

T.C
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Gülbin ÜNSAL

ASETAMİNOFEN İLE OLUŞTURULAN TOKSİK
HEPATİTTE SİLYMARİN'İN KORUYUCU ETKİLERİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Abdilkerim OYMAN

EDİRNE – 2014

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin hazırlanması sırasında değerli katkılarını esirgemeyen Gastroenteroloji Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Gülbin ÜNSAL'a, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sibel GÜLDİKEN'e, bilgi ve deneyimleriyle eğitim sürecime katkıda bulunan bütün hocalarıma, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ufuk USTA'ya, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya tezimin hazırlanması sürecinde desteğini esirgemeyen sevgili eşim Dr. Eliz OYMAN'a, Veteriner Dr. Ziya ÇUKUR'a, Merkez Biyokimya Laboratuvar çalışanlarına ve asistan arkadaşlarıma saygılarımla ayrı ayrı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
ASETAMİNOFEN	3
OKSİDATİF STRES	7
GLUTATYON	9
ANTIOKSİDANLAR	10
SİLYMARİN	11
GEREÇ VE YÖNTEMLER	16
BULGULAR	21
TARTIŞMA	35
ÖZET	43
SUMMARY	45
KAYNAKLAR	47
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

A	: Absorbans
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
APAP	: Asetaminofen
AST	: Aspartat Aminotransferaz
CCL4	: Karbon tetraklorür
D.BİL	: Direkt bilirubin
e-	: Elektron
GGT	: Gama Glutamil Transpeptidaz
GSH	: Glutasyon
İP	: İntraperitoneal
MDA	: Malondialdehit
NAC	: N-asetilsistein
NaCMS	: Sodyum karboksi metilsellüloz
NAPQI	: N-asetil-p-benzoquinone imine
Rhein	: 4,5 dihydroxyanthraquinone-2-carboxylic acid
RNA	: Ribonükleik asit
T.BİL	: Total bilirubin
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif substans

GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer, vücuttaki yüzlerce maddenin sentez, metabolizma, depolanma ve sekresyonunu gerçekleştiren hayati bir organdır. Önemli fonksiyonlarından biride normal hücrel enerji üretimi sırasında veya dışarıdan alınan toksik maddelerin metabolizasyonu ile ortamda biriken okside atıkları yok etmektir. Hidrojen peroksit, süperoksit, singlet gibi atık oksijen radikalleri, normal oksijen molekülünden farklı olup toksik etki gösterirler. Dokularda birikerek, hücrelerin hayatiyetini özellikle glikolipoprotein yapısındaki hücre zarını, çekirdeği, nükleolleri ve DNA'yı bozarlar. Oksijen radikallerinin artması, doğal savunma sistemini uyarır ve endojen antioksidan ürünlerin (Süperoksit dismutaz, Katalaz, Glutasyon peroksidaz) salınımını uyarır. Antioksidan savunma olarak tanımlanan bu detoksifikasyon ile serbest radikaller etkisiz hale getirilerek ortamdan uzaklaştırılır. Oksidatif stres sonucunda oluşan DNA hasarı mutasyonlara, kansere ve yaşlanmaya sebep olmaktadır.

Son 20-30 yıldır yapılan deneysel çalışmalarla, bireysel (genetik, stres) veya çevresel olumsuz etkenlerin (ilaçlar, toksik etkenler, sigara, alkol, kötü beslenme) antioksidan dengeyi bozduğu ve inflamasyondan tümöre kadar ilerleyen bir çok hastalığın ortaya çıkmasına neden olduğu ileri sürülmektedir (1,2).

Metabolik fonksiyonları nedeniyle, zehirlenmelerde en çok karaciğerin bizzat kendisi etkilenmekte, dokuda oksidatif stres ve serbest radikaller artmaktadır. Böyle durumlarda endojen antioksidan savunma yetersiz kalmakta, istenmeyen ağır klinik tablolar gelişmektedir. Günümüzde en sık bitkisel (mantar) ve kimyasal ilaçların yol açtığı akut ağır karaciğer yetmezlikleri görülmektedir. Son zamanlarda her ne kadar mucizevi antioksidan etkili mantar türleri (Rei-shi) pazarlanıyorsa da mantar (amanita phalloides) zehirlenmeleri, çoğu kez

transplantasyon gerektirecek kadar hızlı ve fatal seyreder. Bilinçli veya bilinçsiz kullanım ile ortaya çıkan ilaç toksikasyonları, doza bağlı (direkt) veya idiosenkrazik olarak gelişmektedir. Akut toksisite de sıklıkla yaygın hepatosit nekrozu ve transaminaz yüksekliği gözlenir. Bu tip hepatotoksisite, özellikle çocuklarda analjezik ve antipretik etkisi nedeniyle yaygın olarak kullanılan asetaminofen ile ortaya çıkar. Akut ve doza bağlı gelişmesi nedeniyle deneysel hayvan çalışmalarında model olarak kullanılır (3,4).

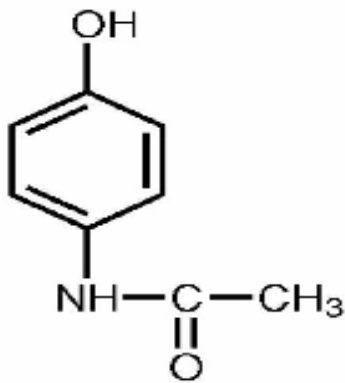
Günümüzde antioksidan savunmayı artırdığı belirtilen birçok bitki ve ilaç profilaktif olarak kullanılmakta ve terapötik etkileri araştırılmaktadır. Eksojen antioksidanlar arasında C, D, E vitamini, karotenoidler, düşük molekül ağırlıklı bileşikler (glutasyon ve lipoik asit vb.) sayılabilir. Özellikle hepatoprotektif olduğu ileri sürülen bitkilerin arasında devedikeni, enginar, çörekotu başta gelmektedir. İlk çağlardan beri kutsanan ve şifalı olduğuna inanılan deve dikeninin (silymarin ve etkeni silybin) gövde ve tohumlarının ekstre ve toz formları birçok hastalıkta yaygın olarak denenmektedir (5,6).

Bu çalışmada ratlarda asetaminofen ile oluşturulan deneysel hepatotoksisite modelinde deve dikeninin olası olumlu etkilerinin araştırılması planlandı. Bu amaçla normal ve asetaminofen ile akut toksisite oluşturulan gruplara belirtilen dozlarda silymarin intraperitoneal (ip.) verilerek karaciğer fonksiyon testleri, dokudaki oksijen radikalleri ve antioksidan düzeyleri araştırıldı. Ayrıca rat karaciğerleri histopatolojik olarak ta incelendi. Sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

GENEL BİLGİLER

ASETAMİNOFEN

İlk kez Cann ve Hepp tarafından 1886 yılında ateş düşürücü etkisi tesadüfi olarak bulunan ilacın ilk formülleri asetanilid ve para-aminofenol'in methemoglobinemi ve analjezik nefropati gibi yan etkileri olduğu gözlenince kullanımı yaygınlaşmamıştır. 1887 yılında para-aminofenolün kimyasal türevi olan fenasetin kullanıma girmiş, fakat nefrotoksik etkileri nedeniyle kullanımdan kaldırılmıştır. İlk kez 1893 yılında Von Mering tarafından kullanılan fenasetin ve asetanilidin aktif metaboliti olduğu anlaşılan asetaminofen ikinci dünya savaşından sonra yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (7).



