

## Ratlarda Gentamisin İle İndüklenmiş Oksidatif Streste Borun Muhtemel Koruyucu Etkisinin Dokularda Araştırılması<sup>#</sup>

İsmail KÜÇÜKKURT<sup>1</sup>, Damla ARSLAN-ACARÖZ<sup>1\*</sup>, Hasan Hüseyin DEMİREL<sup>2</sup>,  
Sinan İNCE<sup>3</sup>, Abdullah ERYAVUZ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

<sup>2</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Bayat MYO Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, AFYONKARAHİSAR

<sup>3</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

<sup>4</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

<sup>#</sup>Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 16.KARİYER.142 proje numarası ile desteklenmiştir.

\*Corresponding author e-mail: damlaarslan06@hotmail.com

### ÖZ

Çalışmada gentamisin maruziyeti ile toksisite oluşturulan ratlarda borun (B) muhtemel koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla Wistar albino 56 erkek rat kullanıldı. Her grupta 7 hayvan olacak şekilde, kontrol, gentamisin (100 mg/kg i.p.), B-5 (5 mg/kg B, i.p.), B-10 (10 mg/kg B, i.p.), B-20 (20 mg/kg B, i.p.), B-5 + gentamisin (5 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.), B-10 + gentamisin (10 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.), B-20 + gentamisin (20 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.) olarak 8 gruba ayrıldı. Ratlara B uygulaması gentamisin enjeksiyonundan 4 gün önce vermeye başlandı. Gentamisin uygulamasına 4. gün başlandı ve 12. gün bu uygulama sonlandırıldı. Gentamisin uygulamasının bitişinden itibaren hayvanlara 2 gün daha B verildi. Uygulama sonunda hayvanlardan anestezi altında karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokuları alındı. Gentamisinin karaciğer dokusunda malondialdehid düzeylerini arttırdığı, buna karşın redükte glutatyon düzeylerini, superoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerini azalttığı tespit edildi. Histopatolojik incelemede gentamisinin dokularda hasar oluşturduğu gözlemlendi. Buna karşın, B uygulamasının gentamisin ile indüklenen hasarı azalttığı tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Bor, Gentamisin, Histopatoloji, Lipid Peroksidasyon, Oksidatif Stres, Rat

### Potential Protective Effect of Boron Against Gentamicin-Induced Oxidative Stress on Rat Tissues

#### ABSTRACT

The objective of this study was to determine the protective effects of boron on gentamicin induced toxicity in rats. Rats were divided into eight experimental groups containing seven animals in each group. Experimental groups were as follows; control group (fed without B), gentamicin group (100 mg/kg, i.p.), B-5 group (5 mg/kg B, i.p.), B-10 group (10 mg/kg B, i.p.), B-20 group (20 mg/kg B, i.p.), B-5 + gentamicin group (5 mg/kg B and 100 mg/kg gentamicin, i.p.), B-10 + gentamicin group (10 mg/kg B and 100 mg/kg gentamicin, i.p.), and B-20 + gentamicin group (20 mg/kg B and 100 mg/kg gentamicin, i.p.). B was given to rats before four days. Gentamicin was given to rats on the fourth day and finished on the twelfth day. Also, administration of B was completed the fourteenth day. End of the experiment, liver, hearth, brain, lung, and testis tissues were collected from animals under anaesthesia. Administration of gentamicin increased malondialdehyde levels whereas decreased reduce glutathione levels, superoxide dismutase and catalase activities in the liver. Histopathologically, damages were detected in the tissues of gentamicin group. However, treatment of boron resulted in a reversal of gentamicin-induced damages.

**Key Words:** Boron, Gentamicin, Histopathology, Lipid Peroxidation, Oxidative Stress, Rat

To cite this article: Küçük Kurt İ., Arslan-Acaröz D., Demirel H.H., İnce S., Eryavuz A. Ratlarda Gentamisin İle İndüklenmiş Oksidatif Streste Borun Muhtemel Koruyucu Etkisinin Dokularda Araştırılması. *Kocatepe Vet. (2017) 10(3): 172-179.*

