

**T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**AMFOTERİSİN B LİPİD FORMÜLASYONLARININ SIÇAN
BÖBREĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Şükriye Deniz Akman- MUTLUAY

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Gülhal BOZKIR**

ADANA- 2007

**T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**AMFOTERİSİN B LİPİD FORMÜLASYONLARININ SIÇAN
BÖBREĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Şükriye Deniz Akman- MUTLUAY

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Gülhal BOZKIR**

ADANA- 2007

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF 2004 D1 No'lu Proje olarak desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY FORMU

Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anatomi Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan ‘‘Amphotericin B Lipid Formölasyonlarının Sıçan Böbreği Üzerine Etkilerinin İncelenmesi’’ adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28.09.2007

İmza

Prof. Dr. M. Gülhal Bozkır

Çukurova Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. Fahri Dere

Çukurova Üniversitesi

Jüri Üyesi

İmza

Prof. Dr. Ufuk Özgü Mete

Çukurova Üniversitesi

Jüri Üyesi

İmza

Prof. Dr. Yeşim Taşova

Çukurova Üniversitesi

Jüri Üyesi

İmza

Prof. Dr. Erdem Gümüşburun

Gaziantep Üniversitesi

Jüri Üyesi

Yukarıdaki tez, Yönetim Kurulunun..... tarih ve.....sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Halil Kasap

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarım sırasında emeği geçen, yönlendiren, değerli hocalarım Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Fahri DERE' ye, tez konumun seçilmesi, yürütülmesi, değerlendirilmesi ve tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen bana daima destek olan yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Memduha Gülhal BOZKIR'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım. Bu çalışmanın her aşamasında elektron mikrografların elde edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Ufuk Özgü METE'ye, yardımlarını gördüğüm Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Yeşim TAŞOVA'ya, istatistiksel değerlendirmede yardımcı olan sayın Doç. Dr. Gülşah ŞEYDAOĞLU'na, çalışmalarım sırasında örneklerin alınmasında her türlü desteğini gördüğüm çalışma arkadaşım Öğr. Gör. Dr. Pınar KARAKAŞ'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bu günlere gelmemde çok büyük emekleri olan sevgili annem ve bilge insan babam Prof. Dr. Hasan Akman'a, her zaman beni destekleyen, sabır gösteren ve cesaretlendiren sevgili eşim Kerem ve ailesine teşekkür ederim.

Ş. Deniz Akman-MUTLUAY

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
KABUL VE ONAY	
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1.Böbrek Anatomisi	4
2.1.1. Yüzleri	5
2.1.2. Sağ böbrek ön yüz komşuluğu	5
2.1.3. Sol böbrek ön yüz komşuluğu	6
2.1.4. Sağ ve sol böbreğin arka yüz komşulukları	6
2.2. Kenarları	7
2.2.1. Margo lateralis	7
2.2.2. Margo medialis	7
2.3. Uçları	7
2.3.1. Extremitas superior	7
2.3.2. Extremitas inferior	8
2.4. Böbreği Saran Kılıflar	8
2.4.1. Capsula fibrosa	8

2.4.2.Capsula adiposa	8
2.4.3. Fascia renalis	9
2.5. Böbreğin İç Yapısı	9
2.5.1. Medulla renalis	10
2.5.2. Cortex renalis	10
2.5.3. Sinüs renalis	12
2.6. Lipid Taşıyıcılarla Amfoterisin B Uygulanması	12
2.6.1. Lipozomal Amfoterisin B, L-AMB (Ambisome)	13
2.7.2 Amfoterisin B-lipid kompleks, ABLC (Abelcet)	14
2.7.3 Amfoterisin B koloidal dispersiyon (ABCD)	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Araştırmada kullanılan deney hayvanları ve bakımları	16
3.2. Deneyin Prosedürü	17
3.3. Böbreklerin Çıkarılması	17
3.4. Kan Analizleri	18
3.5. Böbrekten Elektron Mikroskobu için Örneklerin alınması	18
3.6. Elektron Mikroskobik Doku Hazırlama Yöntemi	18
3.7 İstatistiksel analiz	20
4. BULGULAR	21
4.1. Biyokimyasal Bulgular	21
4.1.1. 14 ve 28 Günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) gruplarının karşılaştırılması	
4.1.2. 14 ve 28 Günlük amfoterisin B lipid kompleksi grupların karşılaştırılması	
4.1.3. 14 Günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve 14 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) gruplarının karşılaştırılması	

4.1.4. 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) gruplarının karşılaştırılması	
4.1.5. 14 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve 14 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması	
4.1.6. 14 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) ve 14 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması	
4.1.7. 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve 28 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması.	
4.1.8. 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) ve 28 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması	
4.1.9. Plazma Elektrolit Değerleri	30
4.2. Elektron Mikroskopik Bulgular	37
4.2.1.Kontrol grubu–14 gün	37
4.2.2. Lipozomal Amfoterisin B, L-AMB (Ambisome) grubu–14 gün	41
4.2.3. Amfoterisin B-lipid kompleks, ABLC (Abelcet) grubu–14 gün	45
4.2.4. Kontrol grubu–28 gün	49
4.2.5. Lipozomal Amfoterisin B, L-AMB (Ambisome) grubu–28 gün	52
4.2.3. Amfoterisin B-lipid kompleks, ABLC (Abelcet) grubu–28 gün	57
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇLAR	68
7. KAYNAKLAR	70
8. ÖZGEÇMİŞ	75

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO 1. Elektron Mikroskopik Doku Takip Yöntemi

TABLO 2. 14 ve 28 günlük 14 ve 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulaması sonucunda plazma elektrolit değerleri

TABLO 3. 14 ve 28 günlük amfoterisin B-lipid kompleksi uygulaması sonucunda plazma elektrolit değerleri

TABLO 4. 14 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve 14 günlük amfoterisin B-lipid kompleks uygulaması sonucunda plazma elektrolit değerleri

TABLO 5. 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve 28 günlük amfoterisin B-lipid kompleks uygulaması sonucunda plazma elektrolit değerleri

TABLO 6. 14 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve 14 günlük kontrol gruplarının plazma elektrolit değerleri

TABLO 7. 14 günlük amfoterisin B-lipid kompleksi ve 14 günlük kontrol gruplarının plazma elektrolit değerleri

TABLO 8. 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve 28 günlük kontrol gruplarının plazma elektrolit değerleri

TABLO 9. 28 günlük amfoterisin B-lipid kompleksi ve 28 günlük kontrol gruplarının plazma elektrolit değerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Böbreklerin pozisyonu	4
Şekil 2. Böbreğin iç ve dış kenarları	5
Şekil 3. Sağ ve sol böbreğin ön yüz komşulukları	6
Şekil 4. Böbreğin içyapısı	10
Şekil 5. Bowman kapsülü	11
Şekil 6. Amfoterisin B lipid kompleksi molekülü	14
Şekil 7. Amfoterisin B koloidal dispersiyon molekü	15
Şekil 8. Polikarbonat şeffaf kafesler	16
Şekil 9. Perfüzyon	18
Şekil 10. Tüm gruplardan elde edilen plazma kreatin düzeyleri	30
Şekil 11. Tüm gruplardan elde edilen plazma kan üre azotu düzeyleri	31
Şekil 12. Tüm gruplardan elde edilen plazma fosfor düzeyleri	32
Şekil 13. Tüm gruplardan elde edilen plazma magnezyum düzeyleri	33
Şekil 14. Tüm gruplardan elde edilen plazma sodyum düzeyleri	34
Şekil 15. Tüm gruplardan elde edilen plazma potasyum düzeyleri	35
Şekil 16. Tüm gruplardan elde edilen plazma klor düzeyleri	36
Şekil 17. Kontrol grubu–14 gün Elektron Mikroskopisi	38
Şekil 18. Kontrol grubu–14 gün Elektron Mikroskopisi	39
Şekil 19. L-AMB (Ambisome) grubu–14 gün Elektron Mikroskopisi	41
Şekil 20. L-AMB (Ambisome) grubu–14 gün Elektron Mikroskopisi	42
Şekil 21. L-AMB (Ambisome) grubu–14 gün Elektron Mikroskopisi	43
Şekil 22. ABLC (Abelcet) grubu–14 gün Elektron Mikroskopisi	45
Şekil 23. ABLC (Abelcet) grubu–14 gün Elektron Mikroskopisi	46

Şekil 24. ABLC (Abelcet) grubu–14 gün Elektron Mikroskopisi	47
Şekil 25. Kontrol grubu–28 gün Elektron Mikroskopisi	49
Şekil 26. Kontrol grubu–28 gün Elektron Mikroskopisi	50
Şekil 27. L-AMB (Ambisome) grubu–28 gün Elektron Mikroskopisi	52
Şekil 28. L-AMB (Ambisome) grubu–28 gün Elektron Mikroskopisi	53
Şekil 29. L-AMB (Ambisome) grubu–28 gün Elektron Mikroskopisi	54
Şekil 30. L-AMB (Ambisome) grubu–28 gün Elektron Mikroskopisi	55
Şekil 31. L-AMB (Ambisome) grubu–28 gün Elektron Mikroskopisi	57
Şekil 32. L-AMB (Ambisome) grubu–28 gün Elektron Mikroskopisi	58
Şekil 33. L-AMB (Ambisome) grubu–28 gün Elektron Mikroskopisi	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

L-AMB	Lipozomal amfoterisin B (Ambisome)
ABLC	Amfoterisin B lipid kompleksi (Abelcet)
mmol/L	Milimol/litre
mmol/D	Milimol/desilitre

ÖZET

Amphotericin B Lipid Formülasyonlarının Sıçan Böbreği Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Amfoterisin B'nin lipid formülasyonlarından olan lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC), sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadırlar. Bu lipid formülasyonların, amfoterisin B'ye nazaran daha az nefrotoksik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda amfoterisin B'nin 2 ayrı lipid formu olan amfoterisin B lipid kompleksi ve lipozomal amfoterisin B'nin uzun ve kısa süreli tedavi uygulamaları sırasında sıçandaki nefrotoksik etkilerini morfolojik olarak incelemeyi hedef aldık. Bu amaçla 36 tane Wistar albino tipi sıçanlar 6 gruba ayrıldı. 1.deney grubuna 0,9 molar serum fizyolojik verilerek kontrol grubu oluşturulurken, 2 ve 3. gruplarımıza sırasıyla intraperitoneal olarak 14 gün süreyle 5 mg/kg Lipozomal Amfoterisin B ve 5 mg/kg Amphotericin B lipid kompleksi uygulanmıştır. 4. deney grubuna 28 gün süreyle 0,9 molar serum fizyolojik verilerek kontrol grubu oluşturulurken, 5 ve 6. gruplarımıza sırasıyla intraperitoneal olarak 28 gün süreyle 5 mg/kg Lipozomal Amfoterisin B ve 5 mg/kg Amphotericin B lipid kompleksi uygulanmıştır. Deney gruplarına ait kan değerleri kontrol grupları ile karşılaştırıldıklarında plazma kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerleri farklı değilken; plazma klor değeri düşük çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$). Grup 3 ve 6 arasında ise plazma sodyum ve fosfor değerleri farklı çıkarken ($p < 0,05$), Grup 2 ve 5 arasında elektrolit değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Elektron mikroskopik incelemelerde 2. ve 3. deney gruplarımızın proksimal tübül hücreleri genellikle normal yapıdaydı. Epitel hücrelerin apikal sitoplazmalarında değişik büyüklükte lizozomlar ve küçük vakuolar yapılar gözlenirken, 5. ve 6. grupların proksimal tübül hücrelerinde, lizozomlarda ve apikal sitoplazmada yerleşim gösteren vakuolar yapılarda artış olduğu dikkat çekti.

Sonuç olarak; 14 gün ve 28 gün olmak üzere eşit sürelerde ve dozlarda (5 mg/kg) liposomal amfoterisin B (L-AMB) ve amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulamasına maruz kalan sıçanların böbrek dokuları elektron mikroskopik düzeyde değerlendirildiğinde, 14. günde her iki ilaç grubundaki proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinin bu ilaçlardan önemli oranda etkilenmedikleri, 28 günlük uygulamada ise her iki ilacın da özellikle proksimal tübül hücrelerinde yapısal değişikliklere neden oldukları belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Amfoterisin B lipid formülasyonları, sıçan böbreği, nefrotoksisite, ultrastruktürel

ABSTRACT

The Effects of Amphotericin B Lipid Formulation on Rat Kidney

Amphotericin B lipid complex (ABLC) or liposomal Amphotericin B (L-AMB) are used in clinics for the treatment of systemic fungal infections. Lipid formulations of amphotericin B are less toxic than conventional amphotericin B. The goal of our study was to compare the nephrotoxicity effects of Amphotericin B lipid complex and liposomal Amphotericin B which are two separate lipid forms of Amphotericin B on rat kidneys at long and short term treatment applications. For this purpose 36 Wistar Albino rats were divided into six groups. While Group 1 is composed as a control group by administrating intraperitoneal 0, 9 molar Serum physiologic; meantime Group 2 and 3 are treated 5 mg/kg liposomal Amphotericin B and 5 mg/kg Amphotericin B lipid complex for 14 days. While Group 4 is composed as a control group by administrating intraperitoneal 0, 9 molar Serum physiologic for 28 days; meantime Group 5 and 6 are treated 5 mg/kg liposomal Amphotericin B and 5 mg/kg Amphotericin B lipid complex for 28 days.

When the blood levels between the control group and experimental groups for 14 and 28 days were compared, no value changes were seen for plasma creatin bun, phosphor, magnesium, sodium and potassium; nevertheless, the decrease was seen plasma chlore. By the way there is a significant difference statistically, which is $p \text{ value} = 0,014 < 0,05$. Plasma Sodium and Phosphor values differ between Groups 3 and 6 ($p < 0,05$), however no significant difference is observed between Groups 2 and 5 due to electrolyte values.

At the ultrastructural examination of 2nd and 3rd Groups, the proximal tubule cells were observed normal. In the epithelial cells of apical cytoplasm, different sized lysosomes and small vacuolar structures were observed. After all in Groups 5 and 6, vacuolar structures are increased which are located in the lysosomes of proximal tubule cells and in the apical cytoplasm. As a result, if the kidney tissues of rats are evaluated at the electron microscopic level which are exposed to the treatment of equal periods (14 and 28 days) and equal dosages (5 mg/kg liposomal Amphotericin B and 5 mg/kg Amphotericin B lipid complex); it is

found that proximal and distal tubule epithelial cells are not affected from these treatments after 14th day, but after 28 days this treatment caused little changes in these cells.

Key Words: Amphotericin B lipid formulations, rat kidney, nephrotoxicity, ultrastucturel

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epidemiyolojik verilere göre sistemik mantar enfeksiyonlarının sıklığı gittikçe artmakta, hematolojik malignansi gibi immun sistemi baskılanmış kanser hastalarında, AIDS ve organ nakli geçirmiş kişilerde önemli bir risk faktörü oluşturmaktadır ^{1, 2, 3}.

Son 40 yıldır amfoterisin B sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde geniş spektrumlu etkisinden dolayı primer olarak kullanılmaktadır ⁴. Buna karşılık klinik olarak tanımlandıklarından bugüne kadar nefrotoksik etkileri olduğu pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir ^{5, 6}. Amfoterisin B tedavisinin hastalarda ateş, titreme, hipertansiyon ve hipoksi gibi akut yan etkiler azotemia, renal tubuler asidozis, P ve Mg dengesinin artmasına ve elektrolit dengesinin bozulmasına neden olmaktadır. Ne yazık ki bu ilacın meydana getirdiği akut ve kronik toksik etkiler, tedavinin hastalar için tolere edilebilmesini güçleştirmektedir. Bu nedenle immun sistemi zayıf olan hastalarda profilaktik olarak kullanımı sınırlanmaktadır ⁷. Ayrıca bazen immun sistemi baskılanmış hastalarda yüksek dozun kullanılmasına rağmen yaygın mantar enfeksiyonlarını kontrol etmek mümkün olamamaktadır ^{7, 8}. Amfoterisin B'nin nefrotoksik ve diğer yan etkilerinden dolayı bu ilacın daha az yan etkileri olan alternatif lipid formları geliştirilmiştir. Bu lipid formların böbrekte amfoterisin B'ye oranla daha az yan etkileri olduğu bildirilmiştir ⁹.

Amfoterisin B'nin lipid formülasyonları Lopez-Berestein ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu formülasyonlar iki fosfolipid dimistrol fosfatdikolin (DMPC) ve dimistrol fosfat digliserol (DMPG) 7,3 %5 - %10 oranında amfoterisin B'nin karışımından oluşmuştur ^{10, 11}. Bu lipozomal formülasyonların nötropenik sıçan modellerinde klasik amfoterisin'e göre kandida enfeksiyonlarının tedavisinde daha etkili oldukları ileri sürülmüştür ¹¹. Daha sonra yapılan çalışmalar, suda ve yağda çözülebilir özelliğinden dolayı lipid formülasyonların sistemik kandida tedavisinde ideal olarak kullanılabileceğini göstermiştir ¹².

Klasik amfoterisin B'nin başlıca 3 tane lipid formülasyonu geliştirilmiş olup, pek çok ülkede enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Birinci amfotersin B lipid formülasyonu, gerçek lipozom içerisinde bulunan amfoterisin

B'dir ve Ambisome olarak adlandırılır. İkinci, amfoterisin B lipid kompleksidir ve ticari ismi Abelcet'tir. Üçüncü amfoterisin B lipid formülasyonu, amfoterisin B koloidal dispersiyon'dur ve Amphocil olarak adlandırılır. Genel olarak lipozomal formdaki amfoterisin B preparasyonlarının, klasik amfoterisin B'ye oranla düşük renal konsantrasyonları olmakta, karaciğer ve dalaktaki retiküloendotel dokularda birikim göstermektedir. Farmakokinetik çeşitlilikleri ve dokuda oluşturdıkları harabiyetler molekülün büyüklüğüne, miktarına ve molekülü oluşturan lipidin tipine göre değişmekte olup %33 oranında amfoterisin B içermektedir ¹³.

Son 20 yıldır tanımlanan amfoterisin B'nin lipid formülasyonları'nın potansiyel avantajları, klasik amfoterisin B'nin yüksek dozda verilmesine ve daha az yan etki görülmesine olanak tanımaktadır. Bununla birlikte lipid formülasyonlar da dozun artışına bağlı olarak karaciğerde, dalakta ve akciğer dokularında ilacın konsantrasyonlarının dramatik olarak küçük değişikliklerle arttığı ve klasik formun böbrekteki etkilerine benzer, fakat daha az toksik özellikler gösterdiğini bildiren çalışmalarda karşımıza çıkmaktadır ^{14, 15, 17}. New ve arkadaşları amfoterisin B'nin düşük toksik etkisinin liposomal ilaç kullanımı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir ¹⁶.

Amfoterisin B lipid kompleksi, ABLC (Abelcet) ve klasik amfoterisin B'nin dokular üzerindeki etkileri sıçan, tavşan, köpek gibi pek çok hayvan deneylerinde karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır. Dokulardaki konsantrasyonlarını ölçmek amacıyla tek doz 1 mg/kg amfoterisin B verilen ve tek doz 1mg/kg abelcet verilen karşılatırmalı bir çalışmada, karaciğerde, dalakta, akciğerde ve plazma düzeylerinde Abelcet konsantrasyonun klasik formülasyona göre daha düşük olduğu saptanırken böbrekteki ilaç konsantrasyonun ise klasik amfoterisin formülasyonla benzer değerde olduğu bildirilmiştir ^{14, 18, 19}. Diğer taraftan karaciğer nakli geçirmiş olan 86 hastadan 40 tanesi 1mg/kg 5 gün süresince lipozomal amfoterisin B, L-AMB (Ambisome) tedavisi almış ve bu tedavi sonunda hiçbir hastada gerek karaciğerde gerekse de böbrekte her hangi bir toksik etkiye rastlanmamıştır ²¹. Dolayısıyla, karaciğer nakli olan hastalarda lipozomal amfoterisin B tedavisinin avantajlı ve tolere edilebilir olduğu tanımlanmıştır ²¹. Farmakolojik olarak lipozomal amfoterisin B, klasik amfoterisin B ile karşılaştırıldığında; dağılım volumünün daha az ama serum konsantrasyonunun daha fazla olduğu saptanırken, primer olarak karaciğer ve

dalaktaki retikuloendotelyel hücrelerden elimine edildiği bildirilmiştir ²¹.

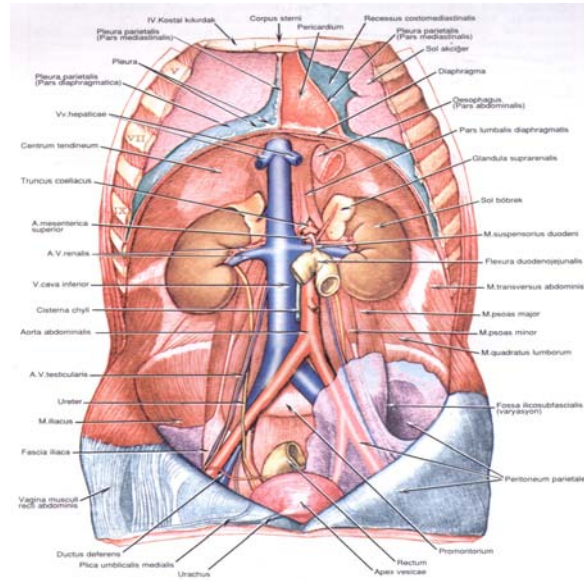
Çalışmamızda amfoterisin B'nin 2 ayrı lipid formu olan amfoterisin B lipid formülasyonu (Ambisome) ve amfoterisin B lipid kompleksinin (Abelcet) uzun ve kısa süreli tedavi uygulamaları sırasında sıçandaki nefrotoksik etkilerini morfolojik olarak incelemeyi hedef aldık. Bu hedef doğrultusunda eşit sürede ve dozlarda intraperitoneal olarak uygulanan bu ilaçların böbrek dokusundaki etkilerini ince yapı düzeyinde araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. BÖBREK ANATOMİSİ

Böbrekler vücudun metabolik aktivite sonucu ortaya çıkan artık ürünleri ile fazla suyun organizmadan dışarı atılmasında rol oynayan organlardır. Bu yol ile vücudun elektrolit ve kan dengesi sağlanırken, kan basıncının üzerinde dolaylı etkileri de vardır^{22,23}.

Böbrekler karın arka duvarında columna vertebralis'in iki yanında retroperitoneal olarak yerleşmiştir (Şekil 1). 12. torakal vertebra ile 3. lumbal vertebra seviyeleri arasında bulunur. Alt uçları crista iliaca'dan 2.5 cm. daha yukarıdadır. Karın boşluğunun sağ- üst kısmında karaciğerin bulunması nedeniyle sağ böbrek, sola göre biraz daha aşağıdadır^{22, 23, 24, 25, 26}.

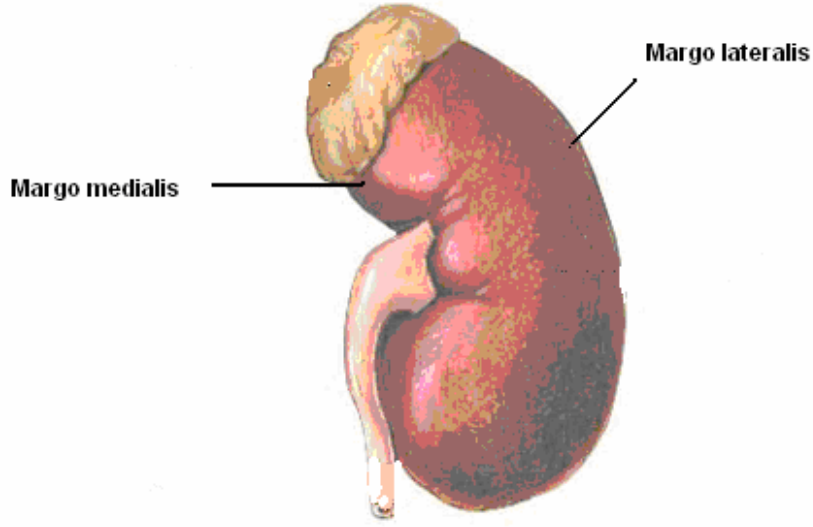


Şekil 1. Böbreklerin pozisyonu

Böbreklerin uzun eksenini aşağı dışa, transvers eksenini ise arkaya dışa doğrudur. Taze erişkin böbrekler kırmızı-kahve rengine olup, yaklaşık 11 cm. uzunluğunda, 6 cm. genişliğinde ve 3 cm. kalınlığındadır. Sol böbrek, sağ böbreğe göre biraz daha uzun ve dardır. Ortalama ağırlığı yetişkin erkeklerde 150 gr. kadınlarda ise 135 gr.'dır^{22,23, 24, 25}.