Şekil 1. Asetaminofen' in kimyasal yapısı (7).

Farmakokinetik Özellikler

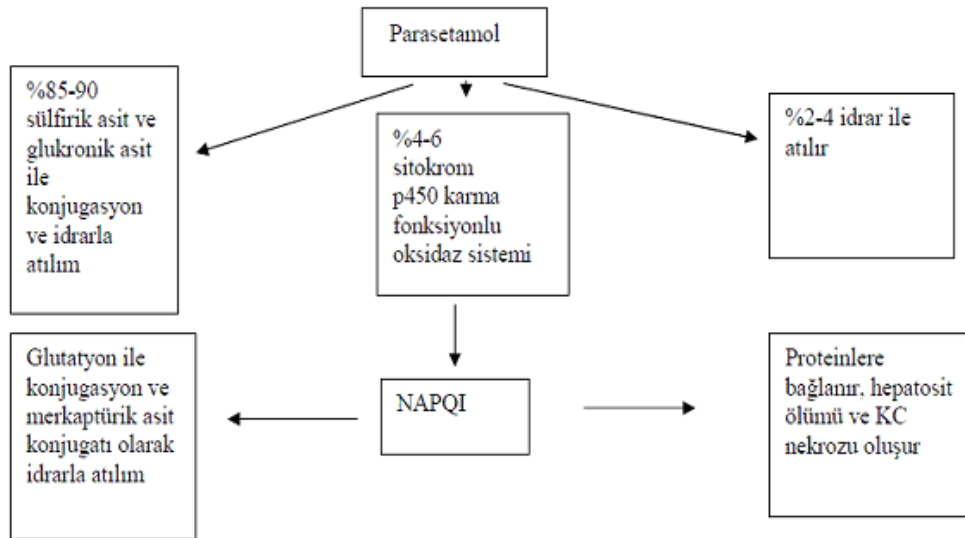
Tüm dünyada yaygın olarak kullanılan asetaminofen oral olarak vücuda alındıktan 30-60 dakika sonra kanda en yüksek konsantrasyonuna ulaşır. Yarı ömrü 2-3 saattir. Dolaşımında

%80-85'i plazma proteinlerine bağlıdır ve karaciğerde metabolizma olur, idrarla %5 lik kısmı değişmeden atılır (8,9).

Asetaminofen Metabolizması

Asetaminofen metabolizması esas olarak karaciğerde gerçekleşirken az oranda böbrek ve barsakta gerçekleşir. Karaciğer metabolizmasında glukuronid konjugasyonu, sülfat konjugasyonu ve sitokrom cyp450'ye mikrozomal oksidasyon olmak üzere 3 ana mekanizma vardır. Esas metabolizma üridin difosfat glukuronodil transferaz enzimi ile glukuronid konjugasyonu ile gerçekleşir. Bir kısmı ise fenol sülfotransferaz enzimi ile sülfat konjugatına dönüşür (9,10).

İlacın cyp450'ye bağlı mikrozomal oksidasyonu sonucu oluşan N-asetil-P-Benzoquinone Imine (NAPQI) toksik metabolittir. Bu toksik ürün dokudaki glutatyon ile bağlanarak toksik olmayan merkaptürik asit ve sisteine dönüşür ve idrarla atılır. İlacın terapötik dozda alınımında vücutta dokuda depo halde bulunan glutatyon (GSH) ile toksik etki önlenir. Yüksek doz alınımında GSH depolarının tükenmesi, cyp450 enzimlerinin indüksiyonu ve glukuronidasyonun azalması gibi sebeplerle NAPQI'ya detoksifiye olamaz, dokuda birikir. NAPQI hepatositlere kovalent bağlanarak hücre hasarı ve nekroza yol açar. Sitokrom p450 enzim sisteminin alt gruplarında cyp3a4 teropatik dozlarda, cyp1a2 ve cyp2e1 enzimleri ile toksik dozlarda etkili olmaktadır (9,11,12).



NAPQI: N- Asetil P- Benzoquononine

Şekil 2. Asetaminofen metabolizması ve toksisitesi (9).

Asetaminofen ile oluşan toksik hepatitte en önemli iki mekanizma NAPQI'nin hepatositlere kovalent bağlanması ve bunun yol açtığı oksidatif stres ve lipid peroksidasyonudur. Ayrıca nitrik oksit oluşması, kalsiyum dengesinin bozulması, apoptozis gibi sebeplerin de toksisiteye etkileri olmaktadır (13).

Asetaminofen Kullanım Dozları

Asetaminofen' in analjezik etkisi plazma düzeyi 10 µg/L üzerine çıktığında gerçekleşir. Düşük analjezik etki için oral yoldan 1 gram/gün, yüksek analjezik etki için 1.5-2 gram/gün gereklidir. Maksimum günlük doz 60-90 mg/kg'ı geçmemelidir. Karaciğer hastalığı olanlarda ve alkoliklerde %30-50 doz kısıtlamasına gidilmelidir (14,15).

Asetaminofen myalji, nevralji, diş ağrısı, baş ağrısı gibi durumlarda güvenle kullanılabilir. Antipiretik ve analjezik olarak aspirin kullanamayan hastalarda tek seçenektir. Terapötik dozlarda ciddi bir yan etki görülmemekte, nadiren ciltte döküntüsü görülebilir. Antipiretik ve analjezik etki için ortalama doz günlük 1 gram olup, en fazla günde 3-4 kez 0.5-1 gr dozunda uygulanır. Alkoliklerde 2 gr'ı geçmemelidir. Alkolün olumsuz etkilerini artırdığı bilinmektedir (16,17).

Asetaminofen Hepatotoksitesisi

Asetaminofen toksitesisi özellikle karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasına yol açar. Diğer sistemlerde önemli bir toksisite gözlenmemektedir. Toksikite 10 gram'lık tek doz veya ortalama 150 mg/kg üzerindeki dozlarda ortaya çıkmaktadır. Uzun süre terapötik dozda veya düşük dozda kullanımında kronik toksisite tanımlanmamakla birlikte tek tük toksisite bildirilmektedir (8-11). Malnutrisyon, alkol kullanımı, fenitoin, fenobarbital gibi bazı maddelerin birlikte kullanımında düşük dozlarda toksisite ortaya çıkmaktadır (18).