## GİRİŞ

Antibiyotikler; bakteri, mantar ve aktinomisetler gibi canlı mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, düşük yoğunlukta bile bakteri gelişimini etkileyen ya da onları öldüren maddelerdir. Antibiyotikler; sitoplazmik zarın geçirgenliğini değiştirerek, hücre duvarı sentezini engelleyerek, nükleik asit sentezini önleyerek, ara metabolizmayı bozarak ve protein sentezini engelleyerek bakteri hücrelerinde etkilerini gösterirler (Şener, 1990; Dökmeci ve ark., 1992; Şanlı ve Kaya, 1994). Gentamisin, organik polikasyon yapıya sahip olan bir antibiyotiktir (Hancock ve ark., 1981). Bununla birlikte *Micromonospora purpurea*'dan elde edilen gentamisin aminoglikozid ilaçlar içinde amikasinin sonra, spektrumu en geniş ve antibakteriyel etki gücü en yüksek olan ilaçtır. Mikroorganizmalar üzerinde bakterisid etki meydana getirmektedir. Özellikle *Enterobacteriaceae* grubu (*Klebsiella*, *E. Coli*, *Aerobacter* vb.) bakteriler ile *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif basiller ve metisiline dirençli *S. aureus* suşları üzerinde etkilidir (Lode ve ark., 1998). Gentamisin, özellikle veteriner ve insan hekimliğinde bilhassa gram negatif bakteriyel enfeksiyonlara karşı yaygın olarak kullanılmaktadır (Nakajima ve ark., 1994; Cuzzocrea ve ark., 2002). Etkin ve ucuz olması nedeniyle klinikte kullanımı önem taşımaktadır (Duff ve ark., 1983; Briggs ve ark., 1989). Birçok hastalığın tedavisi sırasında ilaçların kullanımı sonucunda oksidatif strese bağlı bazı komplikasyonlar oluşabildiği bilinmektedir. Ayrıca oluşan oksidatif stresin sadece tek bir organı değil başka organları da etkilediği araştırmalarla ortaya konmuştur. Hastalıkların tedavisinde kullanılan ve vücutta en fazla serbest radikal oluşumunu tetikleyen ilaçlardan birisi de gentamisindir. Bunun oluşturduğu oksidatif stres doza bağımlı olarak değişebilmektedir. Bu bağlamda gentamisin metabolize olurken organizmada aşırı serbest radikal oluşumunu tetiklemektedir (Ateşşahin ve ark., 2003; Karahan ve ark., 2005). Son yıllarda daha çok borun eklem ve kemik sağlığı açısından önemi üzerinde durulmaktadır. Ayrıca beyin fonksiyonları ve bazı hormonlara etkisi ile ilgili çalışmalar da yapılmaktadır (Bilgiç ve Dayık, 2013; Kucukurt ve ark., 2015). Bor (B) özellikle kemik ve dişlerin yapısında bulunmaktadır (McCoy ve ark., 1994). B vücutta kalsiyum, magnezyum ve fosfor absorpsiyonunu dengeleyici rolü ile kemik sağlığı açısından önemli bir elementtir. Nitekim günlük B takviyesinin östrojen etkisini artırarak osteoporoz tedavisinde etkili olduğu belirlenmiştir (Nielsen ve ark., 1987). Yapılan bir başka çalışmada koroner kalp hastalıklarına iyi geldiği ve yüksek dansiteli lipoproteinde azalmaya yol açtığı (Samman ve ark., 1998) ifade edilmektedir. Bu çalışmalardan anlaşılacağı üzere çeşitli hastalıklarda ve deney hayvanlarıyla oluşturulan hastalık ve toksikasyon modellerinde B'un antioksidan sistemi destekleyerek oksidatif stresi azalttığı ve böylelikle tedavilere katkı sağlayabildiği anlaşılmaktadır. Sunulan çalışmanın literatür kısmında belirtildiği üzere, antimikrobiyel tedavide kullanılan gentamisinin, tedaviyi sınırlandıran yan etkilerinin ortaya çıkmasında oksidatif stres ve inflamasyonun öncelikle etkili olduğu düşünülmüşse, gentamisinle tedavideki yan etkilerin B ile hafifletilebileceği düşünülmektedir. Yapılan literatür taramaları sonucunda konuya ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Birçok çalışmada oksidatif strese karşı antioksidan ajanların etkisi araştırılmıştır

(Turkez ve ark., 2007; Ince ve ark., 2010). Bu araştırmada oksidan özelliğe sahip gentamisin maruziyetine karşı son yıllarda antioksidan madde olarak kullanılan B'un, olası koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla; karaciğer, beyin, akciğer, kalp ve testis dokularında malondialdehid (MDA), redükte glutasyon (GSH), superoksid dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri belirlendi. Buna ilaveten, ışık elektron mikroskopuyla bu dokuların histopatolojik olarak analizleri gerçekleştirildi.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Çalışma boyunca hayvanlara yapılan tüm müdahaleler Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından bildirilen kurallar doğrultusunda 07/09/2016 tarihli ve 116 sayılı etik kurul onayı ile gerçekleştirildi. Hayvanların bakımı Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Sunulan çalışmada gentamisin toksikasyonu oluşturmak amacıyla gentamisin sülfat (Sigma, MO, USA) kullanıldı. Tedavi gruplarına uygulanacak B kaynağı olarak daha önceki çalışmalarda (Ince ve ark., 2012; 2014) belirtilen borik asit (Sigma, MO, USA) kullanıldı. Ayrıca deneysel çalışma boyunca hayvanlara özel olarak hazırlanan B içermeyen diyet verildi (Bourgeois ve ark., 2007). Analizi yapılacak parametrelerin belirlenmesi için kullanılacak kimyasallar ve kitler ilgili firmalardan temin edildi.

### Deneysel aşama

Sunulan çalışmanın deney hayvanlarıyla çalışılan kısmı 14 gün olarak planlandı. Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen 10-12 haftalık yaşta 56 erkek rat (yaklaşık 150-200 g), her grupta 7 rat olacak şekilde rastgele örnekleme metodu ile 8 gruba ayrıldı. Tüm gruplarda bulunan deney hayvanları çalışma süresince özel olarak hazırlanan B içermeyen diyet ile beslendi. Gruplar kontrol, gentamisin (100 mg/kg i.p.), B-5 (5 mg/kg B, i.p.), B-10 (10 mg/kg B, i.p.), B-20 (20 mg/kg B, i.p.), B-5 + gentamisin (5 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.), B-10 + gentamisin (10 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.), B-20 + gentamisin (20 mg/kg B ve 100 mg/kg gentamisin, i.p.) olarak 8 gruba ayrıldı.