Böbrekler şekil olarak fasulyeye benzerler. Öne ve dışa bakan yüzüne facies

anterior, arkaya ve ie bakan yüzüne facies posterior, i kenarına margo medialis, dış kenarına ise margo lateralis adı verilir (şekil 2.)^{22, 23, 24, 25}.



şekil 2. Böbreğin i ve dış kenarları.

2. 1. 1. Yüzleri

Facies Anterior

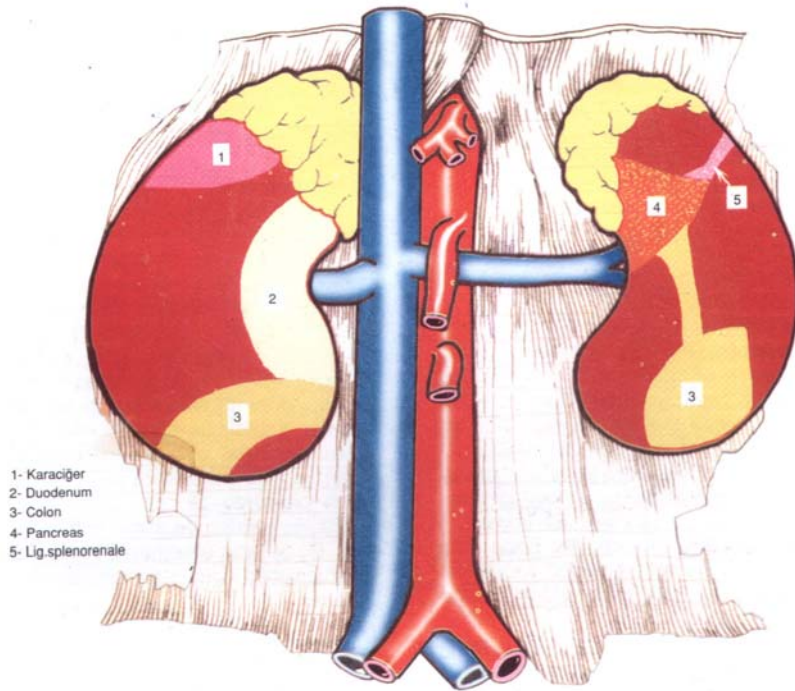
Böbreklerin n yüzleri konvekstir. ne ve biraz dışa bakar. n yüz komşuluğu sağ ve sol böbrekte farklıdır^{22, 23, 24}.

2. 1. 2. Sağ böbrek n yüz komşuluğu:

n yüzün yukarıda ve i yanda kalan küçük bir bölümü sağ böbreküstü bezi ile geride kalan geniş alan ise karaciğerin sağ lob alt yüzü ile komşuluk yapar. Alt ucun dış yarısı flexura coli dextra ile medial yarısı ise ince bağırsak kıvrımları ile komşudur. n yüzün medialde kalan dar alanı ve hilum renale, duodenum'un ikinci parçası ile komşuluk yapar. Sağ böbreğin n yüzünün karaciğer ve ince bağırsaklar ile komşu olduğu alanda periton bulunur. Böbreküstü bezi, duodenum ve kalınbağırsaklarla komşu olduğu alanlarda ise peritonsuzdur ve fascia renalis aracılığı ile olur (şekil 3.)^{22, 23, 24, 25}.

2. 1. 3. Sol böbrek ön yüz komşuluğu:

Sol böbrek üst ucunun medialde kalan dar bir alanı sol böbreküstü bezi ile komşudur. Üst orta kısmı mide, üst- lateral kısmı dalak, hilum renale'ye yakın kısmı pankreas, alt ucun lateral kısmı flexura coli sinistra ile medial kısmı ise ince bağırsak kıvrımları ile komşuluk yapar. Mide, dalak ve ince bağırsak kıvrımları ile komşuluğu periton aracılığıyla. Diğer oluşumlar fascia renalis'e yapışık durumdadır (Şekil 3.)^{22, 23, 24, 25}.



Şekil 3. Sağ ve sol böbreğin ön yüz komşulukları.

Facies posterior:

Böbreklerin arka yüzleri arkaya ve biraz içe bakar. Arka yüz peritonsuz olup yağ dokusu içine gömülü vaziyettedir^{22, 23, 24, 25}.

2. 1. 4. Sağ ve sol böbreğin arka yüz komşulukları:

Her iki böbreğin de arka yüzleri, üst yarıda diaphragma ile alt yarıda içten dışa doğru sırasıyla m. psoas major, m. quadratus lumborum ve m. transversus

abdominis ile komşudur. Bu kaslar ile böbreklerin arka yüzü arasında, yukarıdan aşağıya doğru sırasıyla, n. subcostalis, n. iliohypogastricus ve n. ilioinguinalis yer alır. Sağ böbrek arka yüzü üst yarıda diaphragma aracılığı ile resessus costodiaphragmaticus ve 12.costa ile komşuluk yaparken, sol böbrek biraz daha yüksekte yer alması nedeniyle, 11. ve 12. costa'lar ile komşudur (Şekil 1) ^{22, 23, 24, 25}.

2. 2. Kenarları:

2. 2. 1. Margo lateralis:

Böbreğin lateral kenarı biraz arkaya ve yukarıya bakar. Konveks olan margo lateralis, margo medialis'e göre daha kalındır. Sağ böbreğin dış kenarı periton ile karaciğerin sağ lobundan ayrılır. Sol böbreğin dış kenarı üstte periton ile örtülü olup dalak ile komşudur ^{22, 23, 24, 25}.

2. 2. 2. Margo medialis:

Böbreğin bu kenarı orta kısımda konkav, üst ve alt uçlarda ise konveks bir şekil gösterir. Orta kısımda vertikal olarak uzanan yarığa hilum renale denir. Buradan böbreğe giren ve çıkan oluşumlar geçer. Hilum renale'den böbreğin içindeki sinus renalis denilen boşluğa girilir. Hilum renale'de bulunan oluşumlar önden arkaya doğru v. renalis, a. renalis'in birkaç dalı ve pelvis renalis'tir. Sağ böbreğin iç kenarı, özellikle yukarıda vena cava inferior'a yakındır. Sol böbreğin iç kenarı aorta'dan 2–2,5 cm. kadar dışıdadır ^{22, 23 24}.

2. 3. Uçları:

2. 3. 1. Extremitas superior:

Böbreğin üst ucu, alt uca göre daha kalın ve birbirine daha yakındır. Bu uca glandula suprarenalis oturur ^{22, 23, 24}.

2. 3. 2. Extremitas inferior:

Böbreklerin alt uçları üst uçlarına göre daha ince ve birbirlerinden daha uzakta bulunurlar. Alt uçlar sağda crista iliaca'dan 3–4 cm. solda 5 cm. kadar yukarıda bulunur ve m. psoas ve m. quadratus lumborum ile komşuluk yaparlar^{22, 23, 24}.

2. 4. BÖBREĞİ SARAN KILIFLAR:

Böbreği içten dışa doğru capsula fibrosa, capsula adiposa ve fascia renalis olmak üzere 3 kılıf sarar.

2. 4. 1. Capsula fibrosa:

Sağlam kollajen liflerden yapılmış olan bu kılıf böbreği dıştan saran fibröz bir kapsüldür. Bu kapsül normal bir böbrekten kolayca ayrılabilir. Bu tabaka hilus yakınında iki yaprağa ayrılır. Dış yaprak, hilus'tan böbreğe giren ve çıkan oluşumların üzerine atlar ve bunları her taraftan sarar. İç yaprak sinus'a sokulur ve sinus'un iç yüzünü örter. Capsula fibrosa'nın altında böbrek dokusuna sıkıca yapışık ve düz kas lifleri bulunduran ince bir subfibröz tabaka vardır. Bu tabaka sinus'un iç yüzünü de örter ve burada düz kas lifleri fazlalaşır ve özellikle papilla'ların etrafında sıkılaşıp kas halkaları meydana getirirler. Subfibröz tabakada bulunan düz kas lifleri kasıldıkları zaman böbreği küçültmezler. Bu subfibröz tabakada bulunan düz kas lifleri, böbreğin iç basıncı arttığında bu basınça karşı koyarak böbreğin genişlemesine engel olur. Bu şeklide daha dışta bulunan sert ve elastikiyeti az olan capsula fibrosa'nın gerginliğini azaltır.

Capsula fibrosa, altında bulunan subfibröz yapıya gevşek ve seyrek uzantılar ile tutunmuştur. Bundan dolayı capsula fibrosa normal durumda böbrekten kolayca sıyrılabilir^{22, 23, 24, 25, 26}.

2. 4. 2 Capsula adiposa:

Capsula fibrosa'yı saran zengin yağ dokusudur. Bu yağ tabakasının kalınlığı

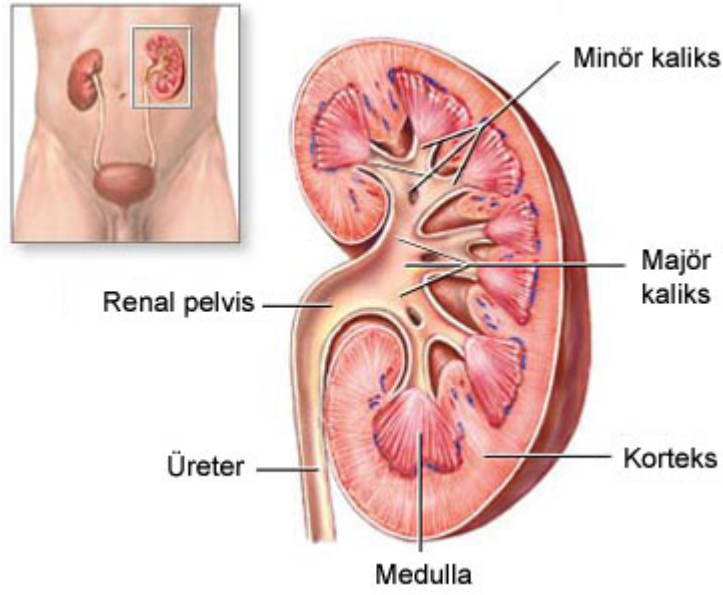
şahsın şişmanlık durumuna bağlı olarak değişir. Capsula adiposa böbreğin arka ve yan yüzlerinde daha zengin olmasına karşılık, ön yüzünde az miktarda bulunur. Perirenal yağ tabakası, hilum renale'den geçerek sinus renalis'e girer ve buradaki yapıların arasını doldurur.

2. 4. 3. Fascia renalis:

Karın duvarındaki subperitoneal fasiyanın bir devamı olan fascia renalis, capsula adiposa ve böbreküstü bezini müşterek sarar. Fascia renalis böbreğin dış kenarında iki yaprağa ayrılır. Bu yapraklardan ön yüzde seyreden yaprağa fascia prerenalis denir. Fascia prerenalis böbreğin ön yüzünde mediale doğru uzanarak diğer böbreğin aynı yaprağı ile birleşir. Karın arka duvarındaki fascia retrorenalis ise böbrekleri arkadan sararak m. psoas major'un fascia'sı ve fascia prevertebralis ile birleşir. Fascia renalis'in bu iki yaprağı yukarıda birleşerek diaphragma'nın fascia'sı ile, aşağıda ise fascia iliaca ile devam eder. Fascia renalis ve karın arka duvarındaki periton arasında pararenal yağ tabakası bulunur. Böbrekleri yerinde tutan en önemli oluşumlar böbreklerin damarları ve fascia renalis'tir. Ayrıca Capsula adiposa ve pararenal yağ dokusunda yardımcı olur^{22, 23, 24, 25, 26}.

2. 5. BÖBREĞİN İÇ YAPISI:

Taze bir böbreği kenarlarından geçen vertikal bir kesitle ikiye ayırdığımızda, renk, fonksiyon ve orijin olarak farklı iki bölümden oluştuğunu gözleriz. Daha açık renkli olan dış kısmına cortex renalis, daha koyu renkli ve çizgili görünümlü iç kısmına medulla renalis denilir. Cortex renalis idrar yapan oluşumları içerir. Medulla renalis ise toplayıcı kanallardan oluşur. Orta kısmında bulunan ve hilum renale'ye açılan boşluk ise sinüs renalis adını alır (Şekil 4).



Şekil 4. Böbreğin iç yapısı.

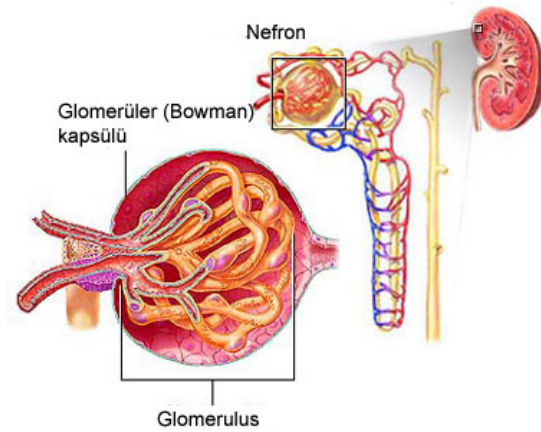
2. 5. 1. Medulla renalis:

Köken olarak üreter tomurcuğundan meydana gelir ve fonksiyonel olarak, idrarın içeriğinde değişiklik yapmayan, sadece idrarı ileten toplayıcı kanallardan oluşur. Medulla renalis sayıları 8-10 (bazen 18-20) arasında değişen, pyramis renalis (Malpighi piramitleri) denilen koni şeklindeki yapılardan oluşur. Bu piramitlerin basis pyramidis denilen taban kısımları böbreğin dış kısmına, papilla renalis denilen tepe kısımları ise sinüs renalis'e bakar. Pyramis renalis'ler sinüs renalis etrafında birbirine değmeyecek şekilde dizilmişlerdir. Pyramis renalis'lerin arasına columna renalis denilen kortikal cevher uzantıları girmiştir. Bir pyramis renalis, papilla renalis hariç tamamen cortex renalis ile çevrilmiştir. İşte, bir pyramis renalis ve etrafını saran kortikal cevher bölümüne bir böbrek lobu (lobus renalis) denilir. Böylece her böbrekte pyramis renalis sayısı kadar böbrek lobu bulunur. Pyramis renalis'lerin taban kısımlarından kortikal cevhere doğru uzanan ve medullar cevhere ait olan ışınsal yapılara pars radiata (stria medullaris) denilir^{22, 23, 24, 25, 26}.

2. 5. 2. Cortex renalis:

Nefrojen kökenlidir. Fonksiyonel olarak idrar yapan oluşumları içerir. Cortex

renalis, papilla'lar hariç pyramis renalis'lerin her tarafını saran böbrek dokusudur. Kortikal cevherin pyramis renalis'ler arasında kalan bölümüne columna renalis denir. Capsula fibrosa ile pyramis renalis'lerin taban kısımları arasında kalan, kabuk şeklindeki kortikal cevher bölümü, taze preparatlarda bir lupla incelendiğinde farklı iki yapı izlenir. Bu yapılardan striae medullaris, daha koyu renkli olup medullar cevherin kortikal cevher içine gönderdiği ışınal bir takım uzantılardır. İki striae medullaris arasında kalan daha açık renkli korteks bölümüne lobulus corticalis adı verilir. Burada kandan idrarı süzen malphigi cisimcikleri (corpusculum renale) ve idrar kanalcıkları bulunur. Taze preparatlarda küçük kırmızı noktacıklar şeklinde gözlenen Malphigi cisimciği, arteriola glomerularis afferens ve arteriola glomerularis efferens'in oluşturduğu damar yumağına glomerulus ve bunu saran yapıya Bowman kapsülü denilir (Şekil 5).



Şekil 5. Bowman kapsülü

Her bir malphigi cisimciği ve buna ait idrar kanalcığı (tubulus proximalis + henle kulpu + tubulus distalis) kandan idrarı süzen bir birim oluşturur. Nefron denilen bu birimler, her bir böbrekte yaklaşık 1.000.000- 1.250.000 adet arasındadır. Her bir idrar kanalcığı kısa bir ara parça ile toplayıcı kanala açılır. Toplayıcı kanallarda birleşerek daha kalın toplayıcı kanalları oluşturur. Sonunda papilla renalis'te bulunan, sayıları 10-25 arasında değişen ve foramina papillare veya poli uriniferi denilen deliklerle calix renalis minor'a açılırlar. Toplayıcı kanallar, böbreğin medullar cevherinde (pyramis renalis ve pars radiata) bulunur.

2. 5. 3. Sinüs renalis:

Böbreğin medial kenarındaki hilum renale denilen açıklıktan sinus renalis denilen boşluğa girilir. Böbreğin dış yüzünü saran kapsula fibrosa'nın iç yaprağı papillalar hariç sinus renalis'in iç yüzünü, calix'lerin dış yüzünü örterek, pelvis renalis'in dış yüzünde devam eder. Sinus renalis'de pelvis renalis, calix renalis'ler, böbrek damarları, sinirler yer alır. Bu yapılar arasında bağ dokusu bulunur. Pyramis renalis'lerin papilla renalis denilen tepelerinde pori uriniferi veya foramina papillare denilen delikler bulunur. Toplayıcı kanallar bu deliklerle calix minor'a açılırken, 2-3 calix minor bir calix major'u oluştururlar. Sayıları genellikle 3 olan calix major'larda birleşerek pelvis renalis'i yaparlar. Böylece cortex renalis'deki nefronlarda yapılan idrar, toplayıcı kanallar ile calix minor, calix major ve pelvis renalis'e iletilir. Pelvis renalis, böbrekten çıkarken birden daralarak üreter'i oluşturur. İdrar calix'lerin ve pelvis renalis'lerin duvarlarında bulunan düz kasların kontraksiyonu ile ureter'e iletilir^{22, 23, 24, 25, 26}.

2.6. LİPİD TAŞIYICILARLA AMFOTERİSİN B UYGULANMASI

Son 30 yıldır, geniş spektrumlu güçlü antifungal etkisinden dolayı Amfoterisin B yaygın mantar enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilmektedir^{3, 4, 5, 17, 27}. Buna karşılık amfoterisin B'nin kronik olarak böbrek yetmezliği ve akut olarak ateş, anafilaksi, hipoksi gibi ciddi yan etkilerinden dolayı, bu ilacın lipid formülasyonları şeklinde uygulamayı gündeme getirmiştir. Bu tür uygulama ile bir yandan Amfoterisin B'ye bağlı yan etkileri azaltırken, diğer yandan antifungal etkinliğin sürdürülmesi amaçlanmıştır^{9, 10, 13}. Günümüzde üç farklı Amfoterisin B preparatı lipid taşıyıcılar içinde klinik çalışmalarda kullanılmaktadır³. Bu preparatlar lipozomal amfoterisin B (L-AMB), amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC), amfoterisin B koloidal dispersiyon (ABCD) olarak adlandırılmaktadırlar. Bu her üç preparatın da ortak özellikleri, klasik Amfoterisin B'ye kıyasla çok daha yüksek dozlarda verilebilmeleri, bu dozlarda daha güçlü antifungal etki göstermeleri ve toksisitelerinin az olmasıdır^{3, 14, 15, 17, 28, 29}.

2. 6. 1. Lipozomal Amfoterisin B, L-AMB (Ambisome):

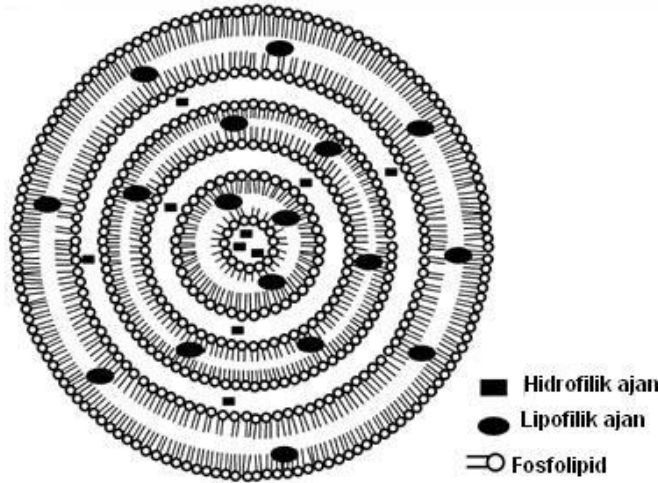
Yapılan çalışmalarda lipozomal amfotersin B'nin yapısının ve toksisitesinin, lipozomların düzenleri ve büyüklüklerine göre değişiklik gösterdiği bildirilmiştir^{30, 31}. Küçük (<ew0,15) tek tabakalı lipozomlar, retiküloendotelyal sistemden daha yavaş geçmekte ve plazma yarılanma süreleri daha uzun olmaktadır. Bunun yanı sıra daha büyük ve çok tabakalı lipozomların ise retiküloendotelyal sistemden geçişleri oldukça hızlıdır. Fakat karaciğer ve dalaktaki birikimlerinden dolayı potansiyel sistemik hedefleri sınırlanmaktadır. Ambisome, unilamellar lipozomal bir formüldür ve 100 nm'den küçüktür³².

Lipozomlar etrafları çift tabakalı fosfolipid membranla çevrili veziküllerdir. Bu veziküllerin içlerinde farklı türden ilaçları taşıyarak tedavi amacıyla kullanılabilirlikleri 1970'li yıllardan bu yana araştırılmaktadır^{10, 13}. Lipozomlar, intravenöz olarak uygulanmalarını takiben dolaşımdaki monositler ve retiküloendotelyal sistemdeki fagositik hücreler tarafından endositoz yoluyla hücre içine alınırlar. Parenteral uygulamadan sonra lipozomların vücut içindeki dağılımı, molekülün fizikokimyasal özellikleri ile yakından ilişkilidir. Bunlar arasında molekülün büyüklüğü, elektriksel yükü ve kolesterol içeriği ilacın organizmadaki dağılımını belirleyen en önemli faktörlerdir. Lipozomlar intravenöz verilmelerinden sonra en az iki farklı grup plazma proteini ile reaksiyona girer. Bunlardan biri opsoninler olup, vezikülün yüzeyine yapışarak fagositler tarafından molekülün alınmasını kolaylaştırırlar. Diğer grup yüksek dansiteli lipoproteinler (High Density Lipoproteins, HDL) olup, lipozoma yapıştığı anda çeperdeki fosfolipid moleküllerini uzaklaştırıp, lipozomun bozulmasına ve sonuçta lipozom içindeki Amfoterisin B'nin (veya diğer ilacın) dışarı sızmasına neden olurlar. Çeper yapısında kolesterol içeren lipozomlar bozulmaya daha dayanıklı olup, bu yapıdaki lipozomal Amfoterisin B molekülleri ile daha yüksek Amfoterisin B doku düzeyleri sağlamak mümkün olmaktadır. Lipozomal amfoterisin B, gerçek lipozom olup küre şeklindedir ve ortalama 80 nm büyüklüğündedir. Küçük molekül yapısındaki (100 nm'den küçük) bu lipozomlar, daha büyük lipozomlara kıyasla mononükleer fagositer hücreler tarafından daha geç fagosit edilir ve retiküloendotelal sistemden yavaş atılırlar, dolayısıyla daha uzun süre dolaşımda kalırlar^{28, 32}. Ayrıca bu moleküller karaciğer sinüzoid epitelindeki fenestrasyonlardan geçerek direkt karaciğer parankim

hücreleriyle de temas edebilirler^{13, 14, 15}.

2.7.2 Amfoterisin B-lipid kompleks, ABLC (Abelcet):

Amfoterisin B-lipid kompleksi, amfoterisin B'nin ticari olarak kullanılan ilk lipid formülasyonu olup 20 Kasım 1995 yılında Amerika Birleşik Devletleri gıda ve ilaç idaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır³³. Amfoterisin B'nin çok tabakalı lipozomlardan oluşan formülasyonları Lopez- Berestesin ve arkadaşları tarafından iki çeşit fosfolipidin karışımından geliştirilmiştir^{11, 13}. Bu preparat 7:3:1 oranında "dimyristoyl phosphatidylcholine", "dimyristoyl phosphatidylglycerol" ve %5- %10 mol oranında Amfoterisin B içermektedir^{13, 28, 33}. Karışımdaki partiküller gerçek lipozomlar (lipid veziküller) olmayıp 1.6–11.1 nm büyüklüğünde Amfoterisin B-lipid kompleks partikülleridir^{13, 34}. Amfoterisin B-lipid kompleksi molekülleri, birbiri içerisine geçmiş soğan halkası yüzeyini andıran bir yapıdadır. Bu çok tabakalı lipid vesikülleri, halkaları üzerinde oldukça fazla miktarda lipofilik ilacı bağlayabilirler. Klasik amfoterisin B den farklı olarak amfoterisin B lipid kompleksi, ribbona benzer bir yapıya sahiptir (Şekil 6).



