase inhibitors protect vestibular sensory cells from gentamicin ototoxicity. *Acta Oto-Laryngologica*, 123(4), 459–465. <https://doi.org/10.1080/00016480310001312>.
- Smith, C. R., & Lietman, P. S. (1983). Effect of Furosemide on Aminoglycoside-Induced Nephrotoxicity and Auditory Toxicity in Humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 23(1), 133–137.

- Song, J., Yu, J., Prayogo, G. W., Cao, W., Wu, Y., Jia, Z., & Zhang, A. (2019). Understanding kidney injury molecule 1: a novel immune factor in kidney pathophysiology. *American journal of translational research*, *11*(3), 1219.
- Sorribas, V., Halaihel, N., Puttapparthi, K., Rogers, T., Cronin, R. E., Alcalde, A. I., ... Levi, M. (2001). Gentamicin causes endocytosis of Na/Pi cotransporter protein (NaPi-2). *Kidney International*, *59*(3), 1024–1036. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.0590031024.x>.
- Sönmezışık, F. (2009). *B12 Vitamini ve Holotranskobalamin Düzeylerinin Serum Lipid Peroksidasyonu İle İlişkisi*. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Bursa.
- Spector, E. B., Rice, S. C. H., Moedjono, S., Bernard, B., & Cederbaum, S. D. (1982). Biochemical properties of arginase in human adult and fetal tissues. *Biochemical medicine*, *28*(2), 165-175.
- Stabler, S. P. ve Allen, R. H. (2004). Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annual Review of Nutrition*, *24*, 299–326. doi:10.1146/annurev.nutr.24.012003.132440.
- Stankowicz, M. S., Ibrahim, J., & Brown, D. L. (2015). Once-daily aminoglycoside dosing: an update on current literature. *American Journal of Health-System Pharmacy*, *72*(16), 1357-1364. <https://doi.org/10.2146/ajhp140564>.
- Sue, Y. M., Cheng, C. F., Chang, C. C., Chou, Y., Chen, C. H., & Juan, S. H. (2009). Antioxidation and anti-inflammation by haem oxygenase-1 contribute to protection by tetramethylpyrazine against gentamicin-induced apoptosis in murine renal tubular cells. *Nephrology Dialysis Transplantation*, *24*(3), 769–777. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfn545>.
- Suzuki, T., Yamaguchi, H., Ogura, J., Kobayashi, M., Yamada, T., & Iseki, K. (2013). Megalin contributes to kidney accumulation and nephrotoxicity of colistin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *57*(12), 6319-6324.
- Taber, H. W., Mueller, J. P., Miller, P. F., & Arrow, A. S. (1987). Bacterial uptake of aminoglycoside antibiotics. *Microbiological Reviews*, *51*(4), 439–457.
- Tanyel, E. (2017). Aminoglikozidler. *Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics*, *10*(1), 66–70.
- Thorsvik, S., Damås, J. K., Granlund, A. V., Flo, T. H., Bergh, K., Østvik, A. E., & Sandvik, A. K. (2017). Fecal neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for inflammatory bowel disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*, *32*(1), 128-135.
- Tipton, C. M. (2016). The emergence of Applied Physiology within the discipline of Physiology. *Journal of Applied Physiology*, *121*(2), 401–414. doi:10.1152/jappphysiol.00767.2015.
- Tomşa, A. M., Răchişan, A. L., Pandrea, S. L., Benea, A., Uifălean, A., Toma, C., ... & Junie, L. M. (2022). Curcumin and vitamin C attenuate gentamicin-induced nephrotoxicity by modulating distinctive reactive species. *Metabolites*, *13*(1), 49.
- Torunn, F., Riedel, B., Ueland, P. M., Seetharam, B., Pezacka, E. H., Gulati, S., ... Refsum, H. (1998). Disruption of a regulatory system involving cobalamin distribution and function in a methionine-dependent human glioma cell line. *Journal of Biological Chemistry*, *273*(32), 20180–20184. doi:10.1074/jbc.273.32.20180.
- Trevor, A., Katzung, B., & Masters, S. (2010). Katzung ve Trevor Farmakoloji Sınav ve Gözden Geçirme. İçinde M. Altan (Ed.), *Kemoterapötik İlaçlar* (8. baskı, ss. 377–382). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
- Tuçcu, V., Özbek, E., Taşçı, A., Kemahlı, E., Somay, A., Baş, M., ... Özdoğan, H. (2006). Selective nuclear factor κ -B inhibitors, pyrolium dithiocarbamate and sulfasalazine, prevent the nephrotoxicity induced by gentamicin. *BJU International*, *98*(3), 680–686. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2006.06321.x>.