### Bor ve gentamisin uygulamaları

Bor kaynağı olarak serum fizyolojik içinde çözdürülerek hazırlanan borik asit 5, 10 ve 20 mgB/kg dozlarda periton içi (i.p.) yolla (Ince ve ark., 2012; 2014) grup 3, 4 ve 5'te bulunan ratlara 14 gün süreyle ve borik asit 5, 10 ve 20 mgB/kg dozlarda i.p. yolla grup 6, 7 ve 8. gruptaki ratlara

gentamisin enjeksiyonundan 4. gün önce verilmeye başlandı ve gentamisin uygulamasının bitişinden itibaren 2 gün daha verildi. Enjeksiyona hazır hale getirilen gentamisin ise 100 mg/kg dozda (Atessahin ve ark., 2003; Luo, 2014) kontrol grubu dışındaki bütün gruplara i.p. yolla, B uygulamasından sonra 4. günde verilmeye başlandı ve 8 gün boyunca günde tek doz halinde uygulandı.

### **Çalışmanın sonlandırılması**

Çalışmanın 14. günü gecesi ratlar aç bırakıldı. Oniki saat açlık sonrası ketamin (65 mg/kg, i.p.) - ksilazin (7 mg/kg, i.p.) anestezisi altında deney hayvanlarından analizler için gerekli doku örneklerinden yeterli miktarda alındı.

### **Homojenatların Hazırlanması**

Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokuları çıkarıldı ve soğuk % 0,9' luk NaCl ile iyice yıkandı. Dokuların her biri dondurulmuş 0,15 M Tris-HCl buffer (pH 7,4) içinde yabancı dokulardan uzaklaştırılarak kesildi. Bu dokular % 10 (w/v) homojenat elde edebilmek için 0,15 M Tris-HCl buffer (pH 7,4)'de homojenize edildi. Dokular 4 °C'de 10 dk 2500 g'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatantlar ise -20 °C'de analiz edilinceye kadar saklandı (Kucukkurt ve ark., 2008).

### **Histopatolojik Analizler için Dokuların Hazırlanması**

Çalışmanın sonunda, sakrifiye edilen 35 erkek rattan karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, kalp ve testis dokuları histopatolojik analiz için % 10'luk formalin solüsyonu içine alındı ve % 10'luk formalin solüsyonunda 48 saat sabitlendi. Dereceli alkolden (% 70'den % 100'e) geçirilerek dokular dehidre edildi. Dokular ksilende temizlendikten sonra parafine gömüldü, 5-6 µm'lik kesitlere ayrıldıktan sonra hemotoksilen-eosinle (H&E) ile boyandı. Sonuç olarak her bir bölüm ışık mikroskopu altında (Olympus BX51 and DP20 eklenilmiş Mikroskopik Dijital Resim Analiz Sistemi, Tokyo, Japonya) incelendi.

### **Biyokimyasal Analizler**

Dokuda malondialdehit (MDA) tayini, Okhawa ve ark. (1979)'nın metoduna göre belirlenmiştir. Redükte glutasyon (GSH) konsantrasyonu doku homojenatlarında Beutler ve ark. (1993) tarafından tanımlanan metot kullanılarak ölçüldü. Doku homojenatında superoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Sun ve ark. (1988)'nin metoduna göre ölçüldü. Doku homojenatında katalaz (CAT) aktivitesi Aebi (1974)'nin metoduna göre belirlendi. Dokudaki protein içeriği Lowry ve ark. (1951)'nin

kolorimetrik metoduna göre test edildi. Spektrofotometrik ölçümler Shimadzu 1601 UV-VIS spektrofotometresi (Tokyo, Japonya) kullanılarak gerçekleştirildi.

### **İstatistiksel Analiz**

Araştırmadan elde edilen sonuçlara, SPSS 20.0 istatistik paket programında tek yönlü ANOVA testi uygulandı. İstatistiksel fark bulunan sonuçlara Duncan testi uygulandı ve veriler "ortalama ± standart sapma" olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0.05$  kabul edildi.

## **BULGULAR**

### **Lipid Peroksidasyon ve İndirgenmiş Glutasyon Üzerine Etkisi**

Gentamisin uygulanan ratlar kontrolle kıyaslandığında karaciğer MDA düzeylerinde belirgin bir artış gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Buna karşın, B'un artan dozuna bağlı olarak, B verilen gentamisin gruplarında (Tablo 1) karaciğer dokularında MDA düzeyinin oldukça azaldığı belirlendi ( $p < 0.05$ ). Gentamisin grubunun karaciğer GSH düzeyleri kontrol grubundan daha düşük bulundu ( $p < 0.05$ ). Buna karşın, doza bağlı olarak bor gruplarında karaciğer dokularında GSH düzeyleri gentamisin grubundan daha yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ) (Tablo 2). Diğer dokularda, MDA ve GSH düzeyleri yönünden gruplar arasında önemli bir fark saptanmadı ( $P > 0.05$ ).

### **Antioksidan Enzimlere Etkisi**

Antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktiviteleri ratların karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokularında Tablo 3 ve 4'te gösterildiği gibi belirlendi. Gentamisin grubu kontrolle kıyaslandığında, SOD ve CAT aktivitesi karaciğer dokularında düşük bulundu ( $p < 0.05$ ). Buna karşın, artan miktarlarda B uygulamasının, gentamisin ile indüklenen karaciğerdeki SOD ve CAT aktivite değişikliklerini kontrol grubunda elde edilen verilere doğru yaklaştırdığı gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Diğer dokularda, antioksidan enzim düzeyleri yönünden gruplar arasında önemli bir fark saptanmadı ( $P > 0.05$ ).