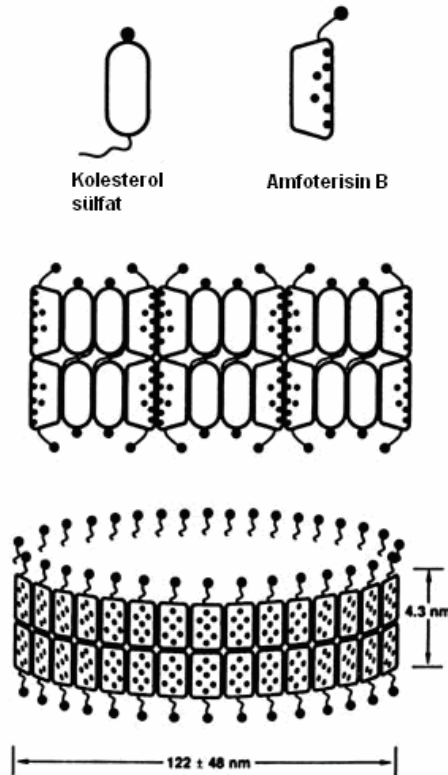
Şekil 6. Amfoterisin B lipid kompleksi molekülü

Yapılan çalışmalarda ilacın ribbon yapısının toksik etkiyi azalttığı bildirilmiştir³⁴. Bu preparatın molekül yapısında, mol olarak daha yüksek oranda amfoterisin B bulunmaktadır. Dolayısıyla amfoterisin B lipid kompleksi, bu büyük moleküler yapısından dolayı, retikuloendotelyal sistem sayesinde, hızlı bir şekilde

sirkülasyondan temizlenmektedir ^{11, 12, 33, 35, 36}. Amfoterisin B'nin bu yeni lipozomal formu, klasik amfoterisin B ile karşılaştırıldığında nötrojenik sıçan modellerinde candidiasis'in tedavi edilmesinde oldukça gelişmiş bir tedavi indeksi sağlamaktadırlar ^{26, 37, 38, 39}.

2.7.3 Amfoterisin B koloidal dispersiyon (ABCD):

Lipozomal Amfoterisin B preparatları içinde en yenisi olan bu molekül, 122 nm çapında, 4 nm kalınlığında, disk şeklinde ve içinde kolesterol sülfat ile birlikte 1,1 molar oranında Amfoterisin B içeren bir yapıdır. Amfoterisin B'nin iki molekülü kolesterol sülfatın iki molekülüne bağlanırlar. Bağlanan bu moleküller hidrofilik ve hidrofobik olmak üzere iki bölümden meydana gelen bir tetramer oluştururlar. Bu tetramerler, silindirik şeklindeki yapının spiral kolları şeklinde toplanırlar (Şekil 7) ^{13, 14, 15}.



Şekil 7. Amfoterisin B koloidal dispersiyon molekülü.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmada kullanılan deney hayvanları ve bakımları

Ç.Ü.T.F Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden, ortalama ağırlıkları 190–290 gr olan 3 aylık Wistar albino tipi erkek sıçanlar çalışma amacıyla kullanıldı. 14 günlük ve 28 günlük olan deney gruplarına hergün 8:30-10:00 saatleri arasında intraperitoneal olarak ilaç enjeksiyonları yapıldı. Laboratuvarın ortam ısısı $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutuldu. Havalandırma, devamlı çalışan pencere tipi aspiratörle sağlandı. Odanın penceresi siyaha boyanmış olup, günlük 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olmak üzere yaşam sikluslarına uygun aydınlatma sistemi kullanıldı (07:00-19.00 aydınlık, 19:00-07.00 karanlık). Sıçanlar şekil 8'te gösterilen polikarbonat şeffaf kafeslerde (320×460×190 H m/m) tutuldu. Kafeslerin içine altlık olarak talaş serildi ve haftada iki kez olmak üzere talaşları değiştirildi (kafes temizlikleri yapıldı). Hayvanların sıçan yemi ve musluk suyu ile ad libidum beslenmesi sağlandı. Tüm sıçanların su besin alımları serbest bırakıldı.



Şekil 8. Polikarbonat şeffaf kafesler.

3.2. Deneyin Prosedürü

Deney kapsamına alınan 36 adet erkek sıçan, her grupta 6 sıçan olmak üzere 6 gruba ayrıldı. 14 günlük çalışmada I. gruba yalnızca serum fizyolojik uygulanarak, kontrol grubu olarak değerlendirilirken, II. gruba; 5 mg/kg Lipozomal Amphoterin B, III. gruba; 5 mg/kg Amphoterin B Lipid Kompleksi 14 gün boyunca her gün aynı saatte intraperitoneal olarak uygulandı. 28 günlük çalışmada kontrol grubu olarak kabul edilen IV. gruba yalnızca serum fizyolojik uygulanırken, V. gruba; 5 mg/kg Lipozomal Amphoterin B, VI. gruba; 5 mg/kg Amphoterin B Lipid Kompleksi 28 gün boyunca her gün aynı saatte intraperitoneal olarak uygulandı. 14 günlük ve 28 günlük ilaç uygulamasının sonunda son dozdan 24 saat sonra derin anestezi altındaki sıçanlardan kan örnekleri alınarak nefrektomi yapıldı.

Na, K, P, Mg üre ve serum kreatinleri analizleri için kan örnekleri; elektron mikroskopik analizler için de doku örnekleri alındı.

3.3. Böbreklerin Çıkarılması

Ksilazin 10 mg/kg (Rompun %2'lik, Bayer) ve 80 mg/kg ketamin (Ketalar, Parke-Davis) intraperitoneal (i.p.) olarak verilerek sıçanların derin anestezileri sağlandı. Sırt üstü yatırılarak toraks bölgesi diseksiyonla açıldı. Torakotomi yapılarak, perfüzyon için yeşil uçlu intravenöz kanül (18 Gauge kateter) ile sol ventrikülden aortaya girildi ve sağ atrium kesildi. Perfüzyon sırasında önce dolaşımdaki kanı boşaltmak amacıyla 250 cc % 0,9'luk NaCl eriyiği verildi (Şekil 9). Sağ atriumdan berrak serum fizyolojik gelince, perfüzyon solusyonu olarak Karnovsky solusyonu 350 cc verildi. Perfüzyon işlemi bittikten sonra abdominal bölge açılarak böbrekler çıkarıldı. Hayvanın abdominal kavitesi derin bir insizyonla açıldı. Deri ve periton klemp ile tutturularak abdominal kavite içerisinde kolayca çalışılması sağlandı. Bağırsaklar bir forseps yardımıyla yukarı doğru itildi. Açıkta kalan böbrekler ince bir forseps ile tutularak eksize edildi. Her bir sıçanın sol böbreğinin korteksi elektron mikroskopik inceleme için %5'lik gluteraldehit içeren tesbit solusyonu içerisine konuldu. Dokular elektron mikroskopik incelemeler için takibe alındılar.



Şekil 9. Perfüzyon

3.4. Kan Analizleri

Anestezi altındaki her bir hayvandan enjektör yardımı ile intrakardiyak alınan kan örnekleri cam tüpler içerisine konuldu. Bu örnekler; Heraeus, Labofuge 400, Germany. 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumları ayrılan örnekler, COBAS İNTEGRA 800 cihazında çalışılmaya uygun sodyum, potasyum, fosfor, magnezyum, üre ve serum kreatini kitleri kullanılarak, biyokimyasal analizlerin ölçümlerinin yapılması sağlandı.

3.5 Böbrekten Elektron Mikroskobu için Örneklerin alınması

Sol böbrekten, dişci mumu ile kaplanmış petri kutuları içerisinde, bistüri yardımı ile korteks ve medulla bölgelerinden 1mm³ boyutlarında doku örnekleri alındı. Bu örnekler 4 saat süre ile elektron mikroskobu için Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış %5’lik gluteraldehit solüsyonu içinde tesbit edildi.

3.6 Elektron Mikroskobi Doku Hazırlama Yöntemi (50)

Millonig fosfat tamponu ile çalkalanan bu dokular 1 gece bu tampon solüsyonu içinde bekletildi. 2. gün dokular %1’lik Osmium Tetroksit solüsyonu ile ikinci kez tesbit edildi ve tesbit sonrasında Millonig fosfat tamponu ile 10’ar dakika iki kez yıkandı. İkinci tespitten sonra derecesi giderek artan alkol serilerinden geçirilerek

dokulara dehidratasyon işlemi yapıldı (Tablo 1). Son %100'lük alkol değişimine kadar solüsyonlar +4°C'de saklandı. Daha sonraki işlemler oda ısısında gerçekleştirildi.

Dehidrate edilen doku parçaları daha sonra aşağıdaki solüsyonlar içerisinde immerse edildi:

Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika

Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika

Bu işlemden sonra doku parçaları içerisinde yeni hazırlanmış gömme materyali (rezin) bulunan tüplere alındı ve bir gece süreyle rotatorda karıştırıldı.

Gömme materyali

Araldite CY 212 20 ml

Sertleştirici HY 964 20 ml

Hızlandırıcı DY 064 0,6 ml

Plastikleştirici (Dibütil ftalat) 0,1 ml

Gömme materyali olarak kullanılan maddeler belirtilen ölçülerde cam kaba aktararak 10–15 dakika karıştırıcıda döndürüldü ve hava kabarcıkları giderildi. Ertesi sabah doku parçaları yeni hazırlanmış gömme materyali kullanılarak 00 polietilen beem kapsüllere gömüldü ve 60°C etüvde 48 saat süreyle polimerize edildi. Daha sonra elde edilen bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Reichart Ultracut S ultramikrotomu ile 500 A° kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 200–300 gözenekli bakır gridlerde toplandı ve %70'lik etil alkolde doymuş uranil asetat ve Reynolds'un kurşun sitrat (Lead sitrat) solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler Zeiss E.M. 10 B elektron mikroskobu ile incelendi. Resimler fohar ve fortezo kartlara basıldı.

Tablo 1. Elektron Mikroskopik Doku Takip Yöntemi

	Süre (dakika)	Sıcaklık (°C)
% 50 Etil Alkol	15	+4
% 70 Etil Alkol	15	+4
% 86 Etil Alkol	15	+4
% 96 Etil Alkol	15	+4
% 100 Etil Alkol	10	+4
% 100 Etil Alkol	10	+4
% 100 Etil Alkol	10	Oda ısısında
Propilen Oksit	15	Oda ısısında
Propilen Oksit	15	Oda ısısında

3.7 İstatistiksel analiz

Verilerin analizinde SPSS PC for Windows ver 15.0 paket programı kullanılmıştır. Bağımsız gruplarda % 95 güven sınırları içinde ortalamaların karşılaştırılmasına dayalı Student T testi kullanılmıştır. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca, alt değer ve üst değer (AD-UD) olarak gösterilmiştir, $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Amfoterisin B Lipid formülasyonu (L-AMB, Ambisome) ve Amfoterisin B Lipid kompleksi'nin (ABLC, Abelcet) 14. ve 28. gün kan değerlerinin ortalama $\pm$ standart sapma, alt ve üst sınır sonuçları.

4.1.1. 14 ve 28 Günlük lipozomal amfoterisin B, L-AMB (Ambisome) grupların karşılaştırılması

Tablo 2. 14 ve 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulaması sonucunda plazma elektrolit değerleri.

	Gruplar	Ort $\pm$ SS	Ortanca (AD-UD)	Ortalamanın std. Hatası	P değeri (2 yönlü)
Kreatin (mg/dL)	2	0,4 $\pm$ 0,0	0,45 (0,3–0,5)	0,0	0,721
	5	0,4 $\pm$ 0,0	0,4 (0,3–0,5)	0,0	
Kan üre azotu (mg/dL)	2	27,0 $\pm$ 2,4	27,5 (25–34)	1,0	0,093
	5	30,6 $\pm$ 4,1	31,50 (23–34)	1,7	
Fosfor (mg/dL)	2	10,9 $\pm$ 0,8	12,4 (9,1–14,2)	0,3	0,173
	5	10,1 $\pm$ 1,0	10,2(8,3–11,4)	0,4	
Magnezyum (mg/dL)	2	3,6 $\pm$ 0,4	3,90 (2,9–4,0)	0,2	0,193
	5	3,3 $\pm$ 0,3	3,25 (3,1–4,0)	0,1	
Sodyum (mmol/L)	2	141,6 $\pm$ 4,2	141,5 (136–148)	1,7	0,076
	5	137,8 $\pm$ 2,1	141,5 (136–141)	0,9	
Potasyum (mmol/L)	2	6,8 $\pm$ 1,0	6,7 (5,3–8,5)	0,4	0,052
	5	8,1 $\pm$ 0,8	8,2 (6,6–9,2)	0,4	
Klor (mmol/L)	2	105,8 $\pm$ 3,1	105,0 (102–111)	1,3	*0,014
	5	101,3 $\pm$ 1,8	99 (104–102)	0,8	

n:6 Denek sayısı

Grup 2: 14 günlük lipozomal amfoterisin B

Grup 5: 28 günlük lipozomal amfoterisin B

*p< 0,05 14 ve 28 günlük lipozomal amfoterisin B arasında (Student t test)

Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, AD: Alt değer, UD: Üst değer

Çalışmamızda grup 2 ve 5 arasında plazma kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerleri farklı değilken; plazma klor değeri farklı çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$).

4.1.2. 14 ve 28 günlük amfoterisin B-lipid kompleks, ABLC (Abelcet) grupların karşılaştırılması

Tablo 3. 14 ve 28 günlük amfoterisin B-lipid kompleks uygulaması sonucunda plazma elektrolit değerleri.

	Gruplar	Ort±ss	Ortanca (AD-UD)	Ortalamanın std. hatası	P değeri (2 yönlü)
Kreatin (mg/dL)	3	0,4±0,1	0,40 (0,3–0,5)	0,0	1,000
	6	0,4±0,1	0,40 (0,3–0,5)	0,0	
Kan üre azotu (mg/Dl)	3	29,2±3,8	33 (22–30)	1,6	0,798
	6	29,7±2,7	29,5 (27–33)	1,1	
Fosfor (mg/dL)	3	11,2±1,3	11,6 (10,2–12,3)	0,5	* 0,035
	6	9,6±0,8	9,6 (8,5–10,6)	0,3	
Magnezyum (mg/dL)	3	3,8±0,5	3,90 (3,1–4,3)	0,2	0,730
	6	3,7±0,4	3,70 (3,0–4,2)	0,2	
Sodyum (mmol/L)	3	144 ±5,4	144,0 (140–153)	2,2	* 0,045
	6	139,2±2,4	139,0 (137–142)	1,0	
Potasyum (mmol/L)	3	7,9±1,4	8,06 (6,03–9,89)	0,6	0,478
	6	7,4±0,4	7,40 (6,9–7,9)	0,2	
Klor (mmol/L)	3	106,2±4,6	105,5 (100–112)	1,9	0,111
	6	102,7±1,6	102,5(101–105)	0,7	

n:6 Denek sayısı

Grup 3: 14. gün amfoterisin B-lipid kompleks (ABLC)

Grup 6: 28. gün amfoterisin B-lipid kompleks (ABLC)

* P< 0,05 14 ve 28 günlük amfoterisin B-lipid kompleksi arasında (student t test)

Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, AD: Alt değer, UD: Üst değer

Çalışmamızda grup 3 ve 6 arasında plazma kreatin, kan üre azotu, magnezyum, klor ve potasyum değerleri benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). Buna karşılık plazma sodyum ve fosfor değerleri farklı çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ve p değerleri sırasıyla; $p= 0,045$, $p= 0,035$ olup ($p<0,05$).

4.1.3. 14 günlük lipozomal amfoterisin B ve 14 günlük amfoterisin B-lipid kompleks gruplarının karşılaştırılması

Tablo 4. 14 günlük lipozomal amfoterisin B ve 14 günlük amfoterisin B-lipid kompleks uygulaması sonucunda plazma elektrolit değerleri.

	Gruplar	Ort±SS	Ortanca (AD-UD)	Ortalamanın std. Hatası	P değeri (2 yönlü)
Kreatin (mg/dL)	2	0,4±0,1	0,45 (0,3–0,5)	0,0	0,448
	3	0,4±0,1	0,40 (0,3–0,5)	0,0	
Kan üre azotu (mg/dL)	2	27,0±2,4	27,5 (25–34)	1,0	0,269
	3	29,2±3,8	33 (22–30)	1,6	
Fosfor (mg/dL)	2	11,0±0,8	12,4 (9,1–14,2)	0,3	0,777
	3	11,2±1,3	11,6 (10,2–12,3)	0,5	
Magnezyum (mg/dL)	2	3,7±0,4	3,90 (2,9–4,0)	0,2	0,692
	3	3,8±0,5	3,70 (3,0–4,2)	0,2	
Sodyum (mmol/L)	2	141,7±4,2	141,5 (136–148)	1,7	0,217
	3	144,7±5,4	139,0 (137–142)	2,2	
Potasyum (mmol/L)	2	6,9±1,1	6,7 (5,3–8,5)	0,4	0,314
	3	7,9±1,4	7,40 (6,9–7,9)	0,6	
Klor (mmol/L)	2	105,8±3,2	105,0 (102–111)	1,3	0,887
	3	106,2±4,6	102,5(101–105)	1,9	

n: 6 Denek sayısı

Grup2: 14. gün lipozomal amfoterisin B (L-AMB)

Grup3: 14.gün amfoterisin B lipid kompleks (ABLC)

* P< 0,05 14 günlük lipozomal amfoterisin B ve amfoterisin B-lipid kompleksi arasında (student t test)

Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, AD: Alt değer, UD: Üst değer

Varyansların eşit olduğu varsayımı altında varyansların homojen olduğu test edildikten sonra her iki grup (grup 2 ve 3) arasında plazma kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum, potasyum ve klor değerleri benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$).

4.1.4. 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) gruplarının karşılaştırılması

Tablo 5. 28 günlük lipozomal amfoterisin B ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi uygulaması sonucunda plazma elektrolit değerleri.

	Gruplar	Ort±SS	Ortanca (AD-UD)	Ortalamanın std. Hatası	P değeri (2 yönlü)
Kreatin (mg/dL)	5	0,4±0,1	0,4 (0,3–0,5)	0,0	0,687
	6	0,4±0,1	0,40 (0,3–0,5)	0,0	
Kan üre azotu (mg/dL)	5	30,7±4,2	27,5 (25–34)	1,7	0,632
	6	29,7±2,7	29,5 (27–33)	1,1	
Fosfor (mg/dL)	5	10,2±1,0	12,4 (9,1–14,2)	0,4	0,343
	6	9,6±0,8	9,6 (8,5–10,6)	0,3	
Magnezyum (mg/dL)	5	3,4±0,3	3,90 (3,1–4,3)	0,1	0,163
	6	3,7±0,4	3,70 (3,0–4,2)	0,2	
Sodyum (mmol/L)	5	137,8±2,1	141,5 (136–148)	0,9	0,334
	6	139,2±2,4	139,0 (137–142)	1,0	
Potasyum (mmol/L)	5	8,1±0,9	8,06 (6,03–9,89)	0,4	0,097
	6	7,4±0,4	7,40 (6,9–7,9)	0,2	
Klor (mmol/L)	5	101,3±1,9	102,5(101–105)	0,8	0,217
	6	102,7±1,6	102,5(101–105)	0,7	

n: 6 Denek sayısı

Grup5: 28. gün lipozomal amfoterisin B (L-AMB)

Grup6: 28.gün amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC)

* P<0,05 28 günlük lipozomal amfoterisin B ve amfoterisin B-lipid kompleksi arasında (student t test)

Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, AD: Alt değer, UD: Üst değer

Çalışmamızdaki her iki grup (grup 5 ve 6) arasında plazma kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum, potasyum ve klor değerleri benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (p>0,05).

4.1.5. 14 günlük lipozomal amfoterisin B ve 14 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması

Tablo 6. 14 günlük lipozomal amfoterisin B ve 14 günlük kontrol gruplarının plazma elektrolit değerleri.

	Gruplar	Ortalama	Ortanca (AD-UD)	Ortalamanın std. hatası	P değeri (2 yönlü)
Kreatin (mg/dL)	2	0,4±0,1	0,45 (0,3–0,5)	0,0	0,515
	1	0,4±0,1	0,40 (0,3–0,5)	0,0	
Kan üre azotu (mg/dL)	2	27,0±2,4	27,5 (25–34)	1,0	0,568
	1	28,0±3,3	27,50 (25–34)	1,4	
Fosfor (mg/dL)	2	11,0±0,8	12,4 (9,1–14,2)	0,3	0,233
	1	12,1±2,0	12,4 (9,1–14,2)	0,8	
Magnezyum (mg/dL)	2	3,7±0,4	3,90 (2,9–4,0)	0,2	0,274
	1	4,0±0,5	4,15 (3,0–4,3)	0,2	
Sodyum (mmol/L)	2	141,7±4,2	141,5 (136–148)	1,7	0,469
	1	140,0±3,4	140,5 (136–144)	1,4	
Potasyum (mmol/L)	2	6,9±1,1	6,7 (5,3–8,5)	0,4	0,068
	1	8,4±1,5	8,2 (6,75–10,6)	0,6	
Klor (mmol/L)	2	105,8±3,2	105,0 (102–111)	1,3	*0,010
	1	101,5±1,0	101,5 (100–103)	0,4	

n: 6 Denek sayısı

Grup 2: 14. gün lipozomal amfoterisin B (L-AMB)

Grup 1: 14. gün kontrol

* P< 0,05 14 günlük lipozomal amfoterisin B ve kontrol grupları arasında (student t test)

Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, AD: Alt değer, UD: Üst değer

Her iki grup (grup 2 ve 1) arasında plazma kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerleri benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). Buna karşılık grup 1 ve 3 arasında plazma klor değeri farklı çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p< 0,05$).

4.1.6 14 günlük amfoterisin B lipid kompleks ve 14 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması

Tablo 7. 14 günlük amfoterisin B lipid kompleks ve 14 günlük kontrol gruplarının plazma elektrolit değerleri

	Gruplar	Ortalama	Ortanca (AD-UD)	Ortalamanın std. hatası	P değeri (2 yönlü)
Kreatin (mg/dL)	3	0,4±0,1	0,40 (0,3–0,5)	0,0	1
	1	0,4±0,1	0,40 (0,3–0,5)	0,0	
Kan üre azotu (mg/dL)	3	29,2±3,8	33 (22–30)	1,6	0,586
	1	28,0±3,3	27,50 (25–34)	1,4	
Fosfor (mg/dL)	3	11,2±1,3	11,6 (10,2–12,3)	0,5	0,358
	1	12,1±2,0	12,4 (9,1–14,2)	0,8	
Magnezyum (mmol/L)	3	3,8±0,5	3,90 (3,1–4,3)	0,2	0,519
	1	4,0±0,5	4,15 (3,0–4,3)	0,2	
Sodyum (mmol/L)	3	144,7±5,4	144,0 (140–153)	2,2	0,102
	1	140,0±3,4	140,5 (136–144)	1,4	
Potasyum (mmol/L)	3	7,9±1,4	8,06 (6,03–9,89)	0,6	0,515
	1	8,4±1,5	8,22 (6,75–10,6)	0,6	
Klor (mmol/L)	3	106,2±4,6	105,5 (100–112)	1,9	*0,037
	1	101,5±1,0	101,5 (100–103)	0,4	

n: 6 Denek sayısı

Grup 3: 14. gün amfoterisin B lipid kompleks (ABLC)

Grup 1: 14. gün kontrol

*P<0,05 14 gün amfoterisin B lipid kompleks ve kontrol grupları arasında(student t test)

Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, AD: Alt değer, UD: Üst değer

Çalışmamızda grup 3 ve 1 arasında plazma kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerleri benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken ($p>0,05$); plazma klor değeri farklı çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$).