Asetaminofen hepatotoksitesinde klinik olarak 4 dönemden meydana gelir. Birinci dönem ilk 24 saatlik süreyi kapsar, karın ağrısı, bulantı, kusma, terleme, huzursuzluk gibi semptomlar dikkati çeker. 24-72 saatlik ikinci dönemde karaciğer toksitesisi belirtileri gözlenir. Sağ üst kadranda hassasiyet ve ağrı, serum transaminaz ve bilirubinlerin de artış, protrombin zamanında uzama dikkati çeker. 72-120 saat sonra üçüncü dönem başlar. Bu dönemde hastalık asemptomatik evreden ensefalopati, sarılık, metabolik asidoz, koma gibi hepatik yetmezliğe kadar ilerleyebilir. Serum transaminaz düzeyleri en yüksek değerlerine ulaşır. Ciddi hepatik yetmezliğe bağlı mortalite gözlenebilir. Dördüncü dönem iyileşme

dönemidir, semptomlar kaybolmaya başlar, serum transaminazları normal değerlere döner. Ölümle sonuçlanmayan vakalarda karaciğer hasarının kalıcı olmadığı görülmektedir (19,20).

Asetaminofen Toksisitesinde Tedavi

Asetaminofen toksisitesinde diğer intoksikasyonlar da olduğu gibi öncelikle hastanın solunum ve hemodinamik kontrolü sağlanmalıdır. Tedavide klasik olarak oral aktif kömür kullanımı, gastrik ve intestinal lavaj, antidot uygulama gibi yöntemler kullanılır. Antidot ilaçlar arasında N-asetil-sistein (NAC), simetidin, metionin sayılabilir.

Aktif Kömür ve N-Asetil Sistein

Oral aktif kömür uygulaması asetaminofen'in absorpsiyonunu engelleyerek etki göstermektedir. İlacın alımından 1-4 saat sonra aktif kömür alımının yararlı olduğuna dair yayınlar vardır. Yapılan çalışmalarda sadece aktif kömür uygulamakla, mide gavajından sonra aktif kömür uygulanmasının arasında anlamlı fark olmadığı tespit edilmekle birlikte, mide gavajından sonra aktif kömür uygulamasının daha iyi olduğu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Aktif kömür uygulamasının asetaminofen toksisitesinin spesifik antidotu olan NAC'in absorpsiyonunu engellemesinden dolayı NAC tedavisinin aktif kömürden en erken 2 saat sonra verilmesi önerilmektedir. Eğer bu iki tedavi birlikte uygulanacaksa önerilen NAC dozunun %50 oranında artırılması önerilmiştir (21).

N-asetil sistein

N-asetil sistein mukolitik bir ajandır. Oral yoldan alındıktan sonra sülfidril grupları absorbe olur. Sülfidril grupları gastrointestinal kanal ve karaciğerde deasetile edildikten sonra disülfid protein peptidaz'a bağlanır. Maksimum plazma konsantrasyonuna bir saatte ulaşır. Oral kullanımda biyoyararlanımı düşük olmasına rağmen klinik açıdan etkilidir. Biyolojik etkinliği sülfidril grubu ile ilişkilidir. NAC alındıktan sonra hepatositte glutatyon öncülü sistein'e dönüşür. Böylece artan glutatyon düzeyi NAPQI oluşumunu azaltarak olumlu etki gösterir. NAC'ın sülfidril bağlayıcı özelliği asetaminofenin sülfat konjugasyonunu da olumlu etkilemektedir. İntoksikasyonda kısa süre içinde verilirse karaciğer hasarını önler. Geç dönemde kullanılmaya başlansa bile (intoksikasyondan 1 gün sonra) sitokin salınımı ve kan akımının artırılması, serbest radikallerin ortadan kaldırılması ile karaciğer hasarı azalabilmektedir.

N-asetil-sistein oral ve intravenöz olarak kullanılabilir. Toksikasyonda genellikle oral yoldan kullanım daha uygundur. Aspirasyon ihtimalinin fazla olduğu alkoliklerde ve narkotik kullanan olgularda intravenöz kullanımı daha uygundur. Başlangıçta yükleme dozu 140 mg/kg oral olarak verildikten sonra 4 saatte bir 70 mg/kg dozunda devam edilir. Eğer i.v uygulanacaksa 150 mg/kg yükleme dozu, 1 litre %5 dekstroz içinde 1 saatte verilir. İdame için % 5 lik dekstroz içinde %20 lik NAC solusyonundan (100 mg/kg) ilk 4 saatte 500ml, 24 saatte toplam 2000 ml'ye tamamlanır. NAC tedavisini takiben deride döküntü, anjiödem, kızarıklık, hipotansiyon, solunum sıkıntısı, taşikardi gibi yan etkiler gözlenebilir (17,19-21).

Simetidin

Yapılan çalışmalarda simetidin sitokrom p450 enzim sistemini inhibe ederek asetaminofenin toksik ürünü NAPQI oluşumunu azalttığı ve karaciğer hasarını önlediği belirtilmiştir (22).

Metionin

Toksisite durumlarında hepatositte antioksidan glutatyon miktarını artırarak etki gösterir. Asetaminofen intoksikasyonunda oral yoldan 6 saatte bir 2.5 gram dozunda kullanılır. İlk 1 saatte uygulandığında olumlu etkisi fazladır (23-24).

Hastada akut karaciğer yetmezliği gelişmesi durumunda, hemodinamik destek sağlanıp, karaciğer transplantasyonu için hazırlık yapmak için yoğun bakım şartlarında takip edilmelidir. Yetmezlikteki hastaya invaziv girişim uygulanacaksa veya kanama durumunda taze donmuş plazma verilmelidir. Ensefalopati gelişenlere proteinden kısıtlı diyet, laktuloz ve rifaksimim uygulanmalıdır. Hipoglisemi, gastrointestinal kanama, elektrolit bozuklukları açısından dikkatli olunmalıdır (25).

Asetaminofen toksisitesine bağlı hepatik yetmezlikte transplantasyon endikasyonları için oluşturulan prensiplere King Collage kriterleri denir. Bu kriterler: Kan gazında arteriyel ph 7.3' den altında olması, evre 3-4 ensefalopati olması, protrombin zamanının 100 saniyeden uzun olması, serum kreatinin değerinin 3.4 mg/dl den fazla olmasıdır (26-28).

OKSİDATİF STRES

Oksidatif stres; dokularda metabolizma sonucu oluşan serbest radikaller ile antioksidan savunma ve onarım sistemleri arasındaki dengenin bozulması durumudur. Serbest radikaller yani reaktif oksijen türleri (ROS) hücrede artığında hücrenin DNA, karbonhidrat,

protein ve lipid yapısıyla reaksiyona girmektedir. ROS artışı ve lipit peroksidasyonu birçok hastalığın etyopatogenezinde önemli yer tutmaktadır. ROS ile hücre hasarının en önemli sonuçlarından biri lipit peroksidasyonudur. Normal metabolizmada düşük hızda oluşan lipit peroksidasyonunu oksidatif stres ve oksidanların fazlalığı ile artmaktadır. Lipit peroksidasyonu en çok çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) miktarı yüksek olan membran fosfolipitlerini etkiler. PUFA ve metabolitleri, hücre içi sinyal oluşumu, gen ekspresyonu ve enerji oluşumu gibi önemli fizyolojik rolleri vardır. Lipid peroksidasyonun artması ile hücre membranının lipid yapısı ve hücre fonksiyonu bozulmaktadır.