### **Histopatolojik Değişiklikler**

Deney gruplarındaki hayvanlara ait organlarındaki histopatolojik değişiklikler ayrıntılı olarak tanımlanmış ve Şekil 1'de gösterilmiştir. Gentamisin grubundaki hayvanların beyin dokularında neuronal dejenerasyon ile fokal gliozis (Şekil 1A5), akciğerlerinde interalveolar septal

dokuda kalınlaşma (Şekil 1B5), Kalp kası hücrelerinde hyalin dejenerasyon alanları ve nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1C5), karaciğerlerinde sinüzoidal dilatasyon ve hepatositlerde nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1D5), testis dokularında tubulus semineferus kontortus lumenlerinde spermatozoit yoğunluğunda azalma ve sertoli hücrelerinde

nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1E5) gözlemlendi. Gentamisin ve B verilen gruplarda, karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokularında gentamisin grubuna kıyasla daha az histopatolojik değişim gözlemlendi (Şekil 1A-E,6,7,8 sırasıyla). Kontrol ve yalnız B verilen ratların karaciğer, kalp, beyin, akciğer ve testis dokularında önemli histopatolojik değişimler gözlemlenmedi (Şekil 1A-E1-4, sırasıyla).

**Tablo 1.** Erkek ratlarda 100 mg/kg dozunda gentamisin ve 100 mg/kg gentamisin + 5 (B5), 10 (B10) ve 20 (B20) mg/kg miktarlarında uygulanan boron (B) doku MDA düzeyleri üzerine etkisi

**Table 1.** Effects of gentamicin at dose 100 mg/kg and 100 mg/kg gentamicin + boron (B) at doses 5 (B5), 10 (B10) and 20 (B20) mg/kg on malondialdehyde levels of male rat tissues

| Gruplar           | Karaciğer<br>(nmol/g doku) | Kalp<br>(nmol/g doku) | Beyin<br>(nmol/g doku) | Akciğer<br>(nmol/g doku) | Testis<br>(nmol/g doku) |
|-------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Kontrol           | 3,24±0,76 <sup>d</sup>     | 2,90±0,25             | 1,22±0,19              | 0,55±0,08                | 0,39±0,09               |
| Gentamisin        | 6,25±0,72 <sup>a</sup>     | 3,14±0,99             | 1,39±0,24              | 0,69±0,19                | 0,78±0,24               |
| B-5               | 3,30±0,36 <sup>d</sup>     | 3,19±0,26             | 1,28±0,37              | 0,53±0,10                | 0,31±0,11               |
| B-10              | 3,42±0,84 <sup>d</sup>     | 2,81±0,33             | 1,24±0,27              | 0,53±0,12                | 0,41±0,15               |
| B-20              | 3,52±0,75 <sup>d</sup>     | 2,91±0,46             | 1,32±0,32              | 0,58±0,10                | 0,45±0,11               |
| B-5 + Gentamisin  | 5,85±0,71 <sup>ab</sup>    | 3,13±0,34             | 1,30±0,45              | 0,78±0,11                | 0,52±0,14               |
| B-10 + Gentamisin | 4,68±1,23 <sup>c</sup>     | 3,07±0,66             | 1,33±0,37              | 0,59±0,11                | 0,49±0,15               |
| B-20 + Gentamisin | 5,19±0,43 <sup>bc</sup>    | 2,93±0,65             | 1,29±0,27              | 0,68±0,10                | 0,51±0,18               |

Ortalama ± standard sapma; n=7

a,b,c,d Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

**Tablo 2.** Erkek ratlarda 100 mg/kg dozunda gentamisin ve 100 mg/kg gentamisin + 5 (B5), 10 (B10) ve 20 (B20) mg/kg miktarlarında uygulanan boron (B) doku GSH düzeyleri üzerine etkisi

**Table 2.** Effects of gentamicin at dose 100 mg/kg and 100 mg/kg gentamicin + boron (B) at doses 5 (B5), 10 (B10) and 20 (B20) mg/kg on glutathione levels of male rats tissues

| Gruplar           | Karaciğer<br>(nmol/g doku) | Kalp<br>(nmol/g doku) | Beyin<br>(nmol/g doku) | Akciğer<br>(nmol/g doku) | Testis<br>(nmol/g doku) |
|-------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Kontrol           | 16,56±1,34 <sup>a</sup>    | 7,11±0,87             | 5,08±1,09              | 9,14±1,91                | 4,67±0,75               |
| Gentamisin        | 4,04±1,47 <sup>c</sup>     | 6,43±0,40             | 4,04±0,63              | 8,88±1,15                | 4,07±0,71               |
| B-5               | 7,39±1,19 <sup>c</sup>     | 6,21±1,56             | 4,13±0,87              | 9,71±0,80                | 4,65±0,58               |
| B-10              | 11,5±1,20 <sup>b</sup>     | 6,82±0,78             | 4,07±0,70              | 9,21±1,59                | 4,71±0,64               |
| B-20              | 11,23±0,97 <sup>b</sup>    | 7,00±1,15             | 4,60±0,93              | 9,50±1,30                | 4,93±0,90               |
| B-5 + Gentamisin  | 5,72±0,72 <sup>d</sup>     | 6,22±0,59             | 4,22±0,52              | 9,16±1,70                | 4,33±0,69               |
| B-10 + Gentamisin | 5,27±0,61 <sup>d</sup>     | 6,44±0,80             | 4,82±0,51              | 9,11±1,30                | 4,32±0,77               |
| B-20 + Gentamisin | 7,29±0,73 <sup>c</sup>     | 6,70±1,04             | 4,96±0,41              | 9,22±1,16                | 4,63±0,72               |