4.1.7. 28 günlük lipozomal amfoterisin B ve 28 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması

Tablo 8. 14 günlük lipozomal amfoterisin B ve 14 günlük kontrol gruplarının plazma elektrolit değerleri

	Gruplar	Ortalama	Ortanca (AD-UD)	Ortalamanın std. hatası	P değeri (2 yönlü)
Kreatin (mg/dL)	5	0,4±0,1	0,4 (0,3–0,5)	0,0	0,664
	4	0,4±0,1	0,4 (0,3–0,5)	0,0	
Kan üre azotu (mg/dL)	5	30,7±4,2	27,5 (25–34)	1,7	0,089
	4	27,0±2,3	26,5 (25–31)	0,9	
Fosfor (mg/dL)	5	10,2±1,0	2,4 (9,1–14,2)	0,4	0,762
	4	10,3±0,8	10,3 (9,4–11,4)	0,3	
Magnezyum (mg/dL)	5	3,4±0,3	3,90 (3,1–4,3)	0,1	0,109
	4	3,7±0,4	3,75 (3,3–4,2)	0,2	
Sodyum (mmol/L)	5	137,8±2,1	41,5 (136–148)	0,9	0,446
	4	136,8±2,2	137,0 (134–140)	0,9	
Potasyum (mmol/L)	5	8,1±0,9	8,06 (6,03–9,89)	0,4	0,159
	4	7,3±1,0	137,0 (134–140)	0,4	
Klor (mmol/L)	5	101,3±1,9	102,5 (101–105)	0,8	*0,001
	4	95,2±1,9	95,5 (92–973)	0,8	

n: 6 Denek sayısı

Grup 5: 28. gün lipozomal amfoterisin B (L-AMB)

Grup 4: 28. gün kontrol

* P< 0,05 28 günlük lipozomal amfoterisin B ve kontrol grupları arasında (student t test)

Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, AD: Alt değer, UD: Üst değer

Çalışmamızda her iki grup (grup 5 ve 4) arasında plazma kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerleri benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. (p>0,05). Buna karşılık her iki grup arasında plazma klor değeri farklı çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlıdır p =0,001 (p< 0,05)’dir.

4.1.8. 28 günlük amfoterisin B lipid kompleks ve 28 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması

Tablo 9. 28 günlük amfoterisin B lipid kompleks ve 28 günlük kontrol gruplarının plazma elektrolit değerleri.

	Gruplar	Ortalama	Ortanca (AD-UD)	Ortalamanın std. hatası	P değeri (2 yönlü)
Kreatin (mg/dL)	6	0,4±0,1	0,40 (0,3–0,5)	0,0	0,341
	4	0,4±0,1	0,40 (0,3-0,5)	0,0	
Kan üre azotu (mg/dL)	6	29,7±2,7	26,5 (25–31)	1,1	0,092
	4	27,0±2,3	29,5 (27-33)	0,9	
Fosfor (mg/dL)	6	9,6±0,8	10,3 (9,4–11,4)	0,3	0,159
	4	10,3±0,8	9,6 (8,5-10,6)	0,3	
Magnezyum (mg/dL)	6	3,7±0,4	3,75 (3,3–4,2)	0,2	0,892
	4	3,7±0,4	3,70 (3,0-4,2)	0,2	
Sodyum (mmol/L)	6	139,2±2,4	137,0 (134–140)	1,0	0,112
	4	136,8±2,2	139,0 (137-142)	0,9	
Potasyum (mmol/L)	6	7,4±0,4	137,0 (134–140)	0,2	0,822
	4	7,3±1,0	7,40 (6,9-7,9)	0,4	
Klor (mmol/L)	6	102,7±1,6	95,5 (92–973)	0,7	*0,001
	4	95,2±1,9	102,5(101-105)	0,8	

n: 6 Denek sayısı

Grup 6: 28. gün amfoterisin B lipid kompleks (ABLC)

Grup 4: 28. gün kontrol

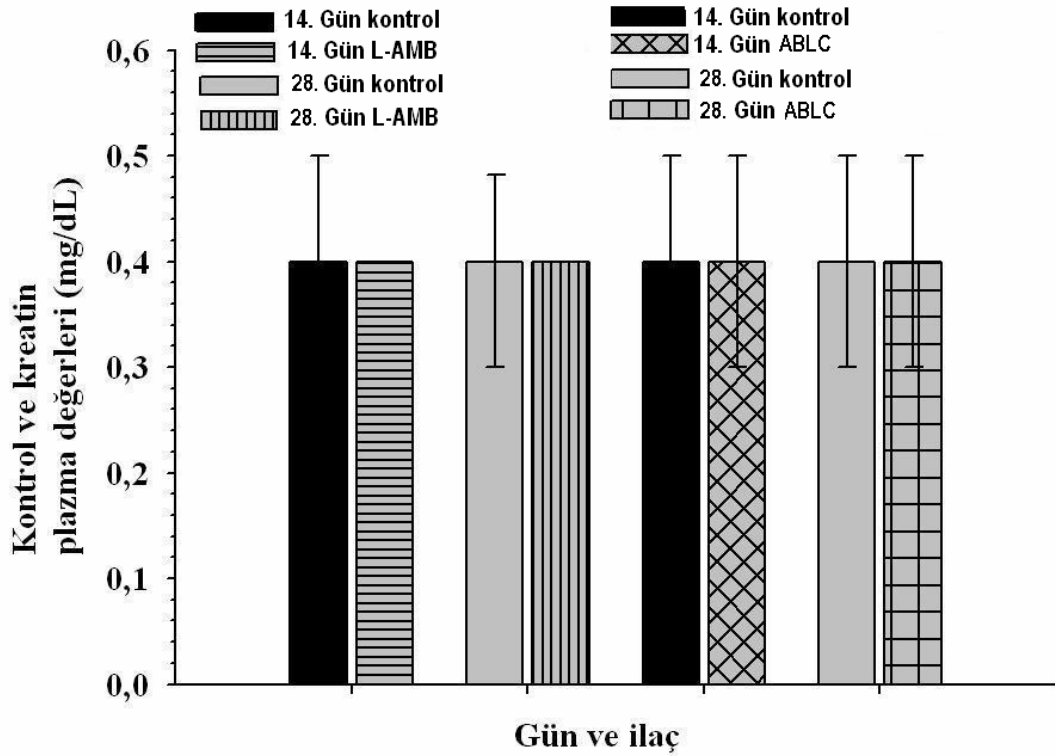
*P<0,05 28 gün amfoterisin B lipid kompleks ve kontrol grupları arasında(student t test)

Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, AD: Alt değer, UD: Üst değer

Çalışmamızdaki her iki grup (grup 6 ve 4) arasında plazma kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerleri benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). Her iki grup arasında (grup 5 ve 6) plazma klor değeri farklı çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$).

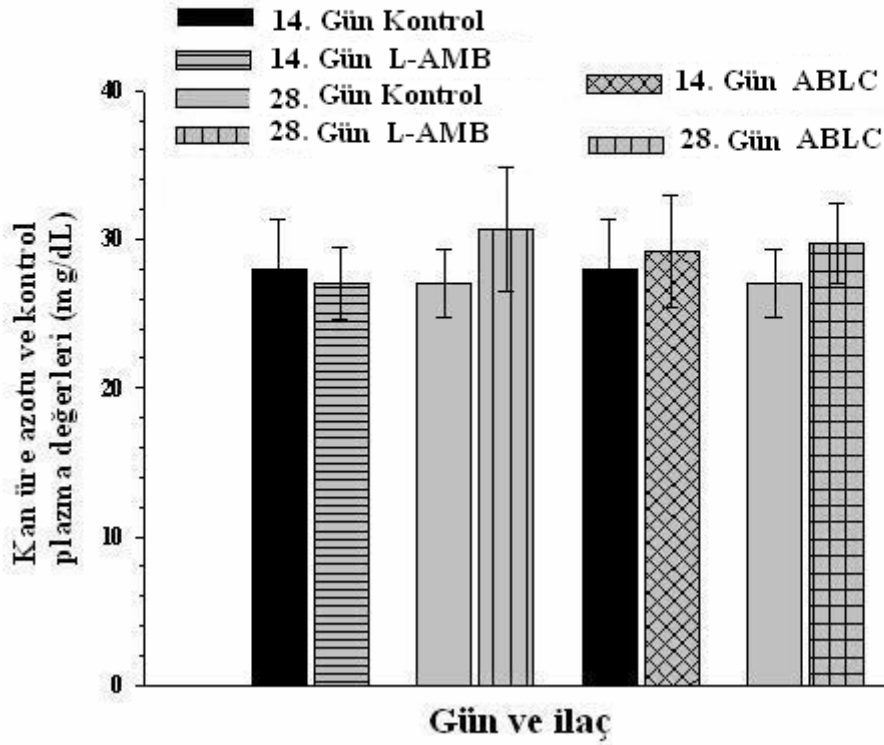
4.1.9. Plazma Elektrolit Değerleri

Plazma kreatin seviyesi, böbrek hasarlarının değerlendirilmesinde bir ölçüttür. Bütün gruplardan elde edilen plazma kreatin değerleri şekil 10’da gösterilmiştir. Plazma kreatin değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılmasında 14 ve 28 günlük kontrol grupların her ikisinde $0,4 \pm 0,1$, Lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda; $0,4 \pm 0,0$ ve amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan 14 ve 28 günlük grupların her ikisinde de $0,4 \pm 0,1$ olarak bulundu. 14 ve 28 günlük kontrol grupları deney grupları ile karşılaştırıldığında plazma kreatin değerlerinde anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p > 0,05$).



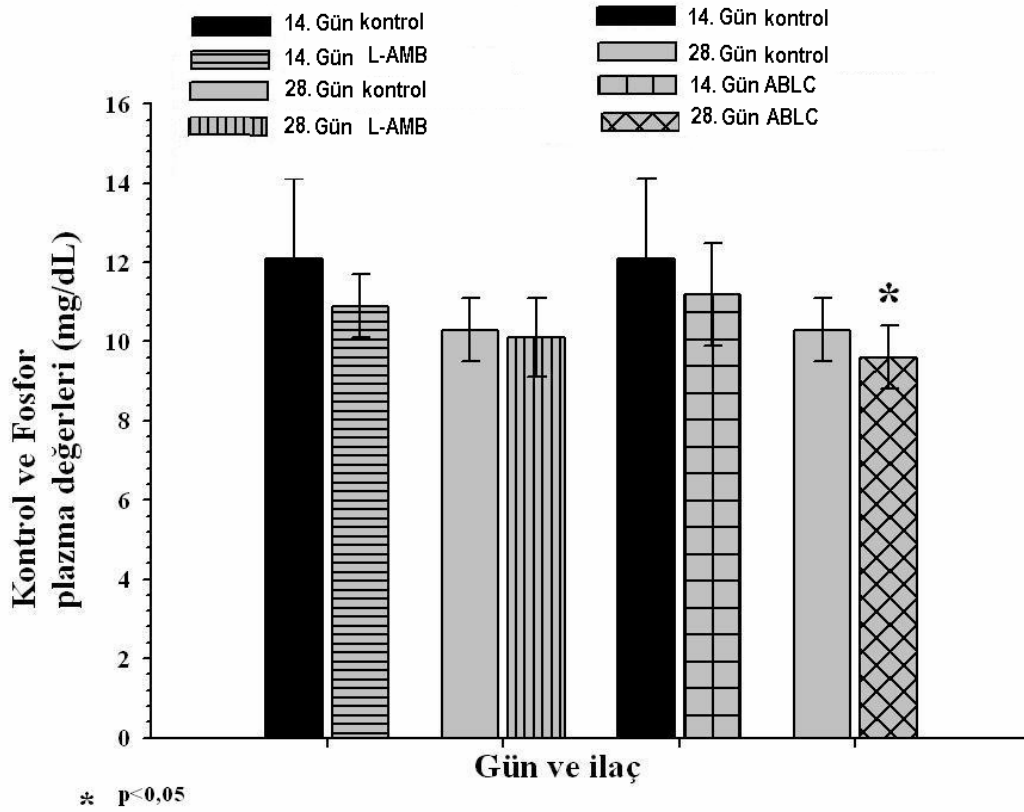
Şekil 10. Tüm gruplardan elde edilen plazma kreatin düzeyleri.

Plazma kan üre azotu seviyeleri şekil 11’de gösterilmiştir. Ortalama plazma fosfor değerleri dikkate alındığında 14 ve 28 günlük kontrol gruplarında; $28,0 \pm 3,3$ ve $30,7 \pm 4,2$, lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda; $27,0 \pm 2,4$ ve $30,6 \pm 4,1$ olarak bulunurken amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda ise $29,2 \pm 3,8$ ve $29,7 \pm 2,7$ olarak bulunmuştur. 14 ve 28 günlük kontrol grupları, deney grupları ile karşılaştırıldığında plazma kreatin değerlerinde anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p > 0,05$).



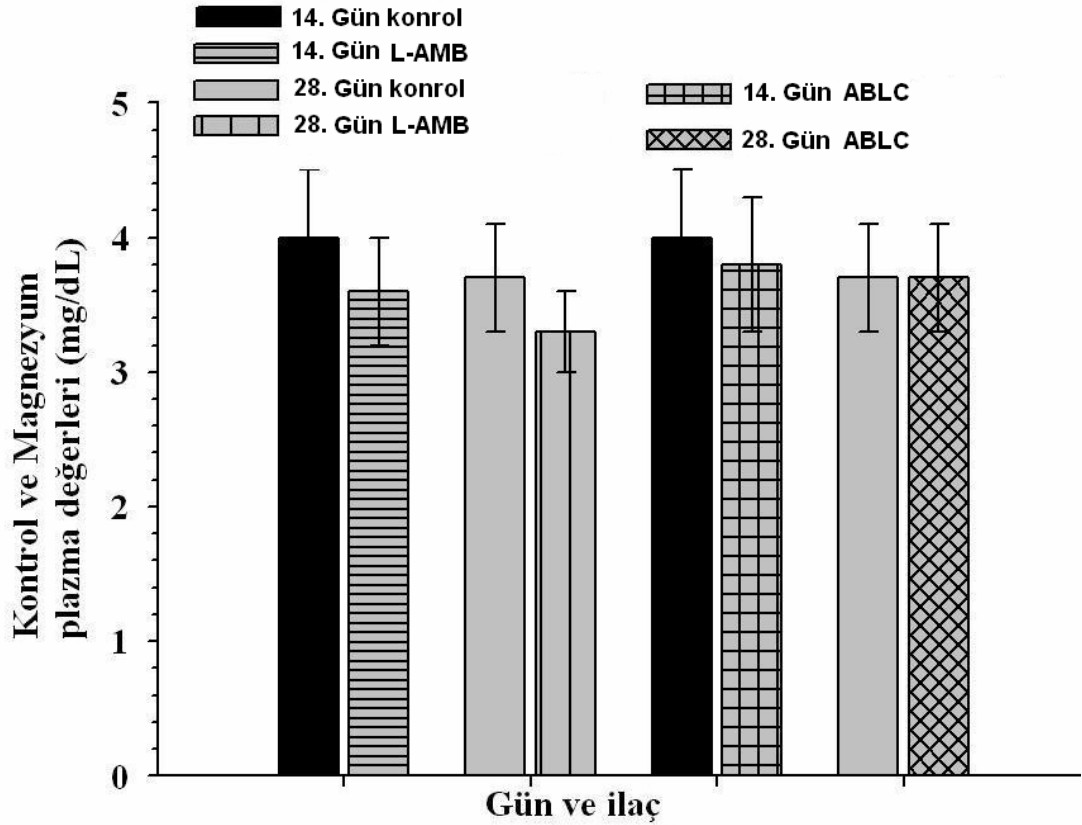
Şekil 11. Tüm gruplardan elde edilen plazma kan üre azotu düzeyleri.

Gruplardan elde edilen plazma fosfor değerleri şekil 12’de verilmiştir. Ortalama plazma fosfor değerleri dikkate alındığında 14 ve 28 günlük kontrol gruplarında; $12,1 \pm 2,0$ ve $10,3 \pm 0,8$, Lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda; $10,9 \pm 0,8$ ve $10,1 \pm 1,0$ ve amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda ise $11,2 \pm 1,3$ ve $9,6 \pm 0,8$ olarak bulundu. 14 ve 28 günlük kontrol grupları deney grupları ile karşılaştırıldığında plazma fosfor değerlerinde anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p > 0,05$). Buna karşın 14 ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan grupların karşılaştırılmasında 28. günde plazma fosfor değerinin anlamlı olarak azaldığı dikkati çekti ($p < 0,05$).



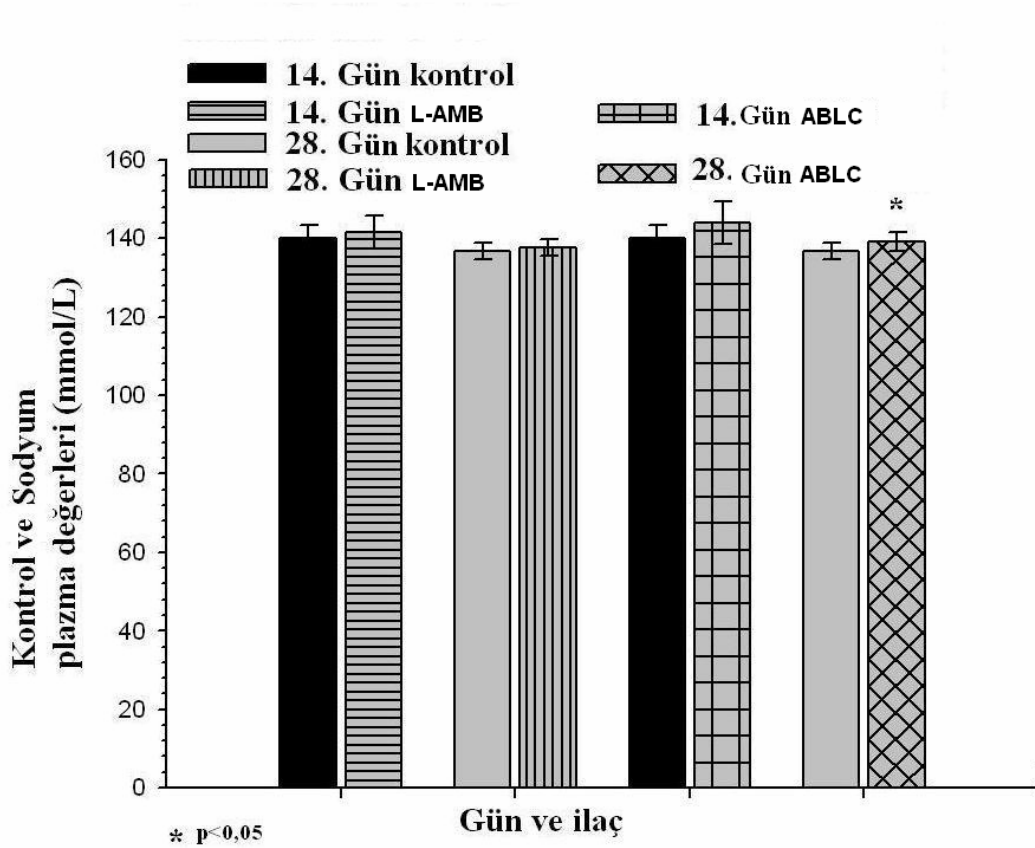
Şekil 12. Tüm gruplardan elde edilen plazma fosfor düzeyleri.

Gruplar arasında plazma magnezyum değerleri şekil 13'te verilmiştir. Ortalama plazma magnezyum değerleri dikkate alındığında 14 ve 28 günlük kontrol gruplarında sırasıyla; $4,0 \pm 0,5$ ve $3,7 \pm 0,4$, lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda; $3,6 \pm 0,4$ ve $3,3 \pm 0,3$ olarak bulunurken amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda ise $3,8 \pm 0,5$ ve $3,7 \pm 0,4$ olarak bulunmuştur. Kontrol grupları; 14 ve 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) grupları ile karşılaştırıldığında 14 ve 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) gruplarında magnezyum seviyeleri düşük olmakla birlikte gruplar arasındaki fark anlamlı değildi ($p > 0,05$).



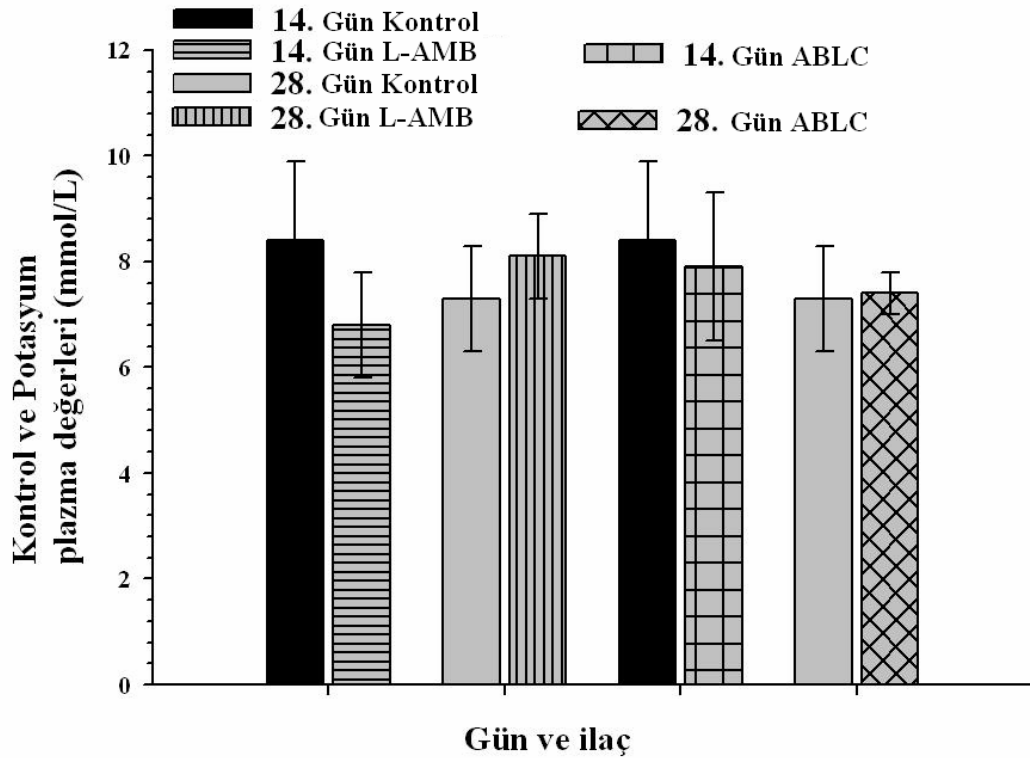
Şekil 13. Tüm gruplardan elde edilen plazma magnezyum düzeyleri.

Sodyum plazma değerleri şekil 14'te gösterilmiştir. Sodyum plazma değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında; 14 ve 28 günlük kontrol gruplarında; $140,0 \pm 3,4$ ve $136,8 \pm 2,2$, Lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda; $141,6 \pm 4,2$ ve $137,8 \pm 2,1$ ve amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda ise $144 \pm 5,4$ ve $139,2 \pm 2,4$ olduğu bulundu. 14 ve 28 günlük kontrol grupları deney grupları ile karşılaştırıldığında sodyum plazma değerlerinde anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p > 0,05$). Buna karşın 14 ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan grupların karşılaştırılmasında 28. günde sodyum değerinin anlamlı olarak azaldığı dikkati çekti ($p < 0,05$).



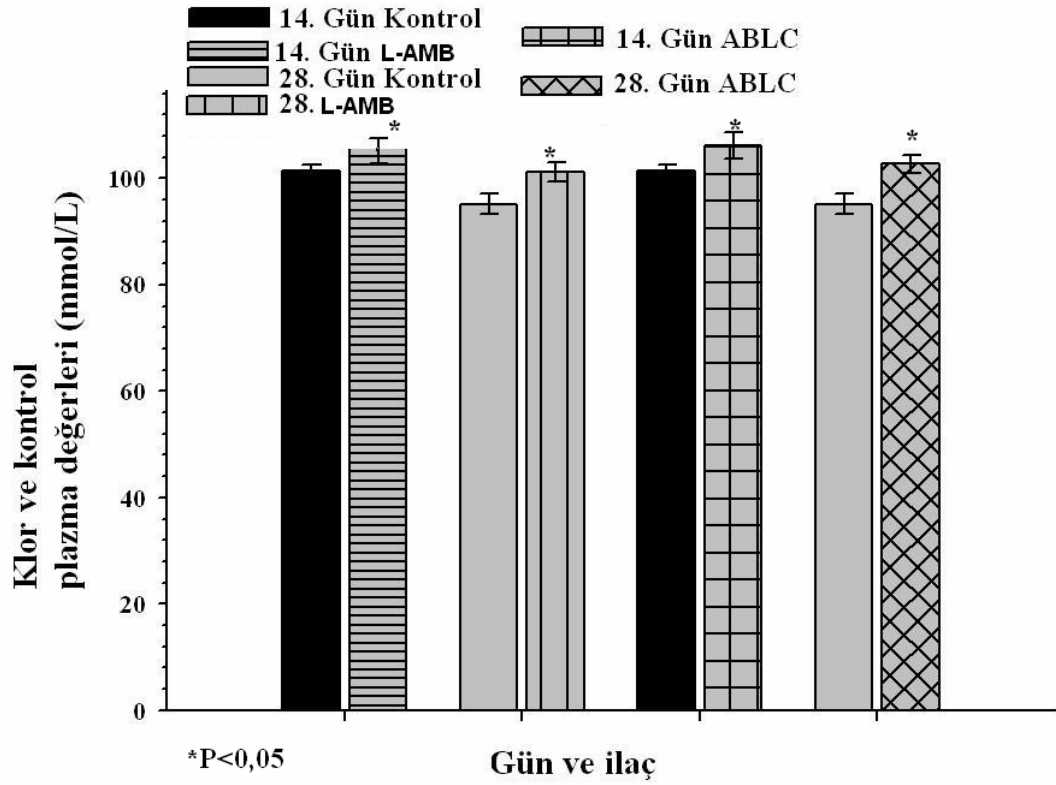
Şekil 14. Tüm gruplardan elde edilen plazma sodyum düzeyleri.