Asetaminofen toksisitesinde, oksidatif stres mekanizmasının bozulmasının önemli rol oynadığı bilinmektedir. Toksik metabolit NAPQI'nun oksidasyonunda artış, O₂⁻ ve hidrojen peroksit (H₂O₂) artışına yol açmaktadır. Hatta NAPQI'nun yüksek oksidatif özelliği nedeniyle oluşan tiyol oksidasyonunun karaciğer toksisitesinin ana nedeni olabileceği düşünülmektedir. Bu metabolitin NAPQI'nun koruyucu GSH'ı okside etmesi sonucu hücrede GSH/GSSG oranı ve ayrıca NADPH/NADP⁺ oranı azalmaktadır. GSH düzeyinde azalma, glutatyon peroksidaz enzim aktivitesinde azalma ve/veya kayıpla sonuçlanmaktadır (29).

Dokularda veya hücrelerde normal metabolizma sırasında oluşan serbest oksijen atıkları oluşmakta ancak bunlar antioksidan savunma sistemi ile ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Çeşitli hastalıklar, çevre kirliliği, sigara gibi birçok zararlı madde ve kötü beslenme sonucu radikal oluşumunu artırmakta ve antioksidan savunmayı azaltmaktadır. Bu dengenin bozulmasına yani serbest oksijen radikallerinin artmasına oksidatif stres denilmektedir (30-32).

Dokularda veya hücrelerde normal metabolizma sırasında oluşan serbest oksijen atıkları arasında; süperoksit (O₂⁻), hidroperoksil, hidroksil, nitrik oksit, nitrojen dioksit, alkoksil ve peroksil radikalleri sayılabilir. Ayrıca hidrojen peroksit, hipoklorid asit, peroksinitrit, ozon, singlet oksijen gibi radikal olmayan etkileşim potansiyeli fazla bileşikler de söz konusudur (33,34).

Yukarıda da belirtildiği gibi serbest radikal miktarının artışı protein, lipid, DNA ve karbonhidrat içeren yapıları olumsuz etkilemektedir (35,36).

Serbest Radikal Artışının Karbonhidratlara Etkisi

Monosakkaritlerin metabolizma ve oksidasyonunda peroksit, hidrojen peroksit ve okzoaldehitler gibi radikaller oluşmaktadır. Bunların artışının diabetes mellitus patogenezinde

önemli olduğu belirtilmektedir. Ayrıca bağ dokusunun önemli bir yapısı olan hyaluronik asidin oksidatif hasarı katarakt oluşumuna neden olmaktadır (36).

Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Artmış serbest radikaller DNA'yı etkileyerek nükleik asit baz konfigürasyonlarının değişmesine ve zincir kırılmalarına yol açarak, hücrede ölüme veya çeşitli mutasyonlara sebep olmaktadır (36).

Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi

Artmış serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasar sonucu protein komplekslerinde parçalanma, çökme ve çapraz bağlanmalar oluşmaktadır. Bu olumsuzlukların derecesi aminoasit dizilimine göre değişebilmektedir (5).

Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi

Artmış serbest radikallerin en önemli olumsuzluklarından biri de doymamış yağ asitleri ve lipid yapıya olmaktadır. Oluşan oksidatif hasara lipid peroksidasyonu denir. Lipid peroksidasyonu sonucu hücre membran akışkanlığında ve geçirgenliğinde önemli olumsuz değişiklikler ortaya çıkmaktadır (37).

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehid (MDA) hücre membranlarında iyon değişimine neden olup, membran komponentlerinin birbirleriyle çapraz bağlanmasına sebep olur. Enzim aktivitesinin ve iyon geçirgenliğinin değişimine yol açıp hücrede istenmeyen sonuçlar meydana gelir (38).

GLUTATYON

Esas olarak karaciğerde sentezlenmekle birlikte değişik oranlarda beyin, akciğer, böbrek gibi hemen her dokuda bulunan glutatyon en önemli antioksidanlardan biridir. Ayrıca serbest radikaller ve reaktif toksik maddelerin detoksifikasyonu, kalsiyum homeoastazında, protein ve DNA'nın sentezinde, ksenobiyotiklerin konjugasyon ve detoksifikasyonunda, merkaptürik asitin oluşmasında, sistein depolanmasında ve transportunda rol oynamaktadır (39,40).

Glutatyon, glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan tripeptid yapıda bir bileşiktir. Glutatyon peroksitlerle ve serbest radikallerle reaksiyona girip hücreyi oksidatif

stresin etkilerinden korur. Proteinlerin sülfidril gruplarını indirgeyerek etki gösterir. Karaciğer sitozolünde yarı ömrü 2-4 saattir. Glutasyon; antioksidan olarak, toksinlerin temizlenmesi sırasında GSH-S transferazlar için kofaktör, gamaglutamil transpeptidazlar için glutamini substrat olarak kullanır (39,41).

Glutasyon, dokularda en çok redükte glutasyon (GSH), (% 95), daha az okside glutasyon (GSSG) olarak bulunur. Redükte GSH serbest sülfidril grubu içerir, böylece hemoglobinin sistein gruplarını ve proteinlerin tiyol gruplarını redükte halde tutar. GSH'ın sistein kalıntısındaki -sh yan zinciri fizyolojik özelliklerinin önemli bir bölümünü yerine getirir. Tiyol grubu içeren enzimler düşük aktiviteleri nedeniyle oksijen temasıyla kolayca okside olarak işlevselliklerini kaybederler. Glutasyon oksidasyonu sonucu tiyol gruplarını redükte olup etkinlikleri artar (36,39,42).

Organizmada olumsuz durumlarda redükte GSH yani indirgeme kapasitesi azalır. GSH/GSSG oranında azalma olur. Oksidatif stresi ve antioksidatif kapasiteyi değerlendirmede hücre içi GSSG de önemli olmakla birlikte en iyi GSH/GSSG oranının daha hassas olduğu belirtilmektedir. GSH toksik maddelerin hücreye verdiği hasarda önemli bir savunma rolü üstlenir. Karaciğer dokusunda GSH azalırsa toksik maddenin GSH tarafından yeterince konjuge edilemeyip dokuda patolojiye yol açtığı anlaşılır (40,43).

ANTIOKSİDANLAR

Dokulara zararlı olan reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu ve bunların neden olduğu hasarı engelleyen savunma sistemlerine antioksidanlar denir (44).

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak iki gruba ayrılabilir.

Endojen Antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar: Süperoksid dismutaz (SOD), glutasyon redüktaz (GR), katalaz (CAT), selenyum bağımlı glutasyon peroksidaz (GSH-PX), hidroperoksidaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), glutasyon s transferaz ve katalaz (45,46).

Enzimatik olmayan antioksidanlar: Hemoglobin, melatonin, glutasyon, laktoferrin, sistein, urat, albümin, bilirubin, myoglobulin, metiyonin, transferrin, seruloplazmin (5).