Ortalama ± standard sapma; n=7

a,b,c,d,e Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

**Table 3.** Erkek ratlarda 100 mg/kg dozunda gentamisin ve 100 mg/kg gentamisin + 5 (B5), 10 (B10) ve 20 (B20) mg/kg miktarlarında uygulanan borun (B) doku SOD düzeyleri üzerine etkisi

**Table 3.** Effects of gentamicin at dose 100 mg/kg and 100 mg/kg gentamicin + boron (B) at doses 5 (B5), 10 (B10) and 20 (B20) mg/kg on superoxide dismutase activities of male rats tissues

| Gruplar           | Karaciğer<br>(U/μg protein) | Kalp<br>(U/μg protein) | Beyin<br>(U/μg protein) | Akciğer<br>(U/μg protein) | Testis<br>(U/μg protein) |
|-------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Kontrol           | 8,26±0,91 <sup>a</sup>      | 12,98±1,15             | 11,93±0,81              | 8,90±0,81                 | 12,62±1,95               |
| Gentamisin        | 5,35±0,74 <sup>e</sup>      | 11,81±0,88             | 11,65±1,01              | 8,55±0,44                 | 11,87±1,13               |
| B-5               | 6,90±0,55 <sup>bc</sup>     | 12,34±0,70             | 11,23±1,12              | 8,78±1,07                 | 11,25±1,24               |
| B-10              | 7,22±0,73 <sup>bc</sup>     | 13,06±1,18             | 11,44±1,19              | 8,53±0,68                 | 11,70±1,75               |
| B-20              | 7,58±1,25 <sup>ab</sup>     | 12,56±0,82             | 11,53±0,66              | 8,60±0,97                 | 12,15±2,27               |
| B-5 + Gentamisin  | 5,78±0,65 <sup>de</sup>     | 12,44±0,96             | 11,06±0,91              | 8,83±0,88                 | 11,87±1,70               |
| B-10 + Gentamisin | 6,47±0,76 <sup>cd</sup>     | 12,85±0,84             | 11,43±0,70              | 8,21±0,82                 | 12,73±1,16               |
| B-20 + Gentamisin | 6,24±1,22 <sup>cde</sup>    | 12,37±0,70             | 11,84±1,11              | 8,30±0,97                 | 11,65±1,88               |

Ortalama ± standard sapma; n=7

<sup>a,b,c,d,e</sup> Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

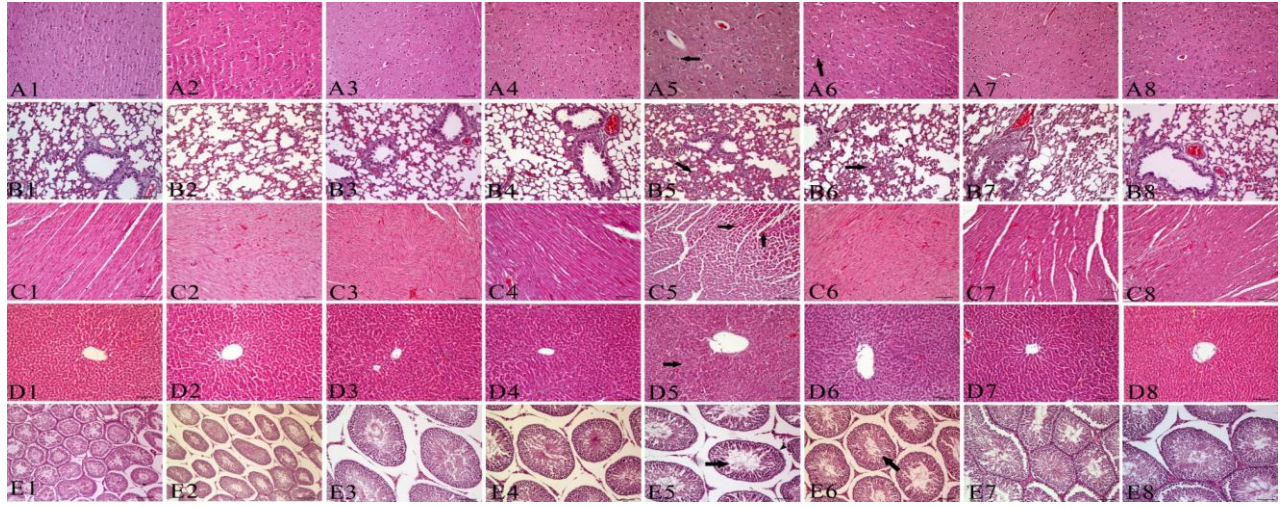
**Table 4.** Erkek ratlarda 100 mg/kg dozunda gentamisin ve 100 mg/kg gentamisin + 5 (B<sub>5</sub>), 10 (B<sub>10</sub>) ve 20 (B<sub>20</sub>) mg/kg miktarlarında uygulanan borun (B) doku CAT düzeyleri üzerine etkisi