Plazma potasyum değerlerinin ortalamaları şekil 15'te gösterilmiştir. Plazma potasyum değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında 14 ve 28 günlük kontrol gruplarında; $8,4 \pm 1,5$ ve $7,3 \pm 1,0$, lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda; $6,8 \pm 1,0$ ve $8,1 \pm 0,8$ olarak bulunurken amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan 14 ve 28 günlük gruplarda ise $7,9 \pm 1,4$ ve $7,4 \pm 0,4$ olarak bulundu. 14 ve 28 günlük kontrol grupları ile 14 ve 28 günlük lipozomal amfoterisin B grupları karşılaştırıldığında; lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulanan gruplarda plazma potasyum değerleri 14 günlük uygulamalarda düşük, 28 günlük uygulamalarda yüksek olduğu bulunurken gruplar arasındaki fark anlamlı değildi ($p > 0,05$). Aynı şekilde 14 ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) grupları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında amfoterisin B lipid kompleksi uygulanan gruplarda plazma potasyum değerleri 14 günlük uygulamalarda düşük, 28 günlük uygulamalarda yüksek olduğu bulunurken gruplar arasındaki fark anlamlı değildi ($p > 0,05$).



Şekil 15. Tüm gruplardan elde edilen plazma potasyum düzeyleri

Klor, sodyumla birlikte vücut sıvılarının ozmolaritesini kontrol eder. Bütün gruplardan elde edilen plazma klor seviyeleri şekil 16’da gösterilmiştir. Klor seviyesinin gruplar arasında karşılaştırılmasında; 14 ve 28 günlük kontrol gruplarında klor seviyesi sırasıyla $101,5 \pm 1,0$ ve $95,2 \pm 1,9$ iken, 14 ve 28 günlük lipozomal amfoterisin B (L-AMB) uygulanan gruplarda; $105,8 \pm 3,2$ ve $101,3 \pm 1,9$, 14 ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleks (ABLC) uygulanan gruplarda; $106,2 \pm 4,6$ ve $102,7 \pm 1,6$ olduğu belirlendi. 14 ve 28 günlük kontrol grupları deney grupları ile karşılaştırıldığında klor seviyesinin anlamlı olarak arttığı bulundu ($p < 0,05$). Her iki ilacın birbiri ile karşılaştırılmasında ise, klor değerleri benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p > 0,05$).



Şekil 16. Tüm gruplardan elde edilen plazma klor düzeyleri.

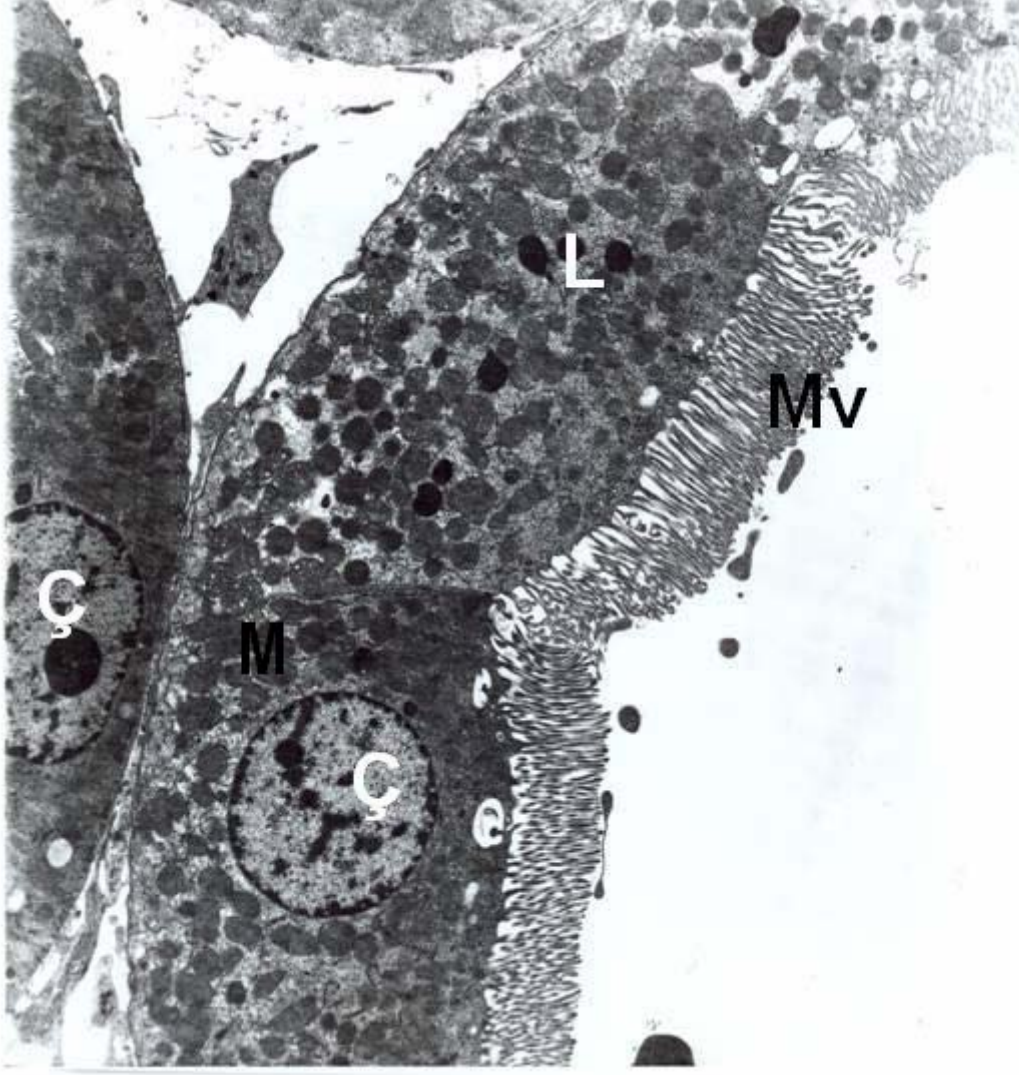
4.2. ELEKTRON MİKROSKOBİK BULGULAR

Kontrol ve deney gruplarına ait böbrek dokuları elektron mikroskopunda incelenerek, proksimal tübül, distal tübül ve renal cisimcik hücreleri değerlendirme kapsamına alındı.

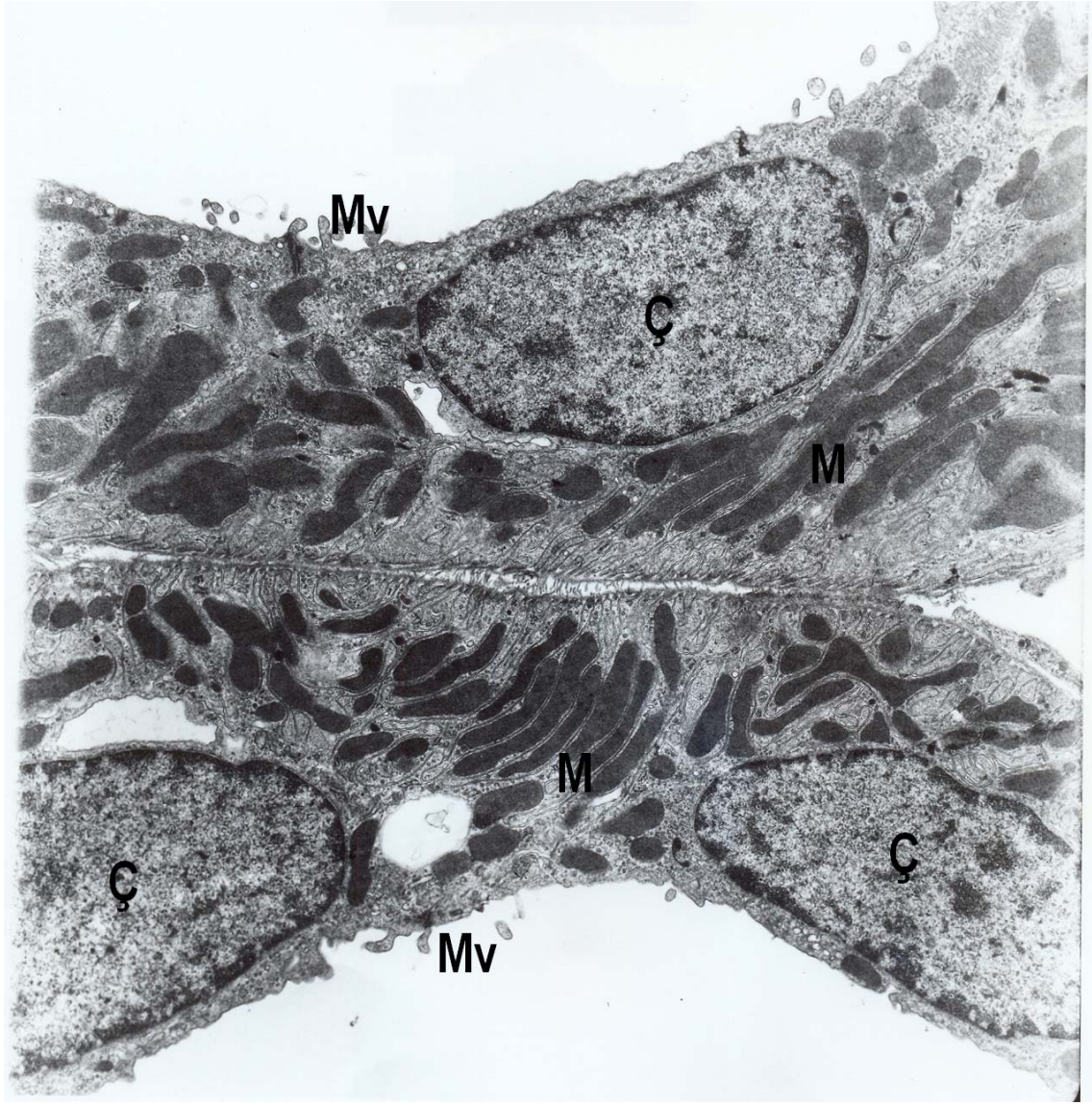
4.2.1. Kontrol grubu–14 gün:

14 gün süreyle serum fizyolojik uygulanan kontrol grubuna ait biyopsi örneklerinin incelemesinde, bir bazal lamina üzerinde yerleşim gösteren proksimal tübül epitel hücrelerinin merkezi yerleşimli bir çekirdeğe ve apikalinde fırçamsı kenar oluşturan çok sayıda mikrovilluslara sahip oldukları görülmektedir. Hücrelerin sitoplazmaları mitokondriyonlardan zengin olup, bunların aralarında küçük lizozomlar ve apikal yerleşimli küçük vakuolar yapılar bulunmaktaydı (Şekil17).

Apikalinde az sayıda kısa mikrovilluslar bulunan distal tübül epitel hücreleri ince bir bazal lamina ile sarılmış olup çekirdek ve sitoplazmik organelleri normal yapılarını korumaktaydılar. Renal cisimcikler içerisinde bulunan visseral epitel hücreleri podositler, glomerular kapiller endotelial hücreleri ve bazal laminanın normal histolojik özelliklere sahip oldukları gözlenmekteydi (Şekil18).



Şekil 17: Grup I. Normal proksimal kıvrıntılı tübül. Mikrovilluslar (Mv), çekirdek (Ç), mitokondriyonlar (M), lizozomlar (L). X6300.



Şekil 18. Normal distal kıvrıntılı tübül, Çekirdek (Ç), mitokondriyonlar (M), az sayıda kısa mikrovilluslar (Mv).X 10100

4.2.2. Lipozomal Amfoterisin B, L-AMB (Ambisome) grubu–14. gün:

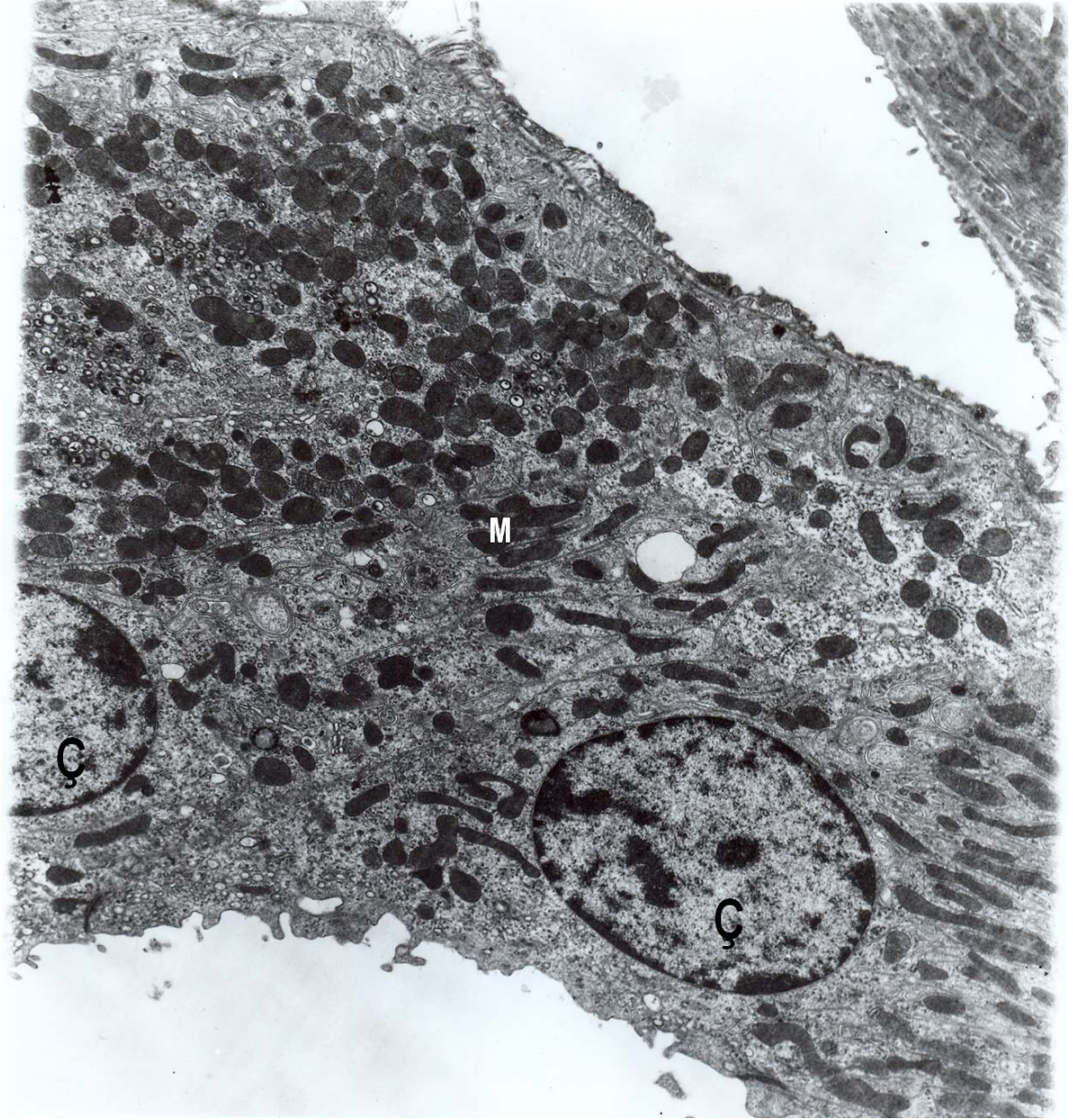
14 gün süreyle lipozomal Amfoterisin B (L-AMB) uygulanan gruba ait sıçanlardan alınan böbrek biyopsi materyallerinin elektron mikroskopik incelemesinde, proksimal tübül hücrelerinin genellikle normal yapılarını korudukları izlenmekteydi. Hücrelerin çekirdekleri düzgün sınırlı olup normal kromatin içeriğine sahiplerdi. Pleomorfizm gösteren mitokondriyonlardan zengin hücrelerden lümene uzanan mikrovilluslar ve hücrelerin altında uzanan bazal laminanın normal yapıda oldukları görülmekteydi. Bazı proksimal tübüllerde ise hücrelerin bazal katlantılarının arttığı dikkati çekmekteydi. Bu hücrelerin apikal sitoplazmalarında değişik büyüklükte lizozomlar ve küçük vakuoller izlenmekteydi (Şekil 19) .

Bu gruba ait distal tübüllerde normal kromatin düzenlenmesine sahip düzgün sınırlı hücre çekirdekleri ve normal histolojik özelliklere sahip hücre organelleri, apikalde az sayıda mikrovillus yapıları ve hücreleri alttan çevreleyen bazal lamina izlenmekteydi (Şekil 20).

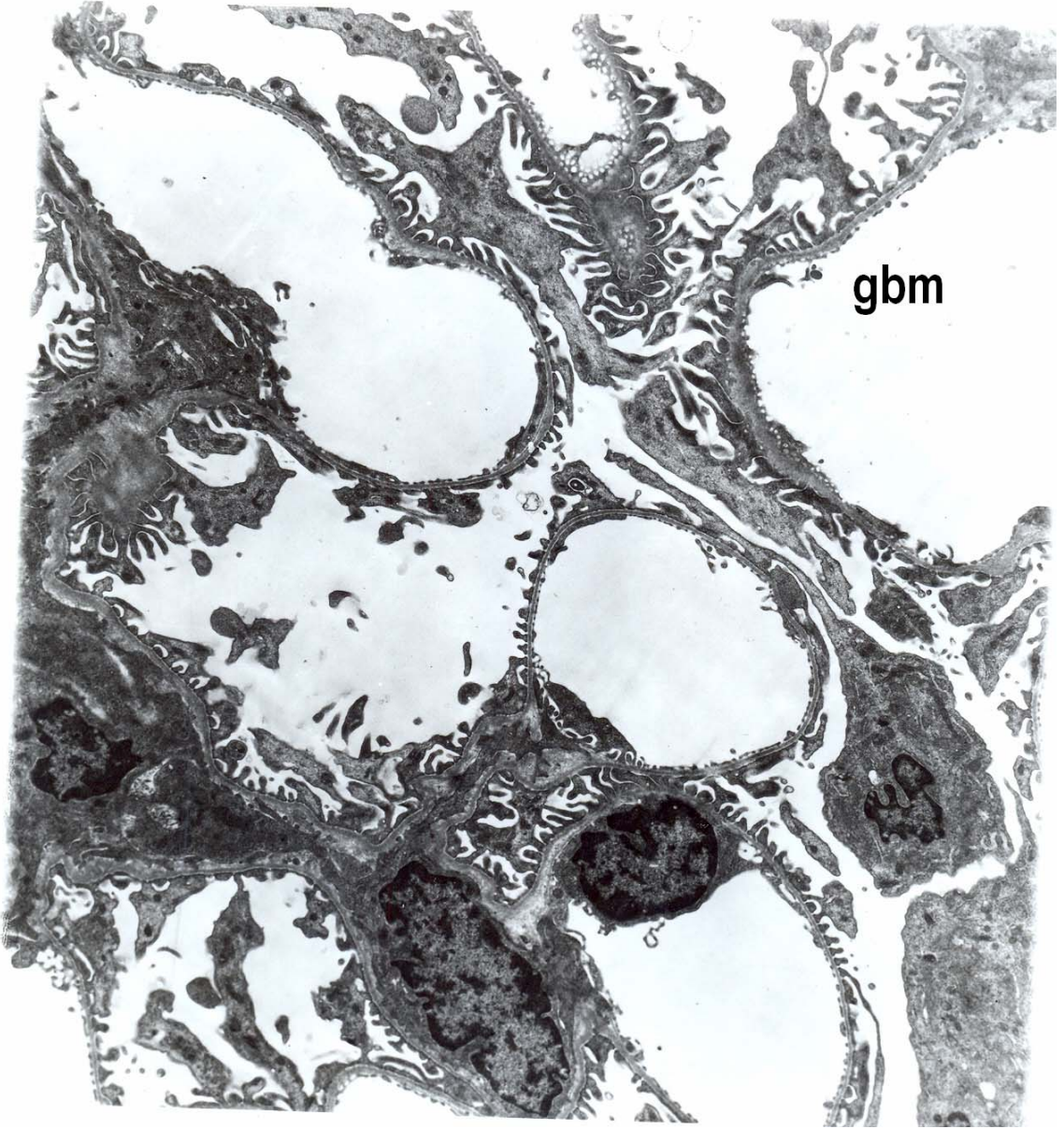
Renal cisimcik içerisinde yer alan podositler, endotelial hücreler ve mezangial hücrelerde normal yapılarını korumaktaydılar. Glomerular kapiller endotel hücreleri ile podositler arasında uzanan bazal lamina normal kalınlıktaydı (Şekil 21).



Şekil 19. Proksimal kıvrıntılı tübül. Normal yapısını koruyan mitokondriyonlar (M), değişik büyüklükte lizozomlar (L), küçük vakuoller (V), ince bazal lamina (Bl). X 6300.



Şekil 20. Distal kıvrıntılı tübül. Hücrelerin çekirdekleri (Ç), sitoplazmalarında mitokondriyonlar (M) normal yapıda izlenmektedir. X 8100.



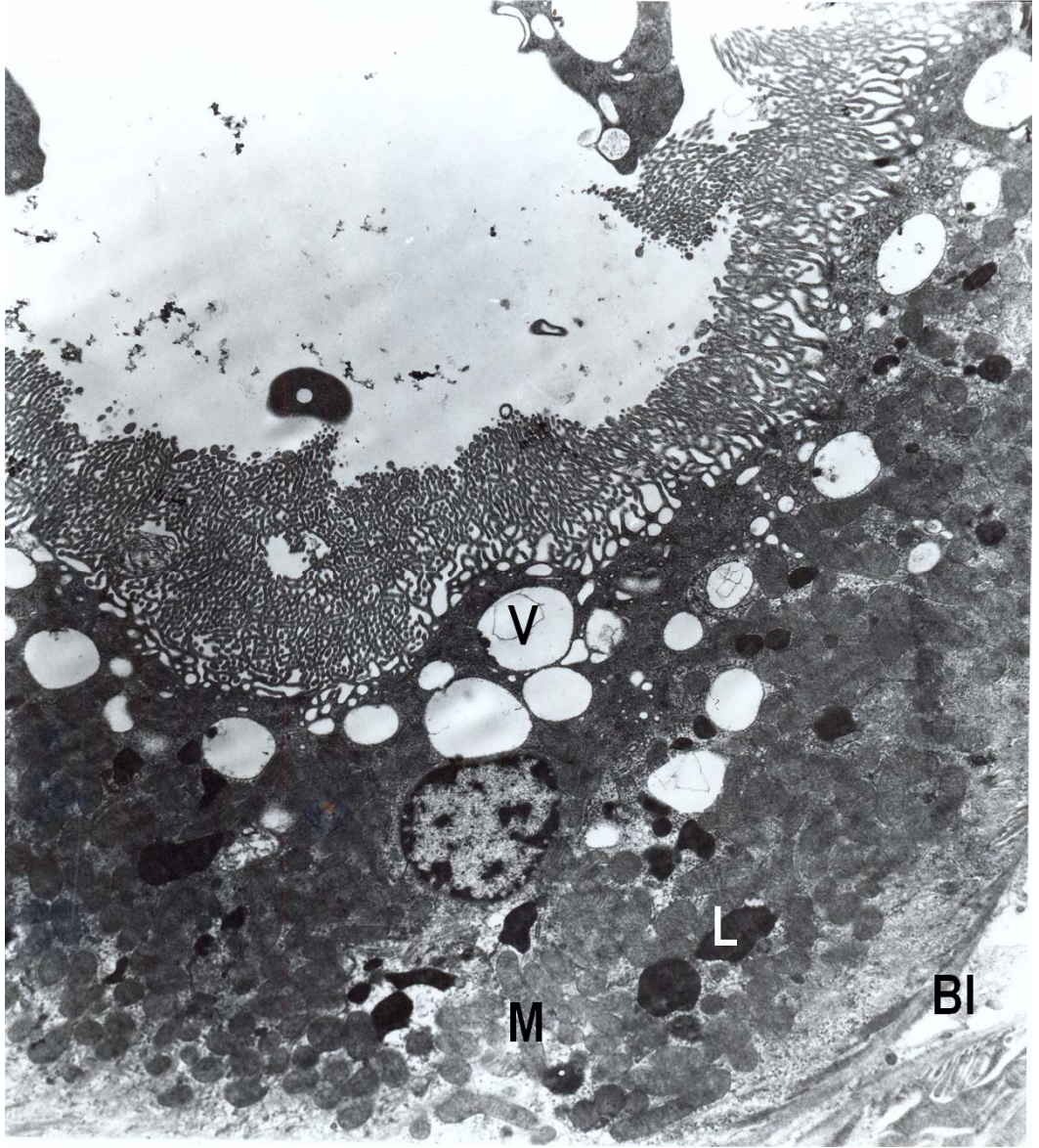
Şekil 21. Renal cisimcik kapsamındaki hücreler ve glomerular bazal membran (gbm) normal histolojik özelliklere sahiplerdir. X 6300.