Eksojen Antioksidanlar

Oksidatif stresi azaltmak amacıyla vücuda dışarıdan alınan sentetik veya tabii yapılardır.

İlaç yapısında antioksidanlar: Rekombinant süperoksid dismutaz, trolox-c (vitamin e analogu), ksantin oksidaz inhibitörleri (okspürinol, allopürinol, pterin aldehit, tungsten), nadph oksidaz inhibitörleri (lokal anestezipler, adenozin, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar), demir şelatörleri ve sitokonlar, nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (albumin, mannitol), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-PX aktivitesini arttıran ebselen ve asetilsistein) (47).

Vitamin yapısında antioksidanlar: Beta karoten, askorbik asit (vitamin c), folik asit, vitamin e (alfa tokoferol) (5).

Bitkisel yapıda antioksidanlar: Propil gallat, sodyum benzoat, bütillenmiş hidroksianisol (bha), bütilemdirilmiş hidroksitoluen, etoksikuin (36).

SİLYMARİN

Tarihçe

Silybum marianum, Akdeniz ve Avrupa ülkelerinde ilk çağlardan beri bilinen bir bitkidir. Hristiyanlığın ilk yıllarında Meryem Ana'ya ithafen "Marian Thistle" olarak anılmıştır. Meryem Ana'nın Hz. İsa'yı emzirirken sütünü bitkinin yaprakları üzerine düştüğü ve beyaz yapraklarına düştüğüne inanılır. 15.yy'lar da Pliny the Elder balla karıştırıldığında safra akışını artırdığını ve karaciğer hastalıklarına iyi geldiğini belirterek Silybum olarak adlandırmıştır. 16.yy'da İngiliz herbalistlerinden John Gerard, bu bitkiyi melankoliden kurtulmak ve karaciğer problemleri için önermiştir. 19.yy'da menstrüasyon şikayetlerinde, karaciğer tıkanıklıklarında, varikoz venlerde, dalak ve böbrek hastalıklarında kullanılmıştır. 19.yy'da Almanya'da doktorlar bitki tohumlarının özünü sarılık ve karaciğer hastalıklarında kullanmışlardır. 20.yy sonlarına doğru bitkinin çeşitli bölümlerinin ekstratları ticari olarak satılmakta ve kullanılmaktadır (6).

Bitkide etken madde silymarin 1968’de H. Wagner tarafından elde edilmiştir. *Planta Medica* dergisinde 2000 yıldır kullanılan *Silybum marianum* için “geçmişten geleceğe kutsanmış bitki” olarak tanımlanmaktadır. Almanya Sağlık Bakanlığı’nın ilaç ruhsat komisyonuna göre silymarin dispeptik şikayetler, iştah kaybı, hepatotoksisite ve sirozda etkin güvenilir ve endikedir (6,48).

Dünya genelinde kullanılan isimleri: Marian thistle, St Mary’s thistle, Milk thistle, Our Lady’s thistle, Holy thistle, Venus Thistle, Heal Thistle, Chouk Jmal Guandoule, Wond of God’s Grace, Christ’s Crown olarak sıralanabilir. Almanya’da Mariendistel, Fransa’da Chardon Marie, Çin’de Shui Fei Ji adıyla bilinir. Çok sayıda firma tarafından hazır ilaç (Alepa, Cefasilymarin, Legalon, Phytohepar, Silibene, Silicur vb.) olarak da üretilmektedir (48).

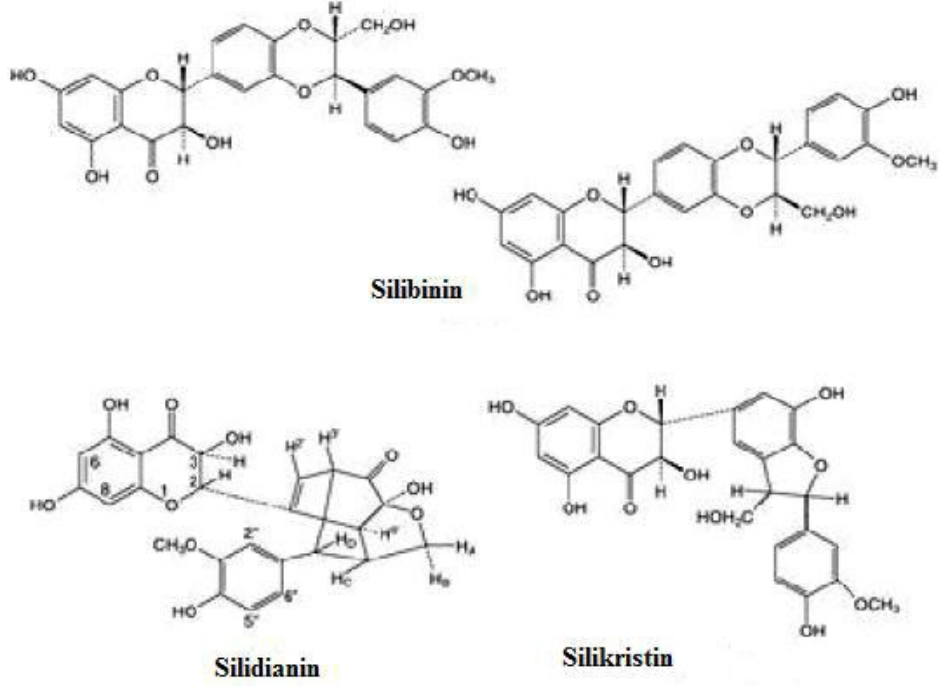
Türkiye’de ise mübarek diken, akkız, deve diken, Meryem Ana diken, yabani enginar, deve kengeli, sütlü kengel, kengel, kıbbun, şevkülmeryem gibi isimlerle tanınlanmaktadır (49).

Karaciğer ve karaciğer dışı birçok hastalıkta etkinliği araştırılmaktadır.

Silymarin’in %70-80 flavonolignanlar, %20-30 u polifenik yapılardan oluşmaktadır. Silymarin içinde en fazla en etkin silybin bulunmaktadır. Bunun yanı sıra daha az miktarda silychristin, isosilybin ve silydianin diğer bileşenleridir (50).



Şekil 3. Silymarin (50)



Şekil 4. Silymarin metabolitleri (50)

Farmakodinamik

Bitkinin çeşitli kısımlarından elde edilen silymarin toz, kapsül, sıvı süt formunda çeşitli hastalıklarda kullanılır. Erişkinlerde kapsülü günde iki, üç defa 100-300 mg/kg kullanılmaktadır. Oral yolla alındığında 4-6 saatte en yüksek serum düzeyine ulaşır. Suda çözünmediğinden büyük çoğunluğu safra yoluyla, az bir kısmı idrar ile atılır. Yarı ömrü 6-8 saat olup safra yoluyla atıldıktan sonra enterohepatik sirkülasyona uğrar. Akut toksisite çalışmalarında ciddi yan etki saptanmamıştır. Sıçanlarda yapılan toksisite çalışmalarında lethal doz 385 mg/kg olarak saptanmıştır. Oral yolla kullanımında 10 gr/kg 'a kadar verilen dozlarda tolerabilite sağlanmıştır. Düşük oranda alerjik reaksiyon görülmüş olsa da ilacı bıraktıracak düzeyde bulunmamıştır (51-54).