- Turnidge, J. (2003). Pharmacodynamic and dosing of aminoglycosides. *Infectious Disease Clinics of North America*, 17, 503–528. [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(03\)00057-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(03)00057-6).
- Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı (TürKomp). (<http://www.turkomp.gov.tr/>) Erişim tarihi: 30.06.2015.
- United States Department of Agriculture (USDA) National Nutrient Database. (<http://ndb.nal.usda.gov/>) Erişim tarihi: 30.06.2015.
- Vallon, V. (2003). Tubuloglomerular feedback and the control of glomerular filtration rate. *News in Physiological Sciences*, 18(4), 169–174. <https://doi.org/10.1152/nips.01442.2003>.
- Vargas, F., Romecín, P., García-Guillén, A. I., Wangesteen, R., Vargas-Tendero, P., Paredes, M. D., García-Estañ, J. (2018). Flavonoids in kidney health and disease. *Frontiers in Physiology*, 9, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00394>.
- Vidal, L., Gafter-Gvili, A., Borok, S., Fraser, A., Leibovici, L., & Paul, M. (2007). Efficacy and safety of aminoglycoside monotherapy: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60(2), 247-257. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm193>.
- Vijayaraghavan, P. K. ve Dunn, M. S. (1951). Effect of vitamins B12 B12a and B12b on red blood cell counts in experimental anemia in mice. *Archives of Biochemistry*, 31, 248–250.
- Waanders, F., van Timmeren, M. M., Stegeman, C. A., Bakker, S. J., & van Goor, H. (2010). Kidney injury molecule-1 in renal disease. *The Journal of Pathology: J Pathol Clin Res*, 220(1), 7-16.
- Wargo, K. A., & Edwards, J. D. (2014). Aminoglycoside-induced nephrotoxicity. *Journal of Pharmacy Practice*, 27(6), 573–577. <https://doi.org/10.1177/0897190014546836>.
- Watanabe, F. (2007). Vitamin B12 sources and bioavailability. *Experimental Biology and Medicine*, 232(10), 1266–1274. doi:10.3181/0703-MR-67.
- Watkins, D. ve Rosenblatt, D. S. (2016). Lessons in biology from patients with inherited disorders of Vitamin B12 and folate metabolism. *Biochimie*, 126, 3–5. doi:10.1016/j.biochi.2016.05.001.
- Yaman, K. (2009). Fizyoloji. İçinde *Boşaltım Sistemi* (4. baskı, ss. 383–385). Bursa: Ezgi Kitabevi.
- Yıldırım, B. A., Kordali, S., Kapakin, K. A. T., Yıldırım, F., Senocak, E. A., & Altun, S. (2017). Effect of *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum* ethanol extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 18(6), 501.
- Yin, J., Li, T., & Yin, Y. (2016). Methionine and antioxidant potential. *Journal of Antioxidant Activity*, 1(2), 17-22.
- Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free radical biology and medicine*, 33(3), 337-349.
- Zhang, J., Field, C. J., Vine, D. ve Chen, L. (2015). Intestinal uptake and transport of vitamin B12-loaded soy protein nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 32(4), 1288–1303. doi:10.1007/s11095-014-1533-x.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Murat ÇELEBİ
Eğitim	
Lise	Kilis Anadolu Lisesi (2008-2012)
Lisans	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2012-2017)
Doktora	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Farmakoloji ve Toksikolojisi Anabilim Dalı (2019-2024)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	Orta derecede (Yökdil: 75, Temmuz 2017)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Kuruluş Adı	Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği

EKLER

Ek.1 Etik Kurul İzin Belgesi

T.C. BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU Çağış Yerleşkesi, (Bigadiç yolu üzeri 17. km) 10145, BALIKESİR-TÜRKİYE ARAŞTIRMA BAŞVURUSU DEĞERLENDİRME FORMU				
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	"Gentamisin kullanımına bağlı gelişen nefrotoksistide B ₁₂ vitamininin etkilerinin araştırılması"		
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Doç. Dr. Elif AKSÖZ. BAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.		
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Öğr. Gör. Murat ÇELEBİ BAÜN Savaştepe M.Y.O. Araç. Gör. Fazilet ŞEN BAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Araç. Gör. Nurullah GEYDÜÇ BAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji		
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Doktora		
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	01/06/2022 – 01/12/2023		
	KULLANILACAK HAYVAN TURU VE SAYISI	SIÇAN – 42 ADET		
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarih		
	HADYEK BAŞVURU FORMU	14/02/2022		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2022/1-13 Tarih :24/02/2022			
	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 iletmesine oy birliği ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmalarda değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması, 3) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması, 4) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.			
ETİK KURUL BİLGİLERİ				
ÜYELER				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyelik	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	
Doç. Dr. Elif AKSÖZ Başkan	Tıbbi Farmakoloji	Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Ali BAYRAKDAR Başkan Vekili	Veteriner Histoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Ziya İLHAN Öye	Veteriner Mikrobiyoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Gülten ERKEN Öye	Tıbbi Fizyoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Hatice YILDIRIM Öye	Moleküler Biyoloji ve Genetik	Fen Edebiyat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Muhamem EROL Öye	Veteriner Cerrahi	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Dr. Öğr. Üyesi Fatih UĞUN Öye	Tıp - Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Dr. Öğr. Üyesi Özgür BULMUŞ Öye	Tıbbi Fizyoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Hacer ERDEN Öye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Ev Hanımı	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Senap URAS Öye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Ev Hanımı	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Vet. Hek. Mustafa H. YARANOĞLU Öye	Veteriner Hekim	BAÜNDEHAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	

(*) Başvurulan Projeyle Proje Sahibi veya Yardımcı Araştırmacıların İsimleri Etik Kurul Üyesi veya 1. Derece Akademi Üyesi halinde ilgili üye

Ek 2. BAP Proje Kabul Sözleşmesi



PROJE NO: 2022/066

MADDE 1: Balıkesir Üniversitesi tarafından desteklenmesine karar verilen 2022/066 no' lu, "Gentamisin kullanımına bağlı gelişen nefrotoksisitede B12 vitamininin etkilerinin araştırılması" isimli projenin, Bilimsel Araştırma Projeler Yönergesiyle belirlenen esaslar dahilinde yürütülmesi ve sonuçlandırılması amacıyla Balıkesir Üniversitesi Rektör Yardımcısı **Prof. Dr. Cevdet AVCIKURT** ile proje yürütücüsü **Doç. Dr. Elif AKSÖZ** 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 - 17-05-2022 - 16-11-2022

2.Ara Rapor - 17-11-2022 - 16-05-2023

Sonuç Raporu - 17-05-2023 - 16-11-2023

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 Raporda 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 ihtira meydana gelirse bu ihtira aynı kanunun 21. maddesi uyarınca Bilimsel Araştırma Birimi Komisyonuna ait olacaktır. Ancak Bilimsel Araştırma Birimi Komisyonunun bu ihtiradan dolayı usulüne uygun olarak istihsal edeceği patenti satma yahut kiralama yolu ile elde edeceği bedel veya kiranın %30'u ihtirayı 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 miktarı 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 yapanında 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 2022 yılı için; **TÜKETİME YÖNELİK MAL VE MALZEME ALIMLARI** : 26.070,42 TL, **HİZMET ALIMLARI** : 9.899,98 TL, olmak üzere toplamda **35.970,40 TL** ödenek sağlanacaktır.

MADDE 18- .../.../2020 tarihinde taraflarca imzalanan bu sözleşmenin yürürlük süresi 18 aydır. Proje yürütücüsüne ek süre verilmesi halinde bu sözleşme ek sürede de geçerli olup, ayrı 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. Cevdet AVCIKURT
Rektör Yardımcısı

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ
Doç. Dr. Elif AKSÖZ
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>