4.2.3. Amfoterisin B-lipid kompleks, ABLC (Abelcet) grubu–14 gün:

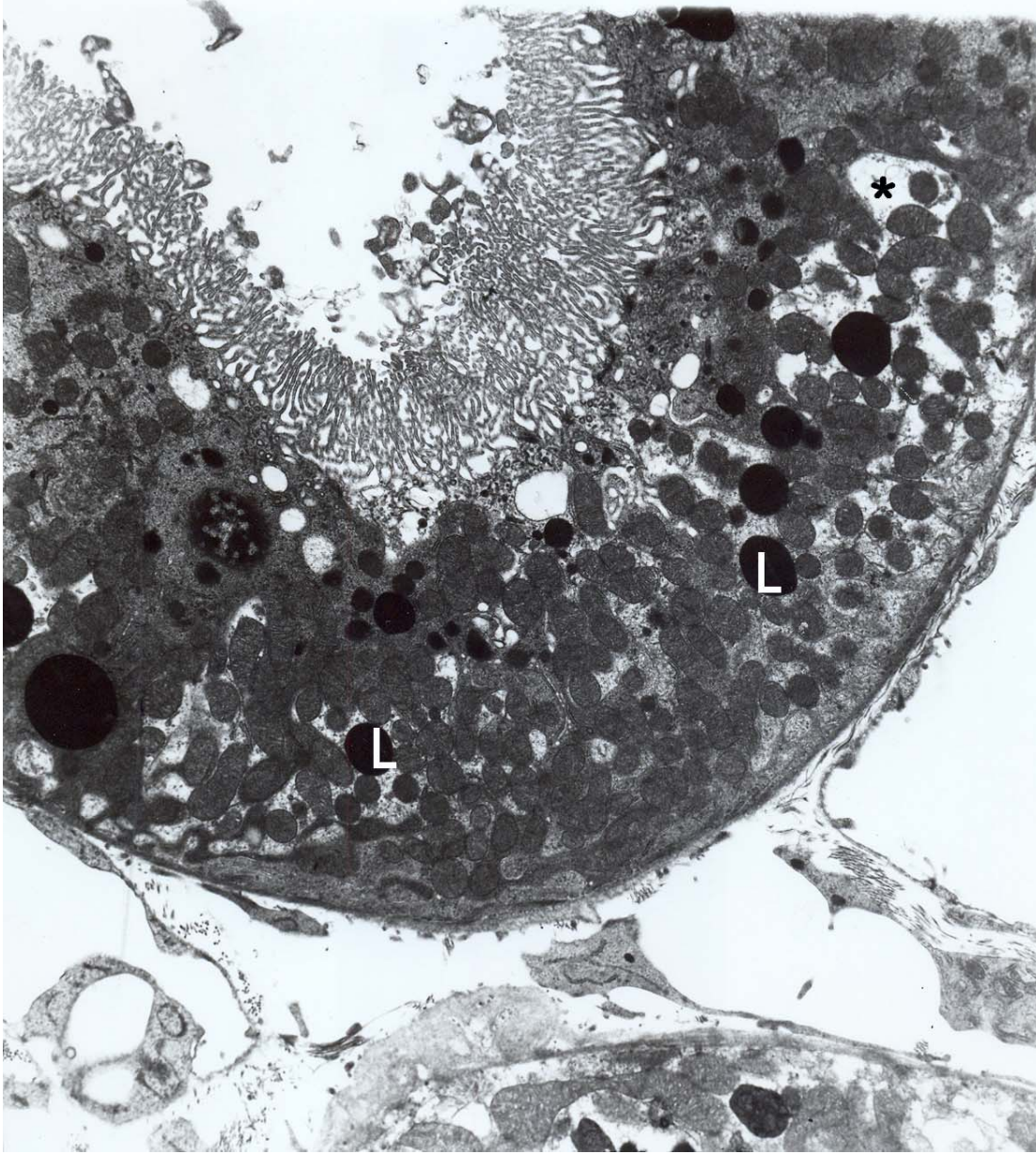
14 gün süreyle Amfoterisin B-lipid kompleks (Abelcet) uygulanan gruptan elde edilen böbrek biyopsi materyallerine ait mikrograflarda proksimal tübül epitel hücrelerinin genellikle normal histolojik yapıda oldukları izlenmekteydi. Düzgün sınırlara ve normal kromatin içeriğine sahip hücre çekirdekleri, pleomorfizm gösteren mitokondriyonlar, çok sayıda lizozomlar ve apikalde yoğunlaşmış değişik büyüklükte vakuolar yapılar gözlenmekteydi. Hücrelerden lümene doğru, fırçası kenar oluşturan çok sayıda mikrovilluslar uzanmakta olup bunların altındaki apikal sitoplazmada pinositotik vesiküller bulunmaktaydı. Tübüller ince bir bazal lamina ile çevrelenmişlerdi. Bazı hücrelerde ise vakuolar yapılarda artma ve sitoplazmada yer yer litik alanların bulunduğu dikkati çekmekteydi (Şekil 22, 23).

Distal tübüllerin epitel hücrelerinde çekirdek ve sitoplazmik organellerin normal yapıda oldukları izlenmekteydi. İnce bir bazal lamina ile sarılmış tübül hücrelerinin apikalinde az sayıda kısa mikrovillus yapıları bulunmaktaydı. Hücreler mitokondriyonlardan zengin olup bunların aralarında lizozomal yapılar görülmekteydi.

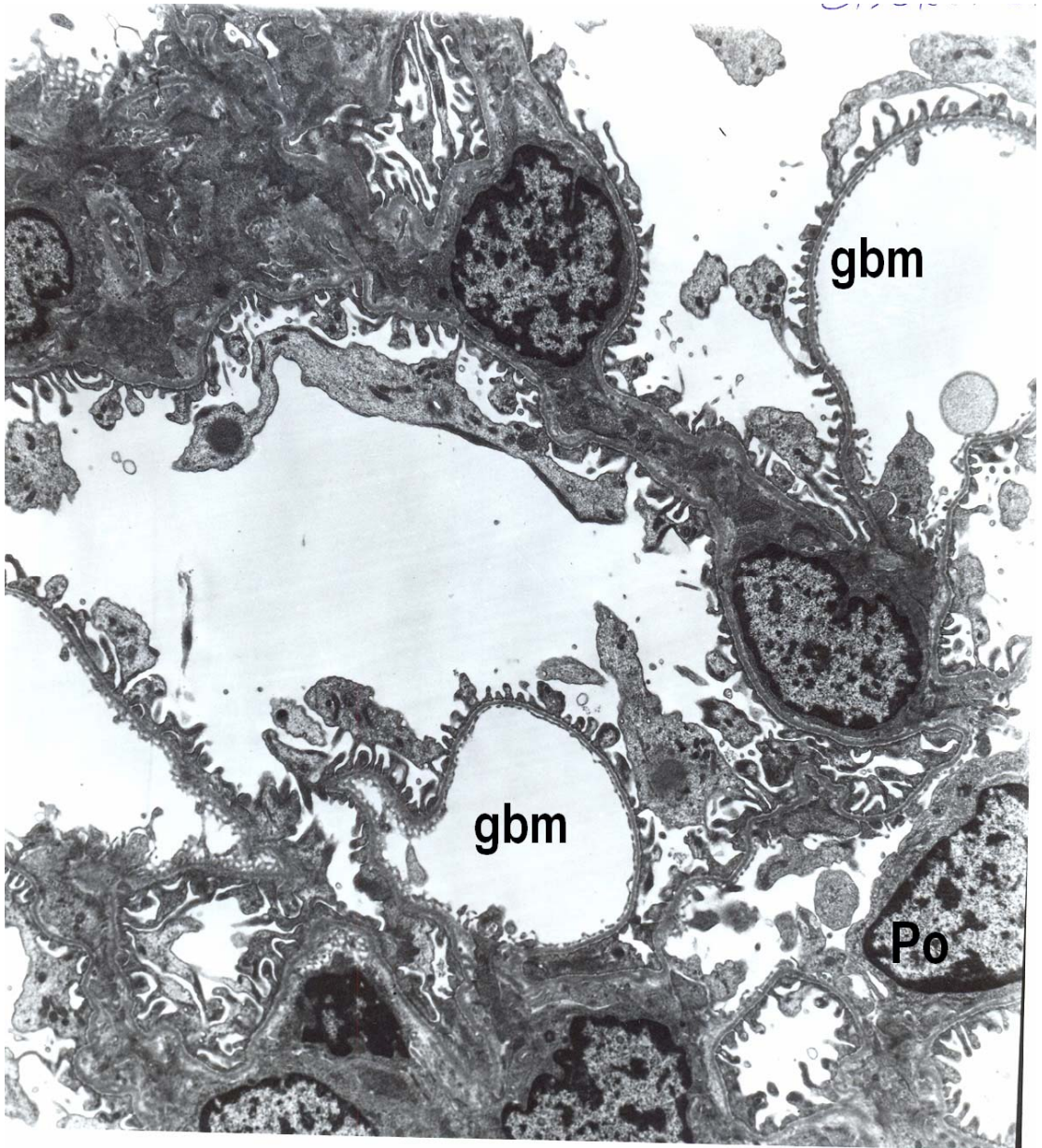
Bowman kapsülünün visseral yaprağını oluşturan podositler, podositlerin pediselleri, glomerular kapiller endotelyal hücreleri, bunların arasında uzanan bazal lamina ve mezangial hücreler normal yapılarını korumaktaydılar (Resim 24).



Şekil 22. Proksimal kıvrıntılı tübül. Hücrelerin apikalinde çok sayıda vakuolar yapılar (V) bulunmaktadır. Çekirdek (Ç), mitokondriyonlar (M), lizozomlar (L), ince bazal lamina (Bl).X 6300.



Şekil 23. Proksimal kıvrıntılı tübül. Elektron dens görünümlü hücrelerde geniş çaplı lizozomal yapılar (L) ve litik alanlar (*) dikkati çekmektedir. X 6300.



Şekil 24. Podositler (Po), glomerular bazal membran (gbm) normal yapıdadır. X 6300.

4.2.4. Kontrol grubu–28 gün:

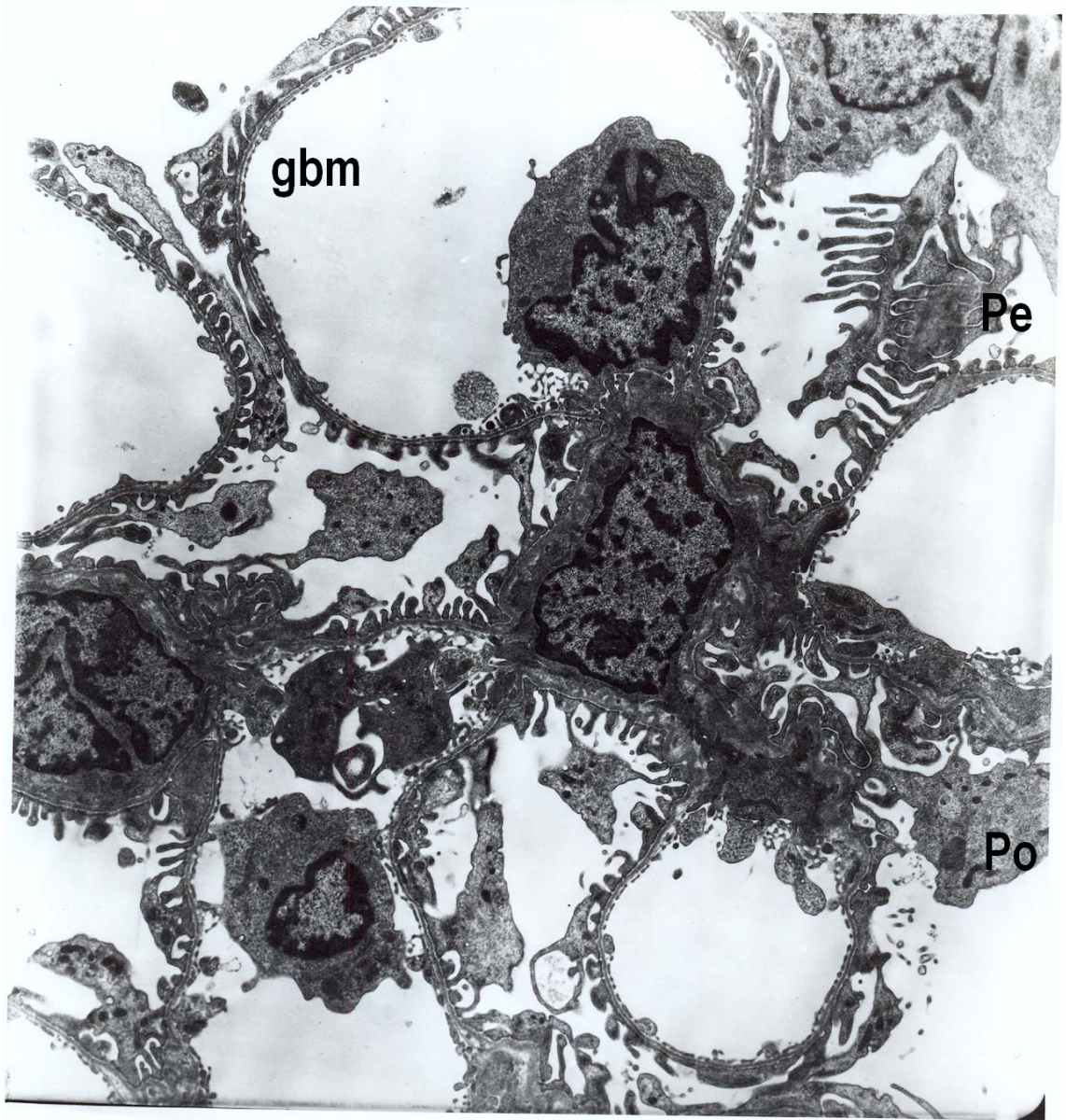
28 gün serum fizyolojik uygulanan kontrol grubu proksimal tübül epitel hücrelerinin merkezi yerleşimli yuvarlak şekilli bir çekirdek ve çok sayıda mitokondriyonlara sahip oldukları görülmektedir. Mitokondriyonlar arasında yerleşim gösteren lizozomlar, apikalde pinositotik vesiküller ve vakuolar yapılar izlenmektedir. Tübüller dıştan ince bir bazal lamina ile çevrelenmişlerdir.

Distal tübül epitel hücreleri de merkezi yerleşimli, kromatin dağılımı normal yuvarlak bir çekirdeğe sahip olup sitoplazmalarında çok sayıda, değişik şekillerde mitokondriyonlar, lizozomlar ve apikalde kısa mikrovillus yapıları izlenmektedir (Şekil 25).

Renal cisimcikler içerisinde, podositler, endotelyal ve mezangial hücreler ve pedisellerin altında uzanan bazal lamina normal yapıda gözlenmektedir (Şekil 26).



Şekil 25. Distal kıvrıntılı tübül. Normal yapıdaki epitelyum hücrelerinin çekirdekleri (Ç), pleomorfizm gösteren mitokondriyonlar (M), mikrovilluslar (Mv). X 10100.



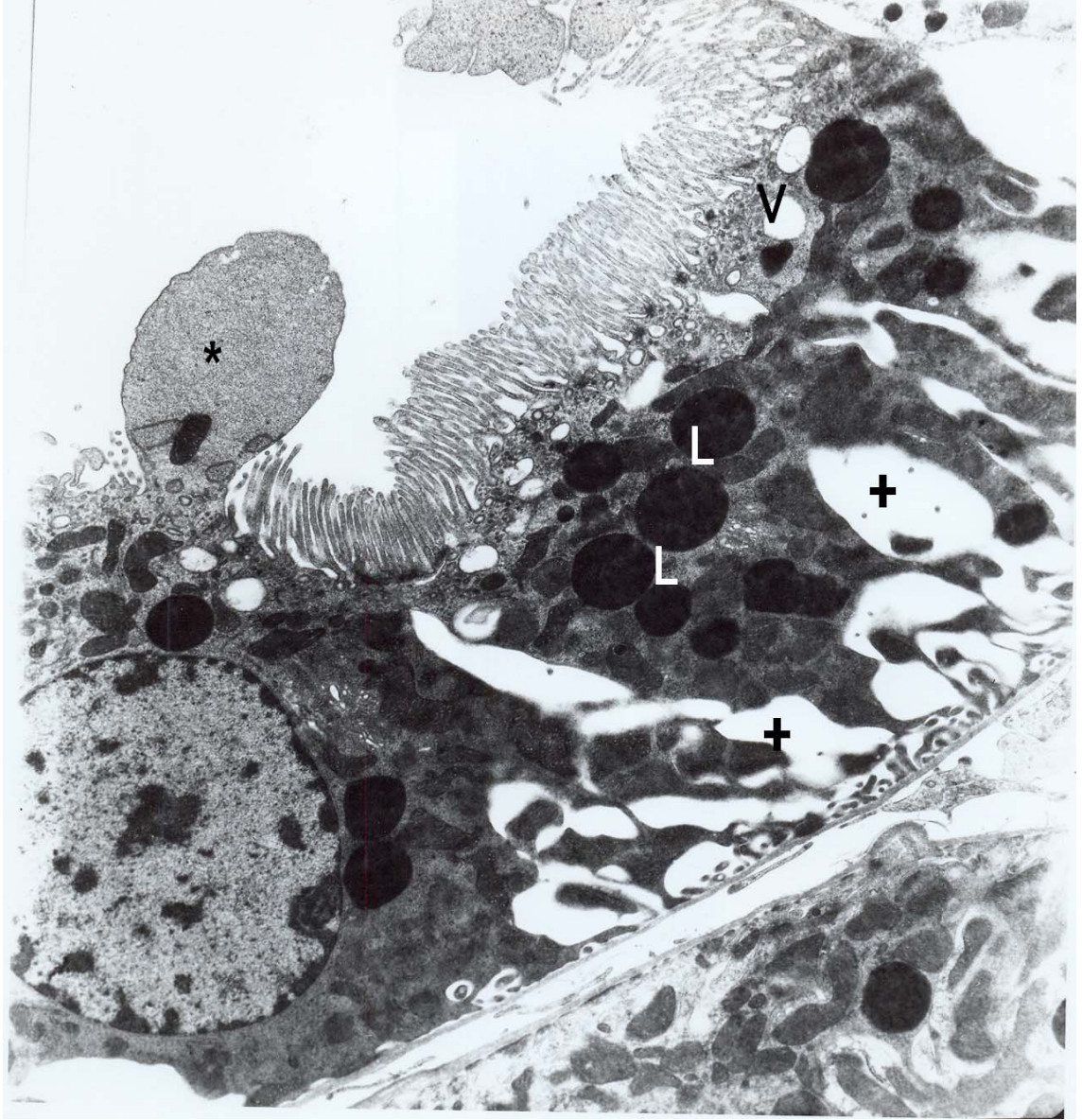
Şekil 26. Normal renal cisimcik. Podositler (Po), pediseller (Pe), glomerular bazal membran (gbm).X 8100.

4.2.5. Lipozomal Amfoterisin B, L-AMB (Ambisome) grubu–28. gün:

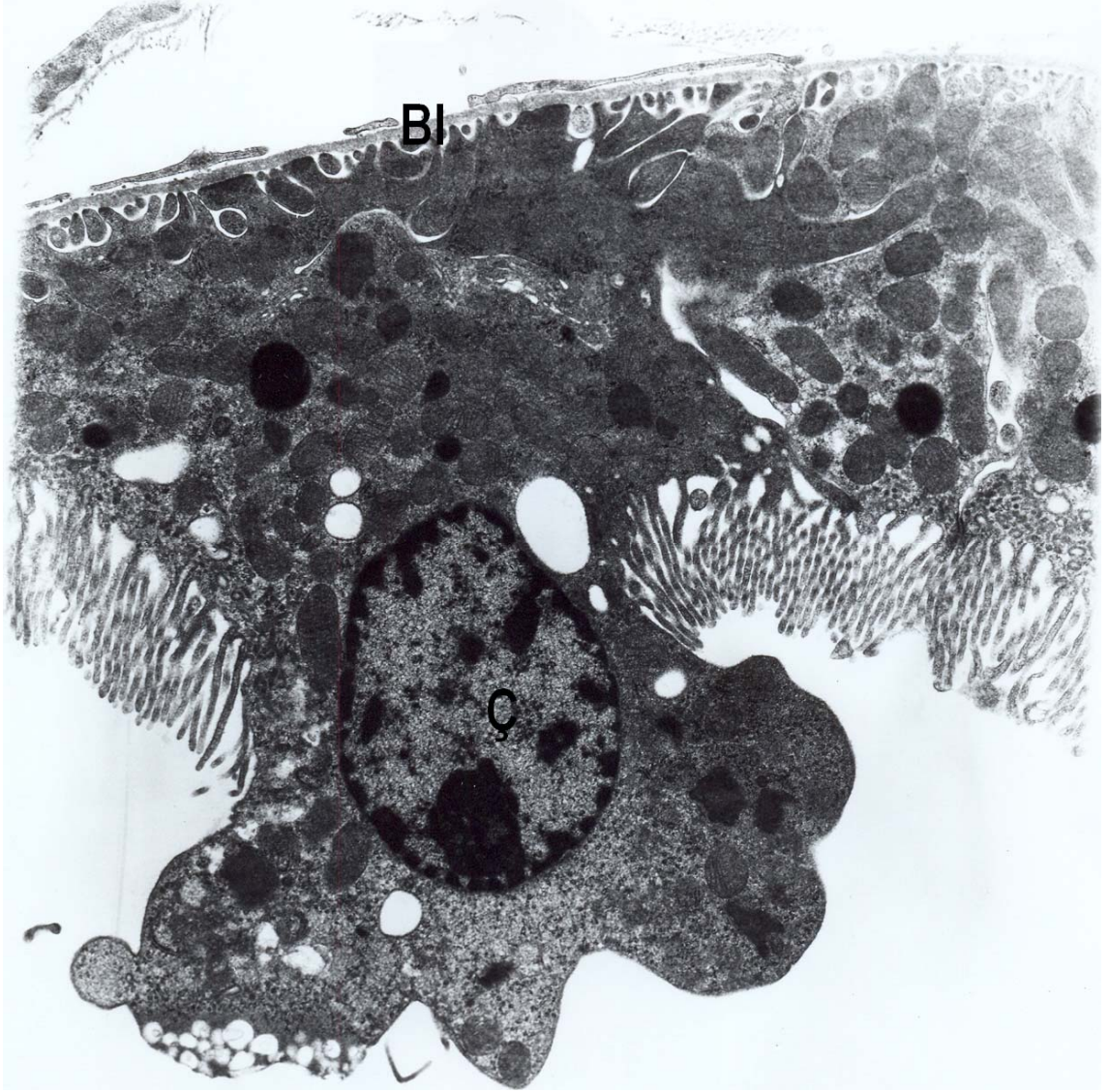
28 gün süreyle ambizom uygulanan sıçanlardan elde edilen kesitlerin incelemesinde, proksimal tübül hücrelerinde lizozomlarda ve apikal sitoplazmada yerleşim gösteren vakuolar yapılarda artış olduğu dikkati çekmekteydi. Bu hücrelerde derin bazal katlantılar gözlenmekte olup bazal laminaları normal kalınlıktaydı. Bazal katlantıların üst kısımlarda birleşerek sitoplazmada geniş boşluklar meydana getirdikleri izlenmekteydi. Bazı hücrelerin mikrovilluslar arasından lümene doğru çıkıntılar yaptıkları veya apikal sitoplazmalarının lümene doğru balon şeklinde şişkinlikler oluşturdukları görülmekteydi. Bu hücrelerde lizozomal yapılarda artış dikkati çekmekteydi (Şekil 27, 28).

Benzer ultrastrüktürel değişiklikler distal tübül hücrelerinde de görülmekteydi. Bu hücrelerde derin bazal katlantıların yanı sıra çok sayıda vakuolar yapıların varlığı dikkati çekmekteydi. Membranla çevrili bu vakuolar yapılar değişik büyüklükte olup yer yer birleşerek sitoplazma içerisinde geniş boşluklar oluşturmaktaydılar. Bazı hücrelerin lümene doğru çıkıntı yaptıkları ve lümen içerisinde hücrel artıkların bulunduğu görülmekteydi (Şekil 29).