**Table 4.** Effects of gentamicin at dose 100 mg/kg and 100 mg/kg gentamicin + boron (B) at doses 5 (B<sub>5</sub>), 10 (B<sub>10</sub>) and 20 (B<sub>20</sub>) mg/kg on catalase activities of male rats tissues

| Gruplar         | Karaciğer<br>(nmoldk <sup>-1</sup> /μg<br>protein) | Kalp<br>(nmoldk <sup>-1</sup> /μg<br>protein) | Beyin<br>(nmoldk <sup>-1</sup> /μg<br>protein) | Akciğer<br>(nmoldk <sup>-1</sup> /μg<br>protein) | Testis<br>(nmoldk <sup>-1</sup> /μg<br>protein) |
|-----------------|--|---|--|--|---|
| Kontrol         | 4,96±0,48 <sup>a</sup>                             | 5,05±1,08                                     | 4,14±0,54                                      | 1,09±0,20  | 3,71±0,63                                       |
| Gentamisin      | 2,54±0,49 <sup>e</sup>                             | 4,73±0,54                                     | 4,15±0,13                                      | 0,92±0,17  | 3,19±0,12                                       |
| B-5             | 3,77±0,72 <sup>bc</sup>                            | 4,36±0,70                                     | 4,38±0,15                                      | 0,85±0,19  | 3,51±0,19                                       |
| B-10            | 4,28±0,88 <sup>ab</sup>                            | 4,80±0,56                                     | 4,40±0,16                                      | 0,85±0,15  | 3,46±0,17                                       |
| B-20            | 4,33±0,75 <sup>ab</sup>                            | 4,80±0,56                                     | 4,87±0,18                                      | 0,88±0,17  | 3,76±0,11                                       |
| B-5+Gentamisin  | 3,12±0,63 <sup>cde</sup>                           | 4,93±0,52                                     | 4,36±0,15                                      | 0,83±0,19  | 3,25±0,17                                       |
| B-10+Gentamisin | 2,90±0,96 <sup>de</sup>                            | 4,97±0,45                                     | 4,17±0,12                                      | 0,82±0,17  | 3,28±0,14                                       |
| B-20+Gentamisin | 3,41±0,84 <sup>cd</sup>                            | 4,16±0,47                                     | 4,35±0,11                                      | 0,83±0,13  | 3,31±0,17                                       |

Ortalama ± standard sapma; n=7

<sup>a,b,c,d,e</sup> Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)



**Şekil 1.** Erkek ratların beyin (A), akciğer (B), kalp (C), karaciğer (D) ve testis (E) dokularında gentamisind ile oluşturulan hasar üzerine borun etkisi. Tüm şekiller H&E ile boyanmıştır. Orijinal büyütme oranı olarak 20x ve 100 µm kullanılmıştır. Oklar sırasıyla beyinde neuronal dejenerasyon ile fokal gliozis (Şekil 1A5), akciğerlerde interalveolar septal dokuda kalınlaşma (Şekil 1B5), kalp dokusunda hyalin dejenerasyonları ve nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1C5), karaciğerlerde sinüzoidal dilatasyon ve hepatositlerde nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1D5), ve testiste tubulus semineferus kontortus lumenlerinde spermatozoit yoğunluğunda azalma ve sertoli hücrelerinde nekrobiyotik değişiklikler (Şekil 1E5) işaret etmektedir. (1) Kontrol grubunu, (2) B-5, (3) B-10, (4) B-20, (5) Gentamisin, (6) B-5 + Gentamisin, (7) B-10 + Gentamisin ve (8) B-20 + Gentamisin uygulanan ratları göstermektedir.

**Figure 1.** The effect of gentamicin and gentamicin plus boron on brain (A), lung (B), heart (C), liver (D), and testis (E) tissues in male rats. All figures were stained with H&E. The original magnification was x20 and the scale bars represent 100 µm. Arrows indicate neurophagia and focal gliosis in the brain (Fig 1A5), thickening of interalveolar septal tissue in lung (Fig 1B5), hyaline degenerations and necrosis in the heart (Fig 1C5), sinusoidal dilatations and necrosis in hepatocyte of liver (Fig 1D3), and reduced spermatogenic density and necrosis in sertoli cell of testis (Fig 1E5), respectively. (1) Control group, (2) B-5, (3) B-10, (4) B-20, (5) Gentamicin, (6) B-5 + Gentamicin, (7) B-10 + Gentamicin ve (8) B-20 + Gentamicin.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Çeşitli enfeksiyonlara karşı sıkça ve yaygın kullanıma sahip olan ve aminoglikozid antibiyotik grubunda yer alan gentamisin nefrotoksisite ve ototoksisiteye yol açtığından dolayı uzun dönem kullanımını sınırlı kalmaktadır (Kayaalp, 1990). Gentamisin bu toksik etkilerinin azaltılması için çeşitli stratejiler, mekanizmalar ya da ajanların deneysel çalışmalarda kullanılmasıyla koruyucu araştırmalar yapılmakta, fakat bunların sağlık alanında pratik uygulamalara geçişi sınırlı olmaktadır (Khan ve ark., 2009). Özellikle olumsuz yan etkileri bilinen etkili ilaçların kullanımının artırılması amacıyla çeşitli ajanların ya da maddelerin bu ilaçlarla birlikte kullanılmasının gerekliliğini beraberinde getirmektedir. Bu amaçla da en çok doğal antioksidan maddelerin kullanımı tercih edilmektedir. Gentamisin nefrotoksisitesinin oluşum mekanizmalarından biri de reaktif oksijen türleri oluşturmalarıdır (Cuzzocrea ve ark., 2002; Quirós ve ark., 2011). İlacın kullanımına bağlı olarak oluşan bu olumsuz etkiyi azaltmak içinde antioksidanların kullanımı söz konusu olmaktadır. Bor madeninin ülkemizde yüksek miktarda bulunması ve yapılan birçok araştırmada canlıların gelişiminde rol almasının yanı sıra farmakolojik olarak da etkilerinin belirlenmesi ülke ekonomisi ve