Silymarin Etki Mekanizması

Yapılan birçok çalışmada Silymarin'in, asetaminofen, karbontetraklorür gibi karaciğere toksik olan maddelere bağlı hastalıklarda olumlu etkisi olduğu bildirilmektedir. Toksik hepatitin yanı sıra viral hepatit, iskemik hepatit, demir toksisitesi gibi hastalıklarda da etkili olduğu gösterilmiştir (55).

Silymarin antiinflamatuvar olarak ayrıca lipooksijenaz enzimini bloke ederek lökotrien sentezinin azalmasını sağlamakta ve karaciğer hasarını azaltmaktadır. Karaciğer koruyucu

etkisi dokudaki glutasyon miktarını artırması, oksidatif hasarı azaltması ve lipid peroksidasyonunu engellemesidir. Bu çalışmalarda ayrıca karaciğerde protein sentezini indüklediği, mast hücrelerde stabilizasyonunu sağladığı, immunmodulator, antifibrotik ve anti inflamatuvar etkileri olduğu gösterilmiştir (56).

Silymarin'in glutasyonun hücre içindeki miktarını ayarlama, karaciğer hücre yenilenmesini uyararak RNA polimerazın aktifleşmesinde, karaciğere toksik olan maddelerin hücre membranını stabilize ederek toksik maddelerin hepatosit içine alınmasını engelleme, serbest oksijen radikal temizleyici ve lipid peroksidasyonunu engelleme gibi mekanizmalarla karaciğer üzerine koruyucu olduğu düşünülmektedir (57).

Antioksidan Özelliği

Silymarin serbest oksijen radikal temizleyicisi olarak ve oksidatif hasar sonucunda azalmış olan glutasyon düzeylerini artırarak antioksidan etki gösterir (58).

Antiinflamatuvar Etki

Silymarin lipooksijenaz sistemini bloke etmesi sebebiyle lökotrien ve prostoglandin sentezini engelleyerek karaciğer kuppfer hücrelerinin etkinliğini azaltarak etki gösterir (58).

Antifibrotik Etki

Karaciğerde fibrozis stallet hücrelerinin uyarılıp kollajen sentezlenmesi sonucu oluşur. Silymarin karaciğerde stallet hücrelerinin çoğalmasını önleyerek bu etkiyi gösterir (59).

Mantar Zehirlenmesinde Etkisi

Zehirli mantarda bulunan Alfa amanitidin'e bağlı karaciğer toksisitesinde sorumlu olduğu düşünülen TNF-alfa'nın etkilerini önlemiştir. Bu durum TNF-alfa'nın amanitidini güçlendirici etkisinde ve reaktif oksijen radikallerinin sorumlu olduğuna işaret etmektedir (60).

Kullanım Endikasyonları

- 1) İlaç ve toksin kaynaklı hepatit: Özellikle a.phalloides kaynaklı karaciğer toksisitesinde karaciğer harabiyetini azalttığı saptanmıştır (61).
- 2) Sedef hastalığı: C amp lökotrien aktivitesini inhibe ederek etki sağlamıştır (62).

- 3) Viral hepatit: Silymarin hem viral hem de kronik hepatitte serum ALT, AST ve bilirubin düzeylerini azalttığı saptanmıştır (63).
- 4) Alkole bağlı hepatitler de ve siroz: Alkole bağlı karaciğer patolojilerinde serum bilirubin ve ALT düzeylerini azalttığı saptanmıştır (63).
- 5) Nöroprotektif etki: Tnf-alfa inhibisyonu ile i-nos seviyesini azaltıp, mikroglial aktiviteyi artırdığı gözlemlenmiştir (64).
- 6) Nefrotoksisite: Sisplatin kaynaklı nefrotoksisite de etkili bulunmuştur (65).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, 2014 yılında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı protokolünde, Fizyoloji, Patoloji, Merkez Biyokimya ve Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmada ortalama ağırlıkları 200 ± 20 gr arasında değişen, 40 tane, 8-12 haftalık erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan sağlandı.

Denekler ortalama kiloları benzer rastgele seçilerek her grup 10 rattan oluşmak üzere 4 grup oluşturuldu. Laboratuvar koşullarında standart olarak $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ ısıda ve 12 saat aydınlık/karanlık ışık periyodunda tutuldu. Beslenmede musluk suyu ve sıçan yemi kullanıldı. Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Ek 1 TÜHDYEK-2013/98). Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi komisyonu tarafından desteklendi (TÜBAP proje No: 2013/98) (Ek 2).

1.Grup (n=10) : Sağlıklı kontrol grubu olarak kabul edildi. 1 mL serum fizyolojik, periton içine enjeksiyon yoluyla verildi.

2.Grup (n=10) : Silymarin grubu olarak kabul edildi. 100 mg/kg silymarin dimetil sulfoxide ile çözülüp 1 mL ip. verildi.

3.Grup (n=10) : Toksik grup olarak kabul edildi. 1250 mg/kg asetaminofen serum fizyolojik içerisinde çözülüp 1 mL ip. verildi.

4.Grup (n=10) : Tedavi grubu olarak kabul edildi. 1250 mg/kg asetaminofen uygulamasından 4 saat sonra 100 mg/kg silymarin dimetil sulfoxide ile çözülüp 1 mL ip. verildi.

Asetaminofen uygulamasından 24 saat sonra 4 gruptaki ratlardan 50 mg/kg kas içi (i.m) ketamin ve 10 mg/kg rompun anestezisi altında intrakardiyak kanları alındıktan sonra sakrifiye edildi. Ratların açılan karın boşluklarından karaciğerleri alındı. Daha sonra buz kapları üzerindeki kurutma kâğıtlarının üstüne alındı, bistüri ile longitudinal kesiyle üçe ayrıldı. Işık mikroskopisinde incelenmesi amacı ile karaciğerin bir parçası %10'luk formalin solüsyonuna konuldu, diğer karaciğer parçaları serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra kurutma kâğıdı ile kurutulup daha önceden kodlanan alüminyum folyolara sarıldı, ağzı kilitli poşetlere konuldu ve MDA, GSH düzeyleri çalışılana kadar -80 °C' de saklandı.

Kan örnekleri +4 °C'de 3000g'de 10 dakika soğutmalı santrifüjde santrifüj edildi, serum örnekleri ependorf tüplere alındı ve -80 °C' de saklandı.