Renal cisimciklerin yapısında bir değişiklik bulunmayıp kapiller endotelial hücreleri, podositler, bazal lamina ve podositlerin bazal lamina üzerine uzanan pediselleri normal histolojik özelliklere sahipti (Şekil 30).



Şekil 27. Proksimal kıvrıntılı tübül. Lümeneye doğru şişkinleşmiş apikal sitoplazma (*), lizozomlarda artma (L), apikal sitoplazmada vakuoller (V) , derin bazal katlantılar(+).X 10100.



Şekil 28. . Proksimal kıvrıntılı tübül. Hücrenin lümene doğru çıkıntı yaptığı ve bu bölgede mikrovillusların kaybolduğu dikkati çekmektedir. Çekirdek (Ç), bazal lamina (Bl) X 12400.



Şekil 29. Distal kıvrıntılı tübül. Derin bazal katlantılar (+), birleşerek geniş boşluklar oluşturan (*) vakuoller (V), çekirdekler (Ç). X6300.



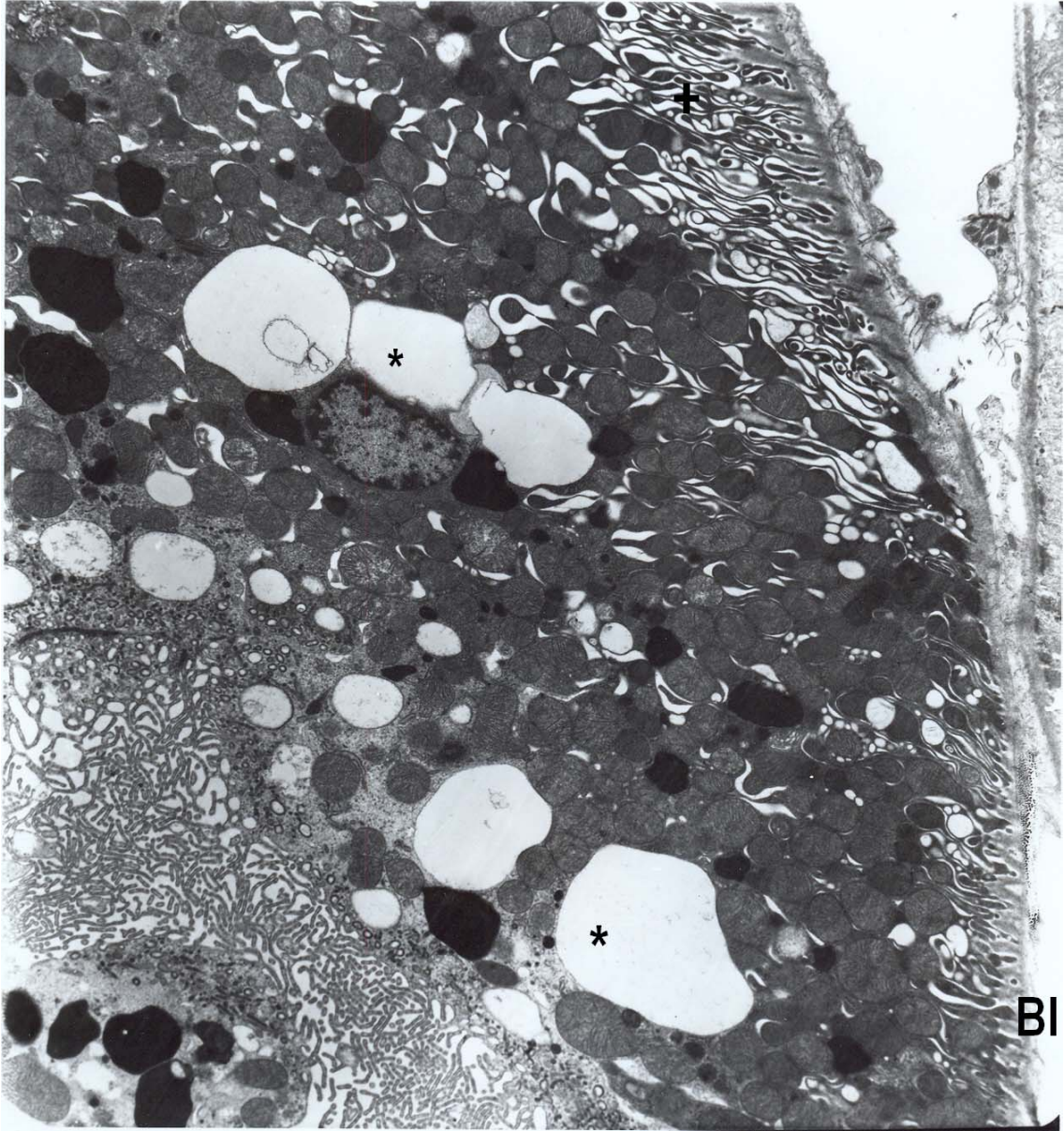
Şekil 30. Normal histolojik özelliklere sahip renal cisimcik. X 6300.

4.2.6. Amfoterisin B-lipid kompleks, ABLC (Abelcet) grubu -28 gün:

28 gün süreyle Amfoterisin B-lipid kompleks uygulanan sıçanlardan alınan doku örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde oldukça elektron dens görünümlü proksimal tübül epitel hücrelerinde vakuolar yapıların arttığı ve çaplarının genişlediği dikkati çekmekteydi. Hücreler mitokondriyonlardan ve lizozomlardan zengin olup bazal katlantıların arttığı ve altta uzanan bazal laminanın ondülalı bir görünüm kazandığı izlenmekteydi. Apikal sitoplazmadan lümene uzanan çok sayıda, uzun mikrovilluslar ve tübül lümeninde hücre artıkları görülmekteydi (Şekil 31).

Distal tübüllerde epitel hücrelerinin çekirdek ve organelleri normal histolojik özelliklere sahiptilerdi. İnce bir bazal lamina üzerinde yerleşim gösteren epitel hücreleri merkezi yerleşimli, yuvarlak şekilli bir çekirdek, çok sayıda pleomorfizm gösteren mitokondriyonlar, lizozomal yapılar içermekte olup apikalinde az sayıda kısa mikrovilluslar bulunmaktaydı (Şekil 32).

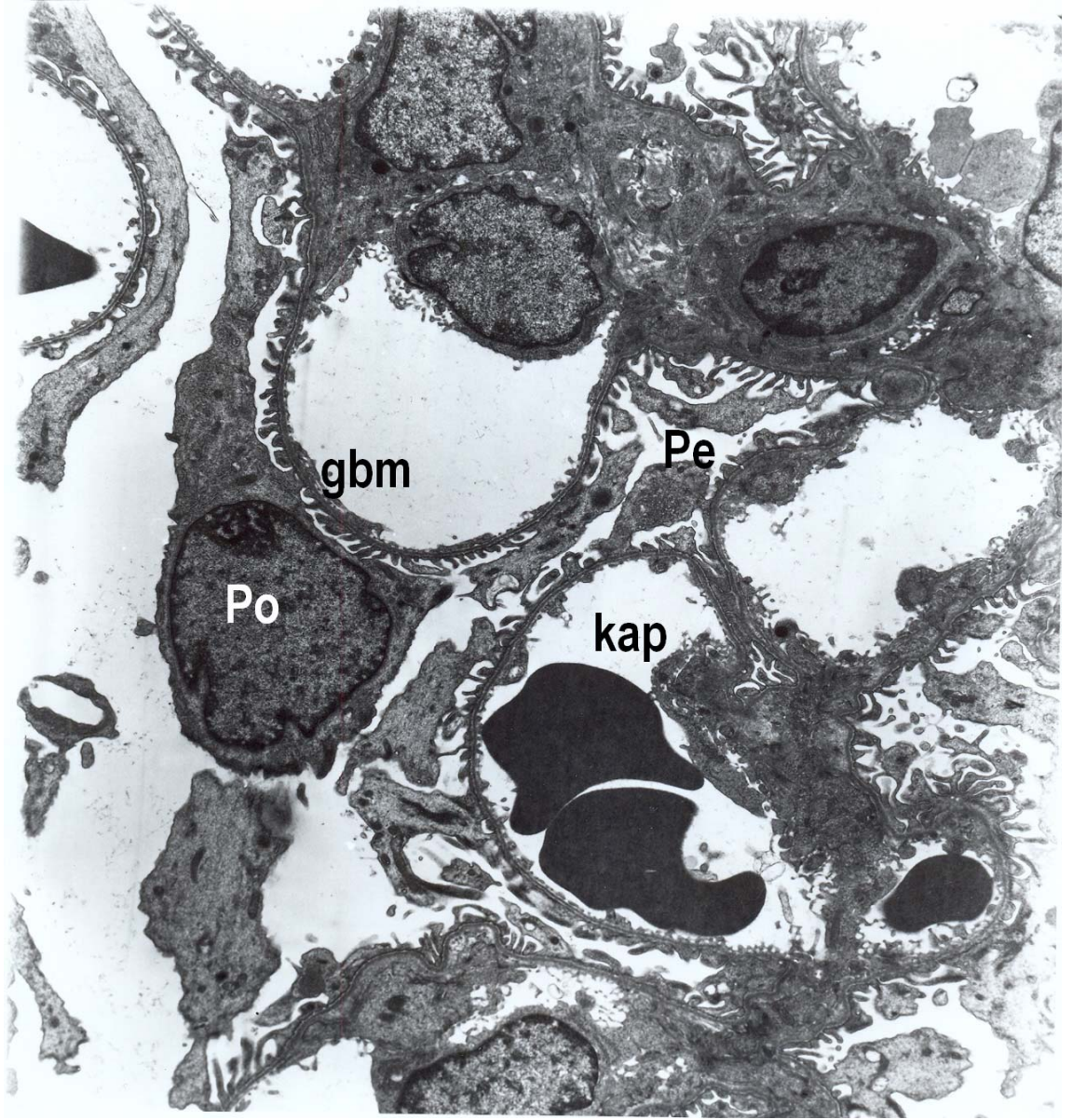
Renal cisimciklerin incelemesinde, mezangial hücreler, podositler, kapiller endotelyal hücreler ile podosit pedisellerinin altında uzanan bazal laminanın normal yapılarını korudukları gözlenmekteydi (Şekil 33).



Şekil 31. Proksimal kıvrıntılı tübül. Sayıca artmış ve yer yer genişlemiş vakuoller (*), artmış bazal katlantılar (+), ondülalı görünüm almış bazal lamina (BL). X 6300.



Şekil 32. Distal kıvrıntılı tübül. Distal tübül epitel hücreleri normal yapılarını korumaktadır. Çok sayıda mitokondriyonlar (M) , çekirdek (Ç), kısa mikrovilluslar (Mv).X 10100.



Şekil 33. Renal cisimcik. Normal yapıda podosit (Po), pediseller (pe) , glomerular kapiller (kap), glomerular bazal membran (gbm). X 6300.

5.TARTIŞMA

14 ve 28 günlük sürelerde ve eşit dozlarda (5 mg/kg) intraperitoneal olarak lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) ilaç uygulamalarına maruz kalan sıçanların, böbrek dokuları üzerindeki nefrotoksik etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, 14 günlük süre sonunda her iki ilaç uygulamasının da böbrek proksimal tübül epitel hücrelerinin sitoplazmalarında vakuoler yapılar ve lizozomlar oluşturduğu, 28 günlük sürede ise distal tübül ve özellikle proksimal tübül epitel hücrelerindeki vakuoller yapılarda ve lizozomlarda artış olduğu, hücre lümeninde de membranla çevrili ince granüler yapıda hücresel artıklar olduğu bulunmuştur.

İnsan ve mantar hücre membran sterollerine bağlanan, az miktarda suda çözülebilme özelliği olan amfoterisin B, 1950 yılından beri tercih edilen ilaç olmuştur ^{4, 27, 40, 41, 42}. Amfoterisin B geniş spektrumlu ve minimal düzeyde direnç kazanılan bir ilaç olup, ne yazık ki akut ve klinik toksik etkilerinden dolayı klinikte kullanımı sınırlandırılmaktadır ^{13, 14, 15, 16, 17}. Amfoterisin B yüksek derecede lipofilik bir ilaç olup etkin bir biçimde lipidler'le birleşmekte ve lipozom veya lipid bazlı bir şekle dönüşebilmektedir. 1980'li yıllarda bazı araştırmacılar, amfoterisin B'yi lipid taşıyıcılarla birleştirmişler ve amfoterisin B'nin etkinliğinde herhangi bir değişiklik olmadan toksik yan etkilerinin gerilediğini göstermişlerdir ¹¹. Buna göre, bu lipid formlar amfoterisin B'nin toksisitesine nazaran daha iyi bir tedavi indeksi sunmaktadırlar. Günümüzde mevcut olan üç çeşit lipid formülasyonu pek çok ülkede kullanılmaktadır ^{43, 44, 45, 46}.

Sunulan çalışmada, amfotersin B lipid formülasyonlarından lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve amfoterisin B lipid kompleksinin (ABLC) kısa ve uzun süreli eşit dozlarda uygulamaları sonucunda sıçan böbreğinde oluşturduğu nefrotoksik etkileri ultrastruktürel ve biyokimyasal analizler ile birlikte değerlendirilmiştir. Lipozomal amfoterisin B, klasik amfoterisin B ile karşılaştırıldığında geliştirilmiş koruyucu profili ile tek tabakalı (unilamellar) lipozomal bir ilaçtır ^{30, 32, 47}. Lipozomal amfoterisin B ve amfoterisin B'nin lipidler içindeki emilüsyonları böbrekler üzerinde koruyucu bir etki yapmaktadırlar. Bu etki temelde memeli hücre membranının amfoterisin B'ye olan afinitesini değiştirerek kendini göstermektedir ⁴⁸. Serum kreatin düzeylerinde belirgin bir artış klasik amfoterisin B uygulanan sıçanlarda gözlenirken,

lipozom kapsülleri ile birleştirilmiş formüllerde sıçanlara verilen amfoterisin B' de böyle bir değişiklik görülmediği bildirilmiştir ^{49, 50}.

Çalışmamızda, sıçanlarda 14 ve 28 günlük sürelerde uygulanan lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ve amfoterisin B Lipid kompleksi (ABLC) ilaç dozlarından sonra serum kreatin değerlerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Wingard ve arkadaşları ⁵¹, ABLC'in 3 ve 5 mg/kg'lık günlük dozları L-AMB ile karşılaştırarak yaptıkları bir çalışmada serum kreatin değerlerinin iki katına çıktığını göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada amfoterisin B Lipid kompleksi (ABLC)'in 3 ve 5 mg/kg'lık günlük dozları, lipozomal amfoterisin B (L-AMB) ile karşılaştırıldığında nefrotoksisitenin daha fazla olduğu bildirilmiştir ⁵¹.

Klasik Amfoterisin B böbreklerdeki kreatin kleransını azaltarak, plazma kreatin düzeyini ise artırarak nefrotoksik etkisini göstermekte ve böbrek yetersizliğine neden olmaktadır ⁵⁰. Görülen bu nefrotoksik etki, klasik amfoterisin B'nin damarlarda vazokonstriksiyon meydana getirmesi ve epitel hücre membranına doğrudan temas etmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu değişiklikler glomerular filtrasyon hızının azalmasına ve tubuler fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır ⁵². Yüksek derecede lipofilik oluşu ve pratikte çözünabilir bileşiminden dolayı amfoterisin B çoğunlukla lipidlerle veya lipozomlar içerisinde kullanılmaktadır. Bununla beraber ne yazık ki lipozomal amfoterisin B preparatları tamamen nefrotoksik etkilerden uzak değildir ⁴³. Lipozom kapsülleri ile birleştirilen amfoterisin B, glomerüler filtrasyon ve tübüler hücre membranını toksik etkilerden korumaktadır. Fakat ne yazık ki N-asetil-b-Dglukosaminidaz enzimlerinin üriner yoldan atılımını da artırmaktadırlar. Elde edilen bulgulara göre lipozomlar, amfoterisin B ile lizozomlar arasındaki ilişkiyi artırarak hücre harabiyetlerindeki mekanizmaya karşı öncülük ettikleri bildirilmiştir ⁴⁹.

Klasik amfoterisin B uygulanarak yapılan pek çok insan ve hayvan deneylerinde bu ilacın nefrotoksik olduğu ve böbreklerde harabiyet meydana getirdiği bilinmektedir ^{53, 54}. Nefrotoksik etkiye sahip başka ilaçlarda olduğu gibi klasik amfoterisin B ile tedavi edilen hayvanların böbreklerindeki kan akımında azalma ve böbrek damarlarında artan bir direnç görülmektedir ^{54, 55}. Böbrekteki; sodyum, magnezyum ve potasyum gibi iyonların fazla miktardaki atılımı, glomerüler ve tübüler bir bozukluğun işareti olarak kabul edilmektedir ^{56, 57, 58}. Ayrıca renal tübülerde ki hasarlar serum klor düzeyinde azalmaya yol açan patolojik durumdur.

Çalışmamızda, 14 ve 28 günlük gruplar şeklinde lipozomal amfoterisin B lipid formülasyonu (L-AMB) uygulanması sonucunda, plazma elektrolit değerleri ortalamalarının kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum da farklı değerler göstermezken; plazma klor değerleri, 14. ve 28. günde sırasıyla $105,8 \pm 3,1$ mmol/L ve $101,3 \pm 1,8$ mmol/L değerlerinde bulunmuştur. 28. günde klor değerinde bir azalma saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$).

14 ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) gruplarının karşılaştırılmasında plazma elektrolit ortalamaları; kreatin, kan üre azotu, magnezyum, klor ve potasyum da benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p > 0,05$). Buna karşılık 14. gün plazma sodyum ve fosfor değerleri sırasıyla $144 \pm 5,4$ mmol/L ve $11,2 \pm 1,3$ mg/dL iken; 28. gün değerleri daha düşük saptanmış olup sırasıyla $139,2 \pm 2,4$ mmol/L ve $7,9 \pm 1,4$ mg/dL'dir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$). Bu değişiklikler göz önüne alındığında, amfoterisin B lipid kompleksinin uzun süreli kullanımında elektrolit dengesinin gözlenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

14 günlük lipozoamal amfoterisin B (L-AMB) ve amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) gruplarının karşılaştırılması sonucunda plazma elektrolit değerlerinin ortalamaları benzer çıkmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p > 0,05$). Aynı şekilde 28 günlük lipozoamal amfoterisin B (L-AMB) ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) grupları arasında yapılan karşılaştırmada da, her iki grup (grup 4 ve 5) arasında plazma kreatin, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum, potasyum ve klor değerleri benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p > 0,05$). Bu veriler ışığında her iki ilacında elektrolit dengesine olan etkilerinin aynı olduğunu söyleyebiliriz.

14 günlük amfotersin B lipid formülasyonu (L-AMB) ve 14 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması sonucunda plazma kreatini, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerlerinin ortalamaları benzer çıkarken; klor değerleri kontrol gruplarına göre biraz yüksek çıkmıştır. Deney grubunda klor değeri $105,8 \pm 3,2$ mmol/L, kontrol grubunda $101,5 \pm 1,0$ mmol/L olarak saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ve ($p < 0,05$).

14 günlük amfoterisin B lipid kompleksi (ABCL) ve 14 günlük kontrol gruplarının karşılaştırılması sonucunda plazma elektrolit değerlerinde anlamlı bir

değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$). Buna karşılık klor değerlerinin ortalamaları, deney ve kontrol grubunda sırasıyla $106,2\pm4,6$ mmol/L ve $101,5\pm1,0$ mmol/L olarak saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

28 günlük amfotersin B lipid formülasyonu (L-AMB) ve 28 günlük amfotersin B lipid kompleksi (ABLC) grupları, 28 günlük kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, plazma kreatini, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerlerinin ortalamaları benzer çıkarken; klor değerleri kontrol gruplarına göre farklı çıkmıştır. Lipozomal amfotersin B lipid formülasyonu (L-AMB) ve amfotersin B lipid kompleksi (ABLC) gruplarında, klor değerleri sırasıyla $101,3\pm1,9$ mmol/L ve $102,7\pm1,6$ mmol/L olarak saptanırken, kontrol grubunda $95,2\pm1,9$ mmol/L olarak saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$). Her iki ilacın kısa ve uzun süreli uygulandığı gruplarda klor seviyesindeki artışın tübüllerdeki değişikliklerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Amfoterisin B'nin lipid formülleri daha öncede belirtildiği gibi daha düşük toksisite göstermektedirler^{3, 14, 15, 17, 28, 29}. Longuet ve arkadaşlarının lipozomal amfoterisin B ve klasik amfoterisin B ile karşılaştırmalı yaptıkları bir çalışmada, sıçanlara 1,5 ve 3,5 mg/kg lipozomal amfoterisin B uygulaması sonucunda, böbrek tübüllerinde klasik amfoterisin B'ye nazaran azalan toksisite olduğunu bildirmişlerdir⁵⁹.

Çalışmamızdaki 14 ve 28 gün sürelerle eşit dozlarda uygulanan her iki ilaç grubunda gerek kontrol grupları ve gerek birbirleriyle karşılaştırıldıklarında plazma kan üre azotunda göze çarpan bir değişiklik saptanmamıştır ($p>0,05$). Longuet ve arkadaşları plazma kan üre azotunda göze çarpan bir artış olduğunu bildirmişlerdir⁵⁹.

Böbreklerin iyon dengesini sağladıkları bilinmektedir. Sodyum ve kalsiyum taşıma mekanizmaları böbreklerin distal tübül hücrelerinin bazolateral membranında lokalize oldukları bilinmektedir⁶⁰. Dolayısıyla bu taşıma sistemlerinin, distal tübüllerdeki patolojilerden etkilenebileceğini ve iyonların geri emilim mekanizmasında önemli aksaklıklara neden olabileceğini düşünmekteyiz. Klasik amfoterisin B, hücre membranının geçirgenliğini değiştirerek, tübüler ve vasküler düz kas hücrelerinin fonksiyonunu bozarak çeşitli tübüler taşıma defektlerine ve vazokonstriksiyona neden olmaktadır^{41, 61, 54, 56, 52}.

Çalışmamızda eşit sürede ve dozlarda lipozomal amfoterisin B ve amfoterisin B lipid kompleksi uygulanan sıçanlardan elde edilen kesitlerin elektron mikroskopik

incelenmesinde, renal cisimcikler içerisinde bulunan visseral epitelyum hücreleri podositler, glomeruller kapiller endotelial hücreleri ve bunların arasında uzanan bazal laminayla mezangial hücrelerin normal histolojik özelliklere sahip olduğu saptandı (Şekil 21, 24, 26, 30, 33). Doubek ve arkadaşları, böbrek tübüllerinde ve glomeruluslarında morfolojik hasarlar bildirmişlerdir ⁴². Buna karşılık bazı morfolojik tübüler hasara rağmen, glomerulustaki bozukluklar fonksiyonel olabilmektedir. Ayrıca aynı araştırmacılar tübüler hücrelerin mitokondrilerinde harabiyet saptarken, bu hücrelerin sitoplazmalarında küçük vakuolar yapıların ve peroksizomların yoğunluklarında bir artış olduğunu bildirilmişlerdir ⁴².