kullanım alanının artırılması bakımından önem teşkil etmektedir. Yapılan bu çalışmada farmakolojik etkinliğe sahip B'un gentamisin toksistesine karşı olası koruyucu etkisi araştırılmıştır. Noorani ve ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada *Caesalpinia bonduc* (L.) bitkisinin metanolik ekstraktının gentamisin ile indüklenen toksikasyonda olası koruyucu etkisini ratlarda araştırmışlardır. Çalışmada, 80 mg/kg gentamisin günde tek sefer ve 7 gün boyunca uygulaması sonucunda alanin aminotransferaz (ALT), aspartate aminotransferaz (AST), alkaline phosphataz (ALP), trigliserid (TG), bilirubin ve total protein değerlerinin gentamisin verilen gruplarda yüksek olduğu ve karaciğer hasarının gözlemlendiği belirtilmiştir. Buna karşın bitki ekstraktının 250 ve 500 mg/kg dozlarında verilmesi ile gentamisin uygulaması sonucunda, ekstraktların gentamisin neden olduğu karaciğer hasarını azalttığını vurgulamışlardır. *Sonchus asper* bitkisinin metanolik ekstraktının antioksidan ve koruyucu etkisinin gentamisinle indüklenen ratlarda araştırıldığı bir çalışmada, 100 mg/kg gentamisin 10 gün boyunca intraperitoneal uygulanan ratlarda serum AST, ALT, ALP, LDH,  $\gamma$ -GT, total kolesterol, trigliserid, total protein, albumin, kreatinin, BUN, total ve direkt bilirubin değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Bunun yanısıra lipid peroksidasyon

ve DNA hasarının arttığı, buna karşın GSH ve antioksidan enzimlerin aktivitelerinin (CAT, SOD) azaldığı belirtilmiştir. Bitki ekstraktının 100 ve 200 mg/kg verilmesinin görülen bu bozukluklarının azalmasına neden olduğu vurgulanmıştır (Khan ve ark., 2011). Benzer şekilde, yapılan bu çalışmada da 100 mg/kg gentamisin ratların karaciğerinde MDA düzeylerini arttırdığı, buna karşın GSH ve antioksidan enzimlerin (SOD ve CAT) aktivitelerini azalttığı belirlenmiştir. Buna karşın B uygulamasının artan dozlarına bağlı olarak gentamisin neden olduğu doku hasarını azalttığı bununda B'un antioksidan etkisinden kaynaklı olduğu söylenebilir (Ince ve Arslan-Acaroz, 2015). Khan ve ark. (2011) tarafından 7 gün boyunca gentamisin (100 mg/kg) uygulanan ratların karaciğerlerinde şiddetli derecede lökosit infiltrasyonu ve hepatositlerde hidropik dejenerasyonların olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde, Noorani ve ark. (2011) 7 gün boyunca gentamisin (100 mg/kg) uygulanan ratların karaciğerlerinde nekroz, sinüzoidlerde genişleme ve lökosit infiltrasyonları, damarlarında dilatasyon ve konjesyon ile birlikte hemorajinin görüldüğünü belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, beyin dokularında nöronal dejenerasyon ile fokal gliozis, akciğerlerinde interalveolar septal dokuda kalınlaşma, kalp kası hücrelerinde hyalin dejenerasyonu alanları ve nekrobiyotik değişiklikler, karaciğerlerinde sinüzoidal dilatasyon ve hepatositlerde nekrobiyotik değişiklikler, testis dokularında tubulus semineferus kontortus lumenlerinde spermatozoit yoğunluğunda azalma ve sertoli hücrelerinde nekrobiyotik değişiklikler gözlemlendi. Sonuç olarak çalışmada, borun ratlarda gentamisin ile indüklenen doku hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu belirlendi. B hem LPO'yu engelleyerek hem de antioksidan savunma sistemi aktivitesini artırarak koruyucu etkilerini meydana getirmiştir. Aynı zamanda, B gentamisin toksisitesine karşı hücreleri korumakta ve oluşan doku hasarına karşın rejenerasyonu artırmaktadır.

#### KAYNAKLAR

**Aebi H.** Catalase in vitro, in: U. Bergmeyer (Ed.), Methods of enzymatic analysis. Academic Press, New York and London. 1974; 673-677.

**Atessahin A, Karahan I, Yilmaz S, Çeribaşı AO, Princci I.** The effect of manganese chloride on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Pharmacological Research. 2003; 48: 637-642.

**Beutler E, Duron O, Kelly BM.** Improved method for the determination of blood glutathione. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 1993; 61: 882-888.

**Bilgiç M, Dayık M.** Borun özellikleri ve tekstil endüstrisinde kullanımıyla sağladığı avantajlar. Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi. 2013; 7: 27-37.