Kullanılan Cihazlar

pH metre : InoLab, Level 1, Almanya

Su banyosu : Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere

Derin Dondurucu : Thermo Elektron Corporation, USA

Spektrofotometre : Spectronic Unicam Helios α , İngiltere

Manyetik karıştırıcı : Remi equipments, Hindistan

Vorteks : Heidolp, Almanya

Otoanalizör : Advia 1800, Chemistry System, Almanya

Soğutmalı santrifüj : MPW 350R, Polonya

Otomatik Pipetler : Biohit Proline, Finlandiya, Mettler Toledo, İsviçre

Homojenizatör : Polytron Kinematica AG, İsviçre

Hassas terazi : Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Asetaminofen : Sigma, USA

Silymarin :Sigma, Almanya

Dimetil Sulfoxide : Sigma, USA

NaCl : Merck, Almanya

DTNB : Sigma, Almanya

Tiyobarbitürik asit : Sigma, Almanya

EDTA : Merck, Almanya

Butanol : Merck, Almanya

Piridin : Merck, Almanya
Etanol : Riedel de Haen, Almanya
Sodyum dodesil sülfat : Merck, Almanya
Na₂CO₃ :Riedel de Haen, Almanya
Asetik asit : Merck, Almanya
HCl : Merck, Almanya
NaOH : Merck, Almanya
KH₂PO₄ : Merck, Almanya
KCl : Merck, Almanya
Na₂HPO₄ : Merck, Almanya

Biyokimyasal Çalışmalar

Trakya Üniversitesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında, Advia 1800 (Chemistry System, Almanya) otoanalizör makinesi kullanılarak serumda; ALT, AST, ALP, GGT, T.BİL, D.BİL ölçümleri yapıldı.

Karaciğer Dokusu Homojenizasyonu

Karaciğer dokuları –80 °C’den alındıktan sonra bistürü ile kesilerek tartıldı ve tüplere yerleştirildi. MDA ve GSH düzeyleri için 0.15 M KCl solüsyonu ile %10’luk (w:v) olacak şekilde hazırlandı ve tüpler buz üzerinde tutularak homojenizatör ile homojenize edildi. Homojenatlar 4000g’de 10 dk +4 °C’de santrifüj edildi. Ardından üstte kalan süpernatanttan 0,2 ml kısmı alındı ve ayrılan süpernatantlar spektrofotometrik MDA, GSH düzeyleri ölçümlerinde kullanıldı.

Doku Malondialdehit Miktar Tayini

Çalışmamızda lipid peroksidasyon son ürünlerinden biri olan MDA’nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile asit ve sıcak ortamda tepkimeye girmesi sonucu oluşan pembe renk spektrofotometrik olarak ölçüldü (66).

Çözeltiler:

1. %0.8’lik tiyobarbitürik asit (TBA)
2. N-Butanol/Piridin (15:1)
3. % 8.1’lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)
4. % 20’lik Asetik asit (NaOH ile pH 3.5’e ayarlandı)

Deneyin yapılışı: 0.2 ml 10 kat dilüe edilmiş karaciğer dokusu homojenatı; sırasıyla 0.2 ml %8.1'lik SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su eklendi. Oluşan karışım 95 °C'deki su banyosunda 1 saat tutuldu. Daha sonra musluk suyu ile soğutulup üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) ilave edilerek vorteksle 1 dakika karıştırıldı. Organik faz 4000g'de 10 dakika santrifüj edilerek ayrıldı. Homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı absorbanlar 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Sonuçların hesaplanması

$$C \text{ (nmol/ml)} = \frac{109 \times A \times V_t}{103 \times L \times E \times V_s}$$

109: Molün nanomole çevrilmesi

A: Absorbans

V_t: Total reaksiyon hacmi

103: Litrenin mililitreye çevrilmesi

L: Küvet çapı

E: Tüketim katsayısı (1.56 10⁵ M⁻¹ cm⁻¹)

V_s: Total reaksiyon içindeki numune hacmi

Net sonuçlar MDA nmol/g doku olarak ifade edildi.

Karaciğer Dokusu Glutatyon Düzeyinin Ölçümü

Karaciğer doku homojenatlarındaki serbest haldeki sülfidril gruplarının Ellman ayıracı ile meydana getirdiği rengin spektrofotometrik olarak tespit edilmesi, glutatyon düzeyinin belirtilmesi için kullanıldı (67).

Çözeltiler:

1. 1 mM Elman ayıracı: 4mg 5.5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DNTB), 10 ml %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü.

2. Proteinsizleştirme çözeltisi: 120 g NaCl, 6.68 g metafosforik asit ve 0.8 g sodyum-EDTA tartıldı ve 400 ml distile suda çözüldü.

3. 0.3 M Disodyum fosfat (Na₂HPO₄)

Deneyin yapılışı: 0.5 ml karaciğer dokusu homojenatı üzerine 1.5 ml 0.15 M KCl ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi ilave edildi. Oluşan karışım 3000g'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra 0.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml M Na₂HPO₄ ve 0.5 ml Ellman

ayıracı ilave edildi. Homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı absorbanlar 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı ($\Sigma=1.36 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı. Net sonuçlar GSH $\mu\text{mol/g}$ doku olarak ifade edildi.

Histolojik Çalışmalar

Işık mikroskobunda incelenmek üzere sagittal olarak kesilen ve %10 formalinde fikse edilmiş karaciğer parafin bloklara gömüldü. Bu işlemde sonra 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak, hematoksilin-eozin (HE) boyası ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu ile değerlendirilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada toksik gruptan yapılan ratların karaciğerinin mikroskobik incelenmesinde önemli bir patolojiye rastlanılmadı. Bu nedenle çalışmanın patolojik değerlendirilmesinden vazgeçildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tezin değerlendirilmesinde SPSS 17.0 (Lisans No: 10240642) versiyon kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Parametrelerin normal dağılıma uyup uymadıkları Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Tüm gruplar arasındaki farklar ANOVA testi ve LSD düzeltmesi ile değerlendirildi. İstatistiki anlamlılık saptanan ikili gruplar arasındaki farklar normal dağılıma uyan parametrelerde Student t-test, normal dağılıma uymayan parametrelerde non-parametrik test (Mann-Whitney U testi) ile yapıldı. $p<0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak kabul edildi.

BULGULAR

Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatit'te silymarin'in tedavi edici etkilerinin araştırıldığı çalışmada serum fizyolojik verilen sağlıklı kontrol grup, sadece silymarin verilen grup, asetaminofen verilen toksik grup, asetaminofen ve 4 saat sonra silymarin verilen tedavi grubu olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Çalışmada serumda biyokimyasal olarak ALT, AST, ALP, GGT, T.BİL ve D.BİL değerleri, karaciğer dokusunda oksidan aktiviteyi gösteren doku MDA ve anti oksidan olarak GSH düzeyleri çalışıldı. Sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı. Gruplara ait değerler Tablo 1-4' te verilmiştir.

Asetaminofenle oluşturulan toksik hepatit grubunda ortalama ALT değeri $715 \pm 175,2$ U/L ($P < 0.001$), kontrol grubunda ortalama ALT değeri $62,4 \pm 15,3$ U/L göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı saptandı.

Toksik hepatit grubunda ortalama AST değeri $1413 \pm 414,4$ U/L ($P < 0.001$), kontrol grubunda ortalama AST değeri $107,2 \pm 20,5$ U/L göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı saptandı.