14 günlük 5 mg/kg. lipozomal amfoterisin B uygulanan deney grubumuzun proksimal tübül hücrelerinin genellikle normal yapılarını korudukları izlenmiştir. Pleomorfizm gösteren mitokondriyonlardan zengin hücrelerin apikal sitoplazmalarında değişik büyüklükte lizozomlar ve küçük vakuolar yapılar gözlenmiştir (Şekil 19) . Diğer taraftan 28 günlük 5 mg/kg. lipozomal amfoterisin B uygulanan sıçanlardan elde edilen kesitlerin incelemesinde, proksimal tübül hücrelerinde lizozomlarda ve apikal sitoplazmada yerleşim gösteren vakuolar yapılarda artış gözlenirken, hücrenin lümene doğru çıkıntı yaptığı ve bu bölgede mikrovillusların kaybolduğu dikkati çekmekteydi (Şekil 27, 28). Mihatsch ve arkadaşları, sıçanların böbrek proksimal tübül epitelyum hücrelerinde, vakuollar yapılarda artış ve mikrovilluslerde fırça kenar kaybı olduğunu rapor etmişlerdir ⁶². Mikrovillusların hücrede yüzey alanını arttırmaya yönelik olarak oluşan, özelleşmiş yapılar olduğu bilinmektedir ⁶³. Lipid içerisindeki amfoterisin B molekülünün epitel hücrelerine girmek için önce mikrovilluslere tutunduğunu ve bu organellerde dejenerasyona neden olabileceğini düşünmekteyiz. Benzer ultrastrüktürel değişiklikler distal tübül hücrelerinde de görülmekteydi. Bu hücrelerde derin bazal katlantıların yanısıra çok sayıda vakuolar yapıların varlığı dikkati çekmekteydi. Membranla çevrili bu vakuolar yapılar değişik büyüklükte olup yer yer birleşerek sitoplazma içerisinde geniş boşluklar meydana getirmişlerdir. Böbrek tübül hücrelerinde görülen bu vakuoller yapının endoplazmik retikulumun dilatasyonundan kaynaklandığı düşünülmüştür ^{62, 64, 65, 66}. Ayrıca bazı hücrelerin lümene doğru çıkıntı yaptıkları ve lümen içerisinde hücresel artıkların bulunduğu görülmüştür (Şekil 29). Aynı şekilde 28 gün süreyle amfoterisin B-lipid kompleksi (ABCD) uygulanan sıçanlardan alınan doku örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde proksimal tübül hücrelerinde tübül

lümeninde hücre artıkları görülmekteydi ( ekil 31). Toksik maddelere maruz kalan hücrelerde; hücre metabolizmasının bozularak hücre içinde zararlı maddelerin birikmesi ve organellerin dejenerasyonu sonucunda tüm bu yapıların hücreden uzaklaştırılmasında lizozomların fonksiyon gördükleri bilinmektedir ⁶⁷. Bu nedenle proksimal tübül hücrelerinde görülen lizozomal yapıların, bu hücrelerde lipozomal amfoterisin B içerisindeki amfoterisin B'nin etkisine bağlı olarak gelişebileceği düşünülebilir. Diğer taraftan 28 gün süreyle amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan grubun distal tübüllerde epitelyum hücrelerinin çekirdek ve organelleri normal histolojik yapılarını koruduklarını tesbit ettik ( ekil 32).

14 gün süreyle amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC) uygulanan gruptan elde edilen böbrek biyopsi materyallerine ait mikrograftlarda proksimal tübül epitel hücrelerinin genellikle normal histolojik yapıda oldukları gözlenirken, düzgün sınırlara ve normal kromatin içeriğine sahip hücre çekirdekleri, pleomorfizm gösteren mitokondriyonlar, çok sayıda lizozomlar ve apikalde yoğunlaşmış değişik büyüklükte vakuolar yapılar saptanmıştır. Ayrıca bu ilaç grubunda hücrelerden lümene doğru, fırçamsı kenar oluşturan çok sayıda mikrovilluslar uzanmakta olup bunların tabanları arasındaki apikal sitoplazmada pinositotik vesiküller gözlenmiştir. Bazı hücrelerde ise vakuolar yapılarda artma ve sitoplazmada yer yer litik alanların bulunduğu dikkati çekmekteydi ( ekil 22, 23). Diğer taraftan distal tübüllerin epitel hücrelerinde çekirdek ve sitoplazmik organellerin normal yapıda oldukları saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda, genel olarak hücre organellerinden mitokondriyalarda morfolojik bozuklukların ve  ekil değişikliklerinin olduğu bildirilmiştir ^{41, 61}. Ayrıca Krej  rov  ve arkadaşları, böbrek tübülleri epitel hücrelerinin stoplazmalarında, pinositotik vez k llerin ve lizozomların yoğunluğunda bir artış gözlemlemişlerdir ⁶¹.

Çalışmamızda 28 gün süreyle amfoterisin B lipid kompleksi uygulanan sıçanlardan elde edilen mikrograftlardan proksimal tübül epitel hücrelerinde vakuolar yapıların arttığı ve çaplarının genişlediği dikkati çekmekteydi. Hücreler mitokondriyonlardan ve lizozomlardan zengin olup bazal katlantıların arttığı ve altta uzanan bazal laminanın ondülalı bir görünüm kazandığı izlenmekteydi. Apikal sitoplazmadan lümene uzanan çok sayıda, uzun mikrovilluslar ve tübül lümeninde hücre artıkları saptanmıştır ( ekil 31). Distal tübüllerde ise epitel hücrelerinin çekirdek ve organelleri normal histolojik özelliklere sahip oldukları tespit edildi. İnce bir bazal

lamina üzerinde yerleşim gösteren epitel hücreleri merkezi yerleşimli, yuvarlak şekilli bir çekirdek, çok sayıda pleomorfizm gösteren mitokondriyonlar, lizozomal yapılar içermekte olup apikalinde az sayıda kısa mikrovilluslar gözlenmiştir. (Şekil 32). Proksimal tübüllerde ve distal tübüllerde görülen vakuolar yapıların belirgin bir şekilde artışı, gerek lipozomal amfotersin B gerekse de amfoterisin B Lipid kompleksi preparatlarında birbirlerinden farklı olduğu, proksimal tübül epitel hücrelerinin distal tübül epitel hücrelerine göre bu iki ilaç formülüne karşı daha hassas olabileceği düşündürmüştür. Proksimal tübül hücrelerinin, distal tübül hücrelerine göre klasik amfoterisin B'nin ve koloidal dağılımlı lipid formülünün nefrotoksik etkilerine karşı daha hassas oldukları bildirilmiştir ^{41, 61}. Pek çok araştırmacı, hücrelerin uzun süreli lipozom içerisindeki amfoterisin B'ye maruz kalmalarıyla oluşan toksik etkiler sonucunda hücreler arası taşıma fonksiyonunun ve hücre morfolojisinin değiştiğini bildirmişlerdir ^{41, 48, 62, 64, 65, 66}.

Böbreklerde meydana gelen toksisitenin mekanizmasını özetlemek gerekirse; amfotersin B, epitel hücre membranında porlar meydana getirmekte bu porlar da böbrek tübüllerinde taşıma ve fonksiyon bozukluklarına sebep olmaktadır. Bilindiği üzere amfotersin B; glomerular filitasyon oranında, böbrek kan akımında azalmaya ve iskemik hasarlara neden olan vazokonstrüksiyondan sorumludur. Bu iki mekanizma ile birlikte akut böbrek fonksiyon bozuklukları meydana geldiği bilinmektedir ⁵². Lipidler içerisinde bir karışım olarak kullanılan amfoterisin B'nin etkinliği 'Fransız mayonezine' benzetilmektedir. Karışım içerisindeki ana maddeler bilinmekte fakat toksik etikleri bilinmemektedir. Bütün bu lipid form'lar amfoterisin B içermekte olup şekil, büyüklük, retiküloendotelyal geçiş ve visseral diffüzyon açısından farklılıklar göstermektedirler. Bu farklılıkların farmakokinetik ve farmakodinamik olarak etkilerinin klinikteki yararları henüz belirsizdir ¹⁷.

Sonuç olarak; 14 gün ve 28 gün olmak üzere eşit sürelerde ve dozlarda (5 mg/kg) lipozomal amfoterisin B ve amfoterisin B lipid kompleksi (Abelcet) uygulamasına maruz kalan sıçanların böbrek dokuları elektron mikroskopik düzeyde değerlendirildiğinde, 14. günde her iki ilaç gruplarındaki proksimal ve distal tübül epitel hücrelerinin bu ilaçlardan önemli oranda etkilenmedikleri, 28 günlük uygulamada ise her iki ilacın da sıçan böbreğinde nefrotoksik etkiler oluşturduğu ve özellikle proksimal tübül hücrelerinde ince yapısal değişikliklerin ortaya çıktığı görülmüştür. Hücrelerdeki

değişiklikler dikkate alındığında her iki ilacın yapısında bulunan amfoterisin B'nin toksik etkisi nedeniyle böbrek fonksiyonlarını değiştirebileceği kanaatine varıldı.

7. SONUÇLAR

Sunulan çalışmada amfoterisin B'nin 2 ayrı lipid formu olan lipozomal amfoterisin B ve amfoterisin B lipid kompleksi'nin 14 ve 28 gün süreli 5 mg/kg dozlarındaki uygulamalara maruz bırakılan sıçanların, biyokimyasal kan değerleri ve elektron mikroskopik bulguları kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

Değerlendirmeler sonucunda;

- 1- Kan analizleri sonucunda, çalışmamızdaki 14 ve 28 gün sürelerle uygulanan her iki ilaç grubunda gerek kontrol grupları ve gerek birbirleriyle karşılaştırıldıklarında plazma elektrolit değerlerinden plazma kreatini, kan üre azotu, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerlerinin ortalamaları benzer çıkarken; klor değerleri kontrol gruplarına göre farklı çıkmıştır ($p < 0,05$).
- 2- 14 ve 28 günlük amfoterisin B lipid kompleksi gruplarının karşılaştırılmasında 14 günlük gruptaki plazma sodyum ve fosfor değerleri sırasıyla $144 \pm 5,4$ ve $11,2 \pm 1,3$ iken; 28 günlük grupta bu değerler daha düşük bulunmuş olup sırasıyla $139,2 \pm 2,4$ ve $7,9 \pm 1,4$ 'dir. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ve p değerleri sırasıyla; $p = 0,045$, $p = 0,035$ olup $p < 0,05$ 'dir.
- 3- Sunulan çalışmada, eşit sürede ve dozlarda lipozomal amfoterisin B ve amfoterisin B lipid kompleksi uygulanan sıçalardan elde edilen kesitlerin elektron mikroskopik incelenmesinde, renal cisimcikler içerisinde bulunan visseral epitelyum hücreleri podositler, glomeruller kapiller endotelyal hücreleri ve bunların arasında uzanan bazal laminayla mezangial hücrelerin normal histolojik özelliklere sahip olduğu saptandı.
- 4- 14 günlük 5 mg/kg. lipozomal amfoterisin B uygulanan deney grubumuzun proksimal tübül hücrelerinin genellikle normal yapılarını korudukları izlenmiştir.
- 5- 28 günlük 5 mg/kg lipozomal amfoterisin B uygulanan sıçanlardan elde edilen kesitlerin incelemesinde, proksimal tübül hücrelerinde lizozomlarda ve apikal sitoplazmada yerleşim gösteren vakuolar yapılarda artış olduğu dikkati çekmekteydi, ayrıca distal tübül hücrelerinde, hücresel artıkların biriktiği ve hücre organellerinde morfolojik değişiklikler olduğu gözlemlendi.
- 6- 14 gün süreyle amfoterisin B lipid kompleksi uygulanan gruptan elde edilen

böbrek biyopsi materyallerine ait mikrograflarda proksimal tübül epitel hücrelerinin genellikle normal histolojik yapıda oldukları görüldü.

- 7- 28 gün süreyle amfoterisin B lipid kompleksi uygulanan grubun distal tübüllerde epitelyum hücrelerinin çekirdek ve organelleri normal histolojik yapılarını koruduklarını tesbit ettik buna karşılık proksimal tübül epitel hücrelerinde vakuolar yapıların arttığı ve çaplarının genişlediği dikkati çekmekteydi.

Bütün bu sonuçlar dikkate alındığında, 28 gün süreyle 5 mg/kg lipozomal amfoterisin B uygulanan grupta distal tübül hücrelerinde görülen hücresel artıkların ve lizozomal yapıların, bu hücrelerde ki lipozomal amfoterisin B içerisindeki amfoterisin B'nin etkisine bağlı olarak geliştiği düşünüldü. Renal tübüllerdeki morfolojik değişikliklerin serum klor düzeyinde farklılıklara yol açabileceği, ayrıca hücrelerdeki değişiklikler dikkate alındığında her iki ilacın yapısında bulunan amfoterisin B'nin toksik etkisi nedeniyle böbrek fonksiyonlarını değiştirebileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. **Bodey GP.** The emergence of fungi as major hospital pathogens. *J. Hosp Infect*, **1988**; (11): 411-426.
2. **Dismukes WE.** Cryptococcal meningitis in patient with AIDS. *J Infect Dis*, **1988**; 157:624-628.
3. **Anaissie E.** Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review. *Clin Infect Dis*, **1992**; 14 (11): S 43-53.
4. **Ellis D.** Amphotericin B: spectrum and resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2002**; 49, (1): 7-10.
5. **Utz JP.** Amphotericin B toxicity: Introduction. *Ann Intern Med*, **1964**; 61: 334-338.
6. **Miller R, Bates JH.** Amphotericin B toxicity A Follow up report of 53 patients. *Ann Intern Med*, **1969**; 71:1090-1095.
7. **Denning, DW, Stevens DA.** Antifungal and surgical treatment of invasive fungal aspergillosis: review of 2121 published cases. *Rev Infect Dis*, **1990**; 12:1147-1201.
8. **Walsh TJ, Dixon DM.** Nosocomial aspergillosis: environmental microbiology, hospital epidemiology, diagnosis, and treatment. *Eur J Epidemiol*, **1989**; 5:131-142.
9. **Kanj SS, Welty-Wolf K, Madden J, Tapson V, Baz MA, Davis RD.** Perfect, J.R. Fungal infections in liver transplant recipients. *Medicine*, **1996**; 75:142-156.
10. **John W, Walsh H, Walsh T.** Lipid Formulation of Amphotericin B: Recent Progress and Future Directions. *Clinical Infectious Diseases*, **1996**; 22 (Suppl 2): 133-144.
11. **Lopez-Berestein G, Mehta R, Hopfer R, Mehta K, Hersh EM and Luliano RL.** Liposome encapsulated amphotericin B for treatment of disseminated candidiasis in neutropenic mice. *J Infect Dis*. **1984**; 150:278-283.
12. **Mehta J.** Do variations in molecular structure affect the clinical efficacy and safety of lipid-based amphotericin B preparation? *Leukemia research vol*, **1997**; 21(3): 183-188.
13. **Hiemenz JW, Walsh TJ.** Lipid formulations of amphotericin B. *Journal of Liposome Research*, **1998**; 8 (4): 443-467.

14. **Janoff AS, Perkins WR, Saletan S.L, Swenson CE.** Amphotericin B lipid complex (ABLC™): A molecular rationale for the attenuation of amphotericin B related toxicities. *J.Liposome Res*, **1993**; 3:51-72.
15. **Bangham AD.** Liposomes: realizing their promise. *Hosp Pract off Ed*, **1992**; 27(51):61-62.
16. **New RRC, Chance ML, Heath S.** Antileishmanial activity of amphotericin and other antifungal agents entrapped in liposomes. *J Antimicrob Chemother*, **1981**; 8:371-381.
17. **Dupont B.** Overview of the lipid formulations of amphotericin B. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2002**; 49:31-36.
18. **Clark JM, Whitney RR, Olsen SJ, George RJ, Swerdel MR.** Amphotericin B lipid complex therapy of experimental fungal infections in mice. *Antimicrob Agents Chemother*, **1991**; 35:615-621.
19. **Olsen SJ, Swerdel MR, Blue B, Clark JM, Bonner DP.** Tissue distribution of amphotericin B lipid complex in laboratory animals. *J Pharm Pharmacol*, **1991**; 43:831-835.
20. **Smith OP, Gale R, Hamon M,** Amphotericin B induced nephrogenic diabetes insipidus: resolution with its liposomal counterpart (letter). *Bone Marrow Transplant*, **1994**; 13 (1):107-108.
21. **Heinemann V, Bosse D, Jehn U, Debus A, Walchholz A, Forst H, Wilmanns W.** Enhanced pulmonary accumulation of liposomal amphotericin B (Ambisome) in acute liver transplant failure. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **1997**; 40:295-297.
22. **Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH.** *Gray's Anatomy*. 37th Ed. London: Churchill Livingstone, **1989**; 1397-1406.
23. **Moore KL, Dalley AF.** *Clinically Oriented Anatomy* 4th Ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins. A Wolters Kluwer Company Philadelphia, **1999**; 279-287.
24. **Dere F.** *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*, 5. Baskı, Adana: Nobel Tıp Kitabevi **1999**; Cilt: 2: 957- 973.
25. **Sancak B, Cumhur M.** *Fonksiyonel Anatomi*, 3. Baskı, Ankara: ODTÜ Yayıncılık **2004**; 261-265.
26. **GJ Romanes.** *Cunningham's Textbook of Anatomy*. 10th Ed. London. Oxford Medical Publication, **1964**; 475-484.
27. **Seabury JH, Dascomb HE.** Experience with amphotericin B. *Am. NY Acad Sci*, **1960**; 89: 202-220.
28. **Tolemar J, Ringden O.** Lipid formulations of Amphotericin B. less Toxicity But at What Economic cost? *Drug Safety*, **1995**; 13 (4): 207-218.

29. **Juliano RL, Grant CWM, Barber KR, et al.** Mechanism of the selective toxicity of amphotericin B incorporated into liposomes. *Mol Pharmacol*, **1987**; 31:1-11.
30. **Fielding RM, Singer AW, Wang LH, Babbar S, Guo S.** Liposomal drug delivery. Advantages and limitations from a clinical pharmacokinetics and therapeutic perspective. *Clin. Pharmacokinet*, **1991**; 36:299- 307.
31. **Gates C, Pinney RJ.** Amphotericin B and its delivery by liposomal and lipid formulations. *J. Clin. Pharm. Ther*, **1993**; 18: 147-153.
32. **Adller- Moore JP and Proffitt RT.** Development, characterization, efficacy and mode of action of Ambisome, a unilamellar liposomal formulation of amphotericin B. *J. Liposome Res*, **1993**; 3:429-450.
33. **Robinson RF, Nahata MC.** A comparative review of conventional and lipid formulations of amphotericin B. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutic*, **1999**; 24: 249-257.
34. **Janoff AS, Boni LT, Popescu MC, Minchey SR, Cullis PR, Madden TD, Taraschi T, Gruner SM et al.** Unusual lipid structures selectively reduce the toxicity of amphotericin B. *Proc Natl Acad Sci, USA*. **1988**; 85: 6122-6126.
35. **Sculier JP, Bron D, Coune F, Meunier F.** Successful treatment with liposomal amphotericin B in two patients with persisting fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **1989**; 8: 903–906.
36. **Janknegt R, de Marie S, Bakker-Woudenberg IAJM, Crommelin DJA.** Liposomal and lipid formulations of amphotericin B: clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*, **1992**; 23(4): 279–291.
37. **Juliano R, Lopez-Berestein G, Mehta R, Hopfer R, Mehta K, Lasi L.** Pharmacokinetic and therapeutic consequences of liposomal drug delivery: fluorodeoxyuridine and amphotericin B as examples. *Biol Cell*, **1983**; 47: 39–46.
38. **Lopez-Berestein G, Mehta R, Hopfer RL, et al.** Treatment and prophylaxis of disseminated infection due to *Candida albicans* in mice with liposome-encapsulated amphotericin B. *J Infect Dis*, **1983**; 147:939–945.
39. **Lopez-Berestein G, Mehta R, Hopfer R, et al.** Effects of sterols on the therapeutic efficacy of liposomal-amphotericin B in murine candidiasis. *Cancer Drug Delivery*, **1983**; 1:37–41.
40. **Walsh TJ, Finberg RW, Arndt C. et al.** Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *N. Engl. J. Med*, **1999**; 340: 764–771.
41. **Butler WT.** Pharmacology toxicity and therapeutic usefulness of amphotericin B. *JAMA*, **1966**; 195: 127-131.

42. **Doubek M, Mayer J, Lauschova I et al.** Comparison of the effect of amphotericin B desoxycholate and amphotericin B colloidal dispersion on renal functions and renal morphology in rats. *Nephrology*, **2005**; 10:57–62.
43. **Sarosi GA.** Amphotericin B: Stil the “gold standard” for antifungal therapy. *Postgard Med*, **1990**; 151-166.
44. **Prentice HG, Hann IM, Herbrecht R et al.** A randomized comparison of liposomal versus conventional amphotericin B for the treatment of pyrexia of unknown origin in neutropenic patients. *Br. J. Haematol.* **1997**; 98: 711–718.
45. **Walsh TJ, Hiemenz JW, Seibel NT et al.** Amphotericin B lipid complex for invasive fungal infections: Analysis of safety and efficacy in 556 cases. *Clin. Infect. Dis*, **1998**; 26: 1383–1396.
46. **White MH, Bowden RA, Sandler ES et al.** Randomized, doubleblind clinical trial of amphotericin B colloidal dispersion versus amphotericin B in the empirical treatment of fever and neutropenia. *Clin. Infect Dis*, **1998**; 27: 296–302.
47. **Boswell WG, Bekersky I, Buell D. et al.** Toxicological Profile and Pharmacokinetics of a Unilamellar Liposomal Vesicle Formulation of Amphotericin B in Rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Feb. **1998**; 263–268.
48. **Sawaya BP, Briggs JP, Schnermann J.** Amphotericin B nephrotoxicity: The adverse consequences of altered membrane properties. *J. Am. Soc. Nephrol*, **1995**; 6: 154–164.
49. **Bates DW, Su L, Yu DT, et al.** Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. *Clinic Infect. Dis*, **2001**; 32: 686-693.
50. **Joly P, Dromer F, Barge J, Yeni P, Seta N, Molas G and Carbon C.** Incorporation of amphotericin B (AMB) into liposomes alters the AMB-induced acute nephrotoxicity in rabbits. *J. Pharm. Exp. Ther*, **1989**; 251: 311–316.
51. **Wingard JR, White MH, Anaissie E, et al.** A randomized double- blind study comparative trial evaluating the safety of liposomal amphotericin B versus amphotericin B lipid complex in the empirical treatment of febrile neutropenia. *Clinical infectious Diseases*, **2000**; 31: 1155–1163.
52. **Deray G.** Amphotericin B nephrotoxicity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2002**; 49: 37-41.
53. **Tolins JP, Raij L.** Chronic amphotericin B nephrotoxicity in the rat: protective effect of prophylactic salt loading. *Am. J. Kidney Dis*, **1988**; 11: 313-317.
54. **Wasan KM, Vedel K, Lopez- Barestein G, Luck DR.** Pharmacokinetics, tissue distribution and toxicity of free liposomal amphotericin B in diabetic rats. *J. Infect. Dis*, **1990**; 161: 562-566.

55. **Kim, JY, and Suh, KS.** Light microscopic and electron microscopic features of cyclosporine nephrotoxicity in rats. *Journal of Korean Medical Science*, **1995**; 10 (5): 352–359.
56. **Cheng JT, Witty RT, Roobinson RR, Yarge WE.** Amphotericin B nephrotoxicity: Increased renal resistance and tubule permeability. *Kidney Int*, **1982**; 22: 626-633.
57. **Mayer J, Doubek M, et al.** Reduced nephrotoxicity of conventional amphotericin B therapy after minimal nephroprotective measures: Animal experiments and clinical study. *J. Infect. Dis*, **2002**; 186: 379–388.
58. **Gallis HA, Drew RH, Pickard WW.** Amphotericin B: 30 years of clinical experience. *Rev Infect Dis*, **1990**; 308-329.
59. **Longuet P, Joly P, Amirault P et al.** Limited protection by small unilamellar liposomes against the renal tubular toxicity induced by repeated amphotericin B infusions in rats. *Antimicrob. Agents Chemother*, **1991**; 35: 1303- 1308.
60. **Ramachandran C and Brunette M.** The renal $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ Exchange system is located exclusively in the distal tubule. *Biochem. J*, **1989**; 257:259–264.
61. **Krejčířová L, Lauschova I, Horky D. et al.** Influence of amphotericin B deoxyholate or amphotericin B colloidal dispersion on renal tubule epithelium in rat. *Biomed Papers*, **2004**; 148 (2):221–223.
62. **Mihatsch, MJ, Thiel, G, and Ryffel, B.** Histopathology of cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc* **1988**; 20 (3 Suppl. 3): 759–771.
63. **Gartner LP, Hiatt JL.** Color Textbook of Histology. 2nd Ed, USA: W.B. Saunders Company, **1997**.
64. **Duncan, JI, Thomson, AW, Aldridge, RD, Simpson, JG, and Whiting, PH.** Cyclosporine-induced renal structural damage: influence of dosage, strain, age and sex with reference to the rat and guinea pig. *Clin Nephrol*, **1986**; 25 (1): 14–17.
65. **Gillum, DM, Truong, L, Tasby, J, Migliore, P, and Suki, WN.** A rodent model. *Transplant*, **1988**; 46 (2): 285–292.
66. **Verani, R.** Cyclosporine nephrotoxicity in the Fischer rat. *Clin Nephrol*, **1986**; 25 (1):9–13.
67. **Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA.** *Text\Atlas of Histology*. 7th. Ed., Philadelphia: WB Saunders Company, 1988.

ÖZGEÇMİŞ

Ş. Deniz Akman-MUTLUAY 1974 yılında Almanya’da doğdu. İlköğrenimine Almanya’da başladı orta ve lise öğrenimi ile birlikte Adana’da tamamladı. 1993 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı ve 1997 yılında da mezun oldu. 1998 yılında, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesinin Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans eğitime başlayan Ş.Deniz Akman-Mutluay, aynı yıl KSÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2000 yılında yüksek lisansını tamamlayarak 2001 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalında doktora eğitime başlayan Ş. Deniz Akman-MUTLUAY, evli olup halen aynı Anabilim Dalında görevini sürdürmektedir.