**Bourgeois AC, Scott ME, Sabally K, Koski KG.** Low dietary boron reduces parasite (nematoda) survival and alters cytokine profiles but the infection modifies liver minerals in mice. Journal of Nutrition. 2007; 137: 2080-2086.

**Briggs GG, Ambrose P, Nageotte MP.** Gentamicin dosing in postpartum women with endometritis. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1989; 160: 309-13.

**Cuzzocrea S, Mazzon E, Dugo L, Serraino I, Di Paola R, Britti D, De Sarro A, Pierpaoli S, Caputi A, Masini E, Salvemini DA.** Role for superoxide in gentamicin-mediated nephropathy in rats. European Journal of Pharmacology. 2002; 450: 67-76.

**Dökmeci İ, Akçasu A, Banoğlu N, Berkarda Ş.** Farmakoloji. İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar. Editör: Dökmeci İ. Nobel Tıp Kitabevleri. 1992; 705-785.

**Duff P, Jorgensen JH, Gibbs RS, Blanco JD, Alexander G, Castaneda YS.** Serum gentamicin levels in patients with post-cesarean endomyometritis. Obstetric Gynecology. 1983; 61: 723-727.

**Hancock RE, Raffle VJ, Nicas TI.** Involvement of the outer membrane in gentamicin and streptomycin uptake and killing in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 1981; 19: 777-785.

**Ince S., Arslan-Acaroz D.** An Update on Health Effects of Metalloid Trace Element: Boron. Aperi Journal of Drug Designing and Pharmacology. 2015; 2:1.

**Ince S, Keles H, Erdogan M, Hazman O, Kucukkurt I.** Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. Drug and chemical toxicology. 2012; 35: 285-292.

**Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fidan AF, Eryavuz A.** The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. Journal of Trace Element and Medicinal Biology. 2010; 24: 161-164.

**Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Acaroz DA, Akbel E, Cigerci IH.** Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. Chemosphere. 2014; 108: 197-204.

**Karahan I, Atessahin A, Yilmaz S, Ceribaşı AO, Sakin F.** Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and

- nephrotoxicity in rats. *Toxicology*. 2005; 215: 198-204.
- Kayaalp SO.** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (Cilt 3). Ankara: Feryal Matbaası. 1990.
- Khan MR, Badar I, Siddiquah A.** Prevention of hepatorenal toxicity with *Sonchus asper* in gentamicin treated rats. *BMC complementary and alternative medicine*. 2011; 11(1): 113.
- Khan SA, Priyamvada S, Farooq N, Khan S, Khan MW, Yusufi AN.** Protective effect of green tea extract on gentamicin-induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Pharmacological Research*. 2009; 59: 254-262.
- Kucukkurt I, Akbel E, Karabag F, Ince S.** The effects of dietary boron compounds in supplemented diet on hormonal activity and some biochemical parameters in rats. *Toxicology and industrial health*. 2015; 31: 255-260.
- Kucukkurt I, Ince S, Fidan AF, Ozdemir A.** The effects of dietary supplementation of different amount of *Yucca schidigera* powder (Sarsaponin 30®) on blood and tissue antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2008; 7: 1413-1417.
- Lode H, Kemmerich B, Koeppe P.** Comparative clinical pharmacology of gentamicin, sisomicin, and tobramycin. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 1975; 8: 396-401.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ.** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. 1951; 193: 265-275.
- Luo QH, Chen ML, Sun FJ, Chen ZL, Li MY, Zeng W, Gong L, Cheng AC, Peng X, Fang J, Tang L, Geng Y.** KIM-1 and NGAL as biomarkers of nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. *Molecular Cell Biochemistry*. 2014; 397: 53-60.
- McCoy H, Kenney MA, Montgomery C, Irwin A, Williams L, Orrell R.** Relation of boron to the composition and mechanical properties of bone. *Environmental Health Perspective*. 1994; 102: 49-53.
- Nakajima T, Hishida A, Kato A.** Mechanisms for protective effects of free radical scavengers on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *American Journal of Physiology*. 1994; 266: 425-431.
- Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, Hunt JR.** Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *Faseb Journal*. 1987; 1: 394-397.
- Noorani AA, Gupta K, Bhadada K, Kale MK.** Protective effect of methanolic leaf extract of *Caesalpinia bonduc* (L.) on gentamicin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*. 2011; 10: 21-25.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979; 95: 351-358.
- Quirós Y, Vicente-Vicente L, Morales AI, Lopez-Novoa JM, Lopez-Hernandez FJ.** An integrative overview on the mechanisms underlying the renal tubular cytotoxicity of gentamicin. *Toxicological Sciences*. 2011; 119: 245-256.
- Samman S, Naghii MR, Lyons Wall PM, Verus AP.** The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. *Biological Trace Element Research*. 1998; 66: 227-235.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y.** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*. 1988; 34: 497-500.
- Şanlı Y, Kaya S.** Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağlık Seçenekleri. Medisan Yayınevi, Ankara. 1994; 571-650.
- Şener S.** Veteriner Klinik Farmakoloji ve Formüller. Pethask Veteriner Hekimliği Yayınları. 1990; 83-91.
- Turkez H, Geyikoğlu F, Tatar A, Keleş S, Özkanç A.** Effects of some boron compounds on peripheral human blood. *Zeitschrift für Naturforschung*. 2007; 62: 889-896.