Toksik hepatit grubunda ortalama ALP değeri $321 \pm 53,5$ U/L ($P < 0.001$), kontrol grubunda ortalama ALP değeri $180,7 \pm 35$ U/L göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı saptandı.

Toksik hepatit grubunda ortalama GGT değeri $3 \pm 3,71$ mg/dl, kontrol grubunda ortalama GGT değeri $1,6 \pm 0,9666$ mg/dl göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

Toksik hepatit grubunda ortalama T.BİL değeri $0,42 \pm 0,09$ mg/dl ($P < 0.001$), kontrol grubunda ortalama T.BİL değeri $0,13 \pm 0,0675$ mg/dl göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı saptandı.

Toksik hepatit grubunda ortalama D.BİL değeri $0.11\pm 0,031$ mg/dl ($P<0.05$), kontrol grubunda ortalama D.BİL değeri $0,05\pm 0,053$ mg/dl göre yüksek bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptandı.

Toksik hepatit grubunda karaciğerde oksidan aktiviteyi gösteren ortalama MDA değeri 1.797 ± 0.148 nmol/gr ($P<0.001$), kontrol grubunda ortalama MDA değeri 1.094 ± 0.292 nmol/gr göre yüksek bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptandı.

Toksik hepatit grubunda karaciğerde antioksidan aktiviteyi gösteren ortalama GSH değeri 6.39 ± 1.55 μ mol/gr, kontrol grubunda ortalama GSH değeri 5.57 ± 0.472 μ mol/gr göre istatikselsel olarak anlamlı saptanmadı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama ALT değeri 153 ± 60.51 U/L ($P<0.001$), toksik hepatit grubunda ortalama ALT değeri 715 ± 175.2 U/L göre düşük bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptandı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama AST değeri 266 ± 117.012 U/L ($P<0.001$), toksik hepatit grubunda ortalama AST değeri $1413\pm 414,4$ U/L göre düşük bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptandı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama ALP değeri 192.7 ± 30.631 U/L ($P<0.001$), toksik hepatit grubunda ortalama ALP değeri 321 ± 53.5 U/L göre düşük bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptandı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama GGT değeri 1.7 ± 0.823 mg/dl, toksik hepatit grubunda ortalama GGT değeri 3 ± 3.71 mg/dl göre düşük bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptanmadı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama T.BİL değeri $0,16\pm 0,69$ mg/dl ($P<0.001$), toksik hepatit grubunda ortalama T.BİL değeri $0,42\pm 0,09$ mg/dl göre düşük bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptandı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama D.BİL değeri $0,04\pm 0,052$ mg/dl ($P<0.05$), toksik hepatit grubunda ortalama D.BİL değeri $0,11\pm 0,032$ mg/dl göre düşük bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptandı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama MDA değeri $1,548\pm 0,098$ nmol/gr ($P<0.05$), toksik hepatit grubunda ortalama MDA değeri 1.797 ± 0.148 nmol/gr göre düşük bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptandı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama GSH değeri 6.653 ± 0.7046 μ mol/gr, toksik hepatit grubunda ortalama GSH değeri 6.39 ± 1.55 μ mol/gr göre yüksek bulunmuş olup istatikselsel olarak anlamlı saptanmadı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama ALT değeri 153 ± 60.51 U/L ($P<0.05$), kontrol grubunda ortalama ALT değeri 62.4 ± 15.3 U/L göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı saptandı.

Silymarin ile tedavi grubunda ortalama AST değeri 266 ± 117.012 U/L ($P<0.05$), kontrol grubunda ortalama AST değeri 107.2 ± 20.5 U/L göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Silymarin ile tedavi grubunda ortalama MDA değeri $1,548\pm0,098$ nmol/gr ($P<0.001$), kontrol grubunda ortalama MDA değeri 1.094 ± 0.292 nmol/gr göre yüksek bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Silymarin ile tedavi grubu ve kontrol grubu arasındaki diğer parametrelerin karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı.

Serum fizyolojik verilen kontrol grubu ile sadece silymarin verilen grup arasında karşılaştırılan parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 1. Kontrol grubu ile toksik hepatit grubu arasındaki kan biyokimyasal parametreler, karaciğer doku malondialdehit ve glutatyon düzeylerinin karşılaştırılması

	Kontrol grubu Ort±SS	Toksik hepatit grubu Ort±SS	P
ALT	62.4±15.4	715±175.2	<0,001*
AST	107,2±20.5	1413±414,5	<0,001*
ALP	180,7±35	321,7±53,6	<0,001*
GGT	1,6±1	3±3,8	0,240
T.BİL	0,13±0,06	0,420±0,09	<0,001*
D.BİL	0,05±0,052	0,11±0,031	<0,001*
MDA	1,094±0,29	1,797±0,148	<0,001*
GSH	5,57±0,472	6,39±1,55	0,103

ALT: Alanin aminotransferaz; **AST:**Aspartat aminotransferaz; **ALP:** Alkalen fosfataz; **GGT:** Gamaglutamiltransferaz; **T.BİL.:** Total bilirubin; **D.BİL:** Direkt bilirubin; **SS:** Standart Sapma; **Ort:** Ortalama. **MDA:** Malondialdehit; **GSH:** Glutatyon.

p*<0,05 İstatistiksel olarak anlamlı.

Tablo 2. Toksik hepatit grubu ile tedavi grubu arasındaki kan biyokimyasal parametreler, karaciğer doku malondialdehit ve glutatyon düzeylerinin karşılaştırılması

	Toksik hepatit grubu Ort±SS	Tedavi grubu Ort±SS	P
ALT	715±175.2	153,9±60,51	<0,001*
AST	1413±414,5	266,8±117	<0,001*
ALP	321,7±53,6	192,7±30,6	<0,001*
GGT	3±3,8	1,7±0,8	0,626
T.BİL	0,420±0,09	0,16±0,69	<0,001*
D.BİL	0,11±0,031	0,04±0,052	<0,05*
MDA	1,797±0,148	1,548±0,098	<0,05*
GSH	6,39±1,55	6,65±0,7	0,634

ALT: Alanin aminotransferaz; **AST:**Aspartat aminotransferaz; **ALP:** Alkalen fosfataz; **GGT:** Gamaglutamiltransferaz; **T.BİL.:** Total bilirubin; **D.BİL:** Direkt bilirubin; **SS:** Standart Sapma; **Ort:** Ortalama. **MDA:** Malondialdehit; **GSH:** Glutatyon.
p* $<0,05$ İstatistiksel olarak anlamlı.

Tablo 3. Kontrol grubu ile tedavi grubu arasındaki kan biyokimyasal parametreler, karaciğer doku malondialdehit ve glutatyon düzeylerinin karşılaştırılması

	Kontrol grubu Ort±SS	Tedavi grubu Ort±SS	P
ALT	62.4±15.4	153,9±60,51	<0,05*
AST	107,2±20.5	266,8±117	<0,05*
ALP	180,7±35	192,7±30,6	0.897
GGT	1,6±1	1,7±0,8	0,240
T.BİL	0,13±0,06	0,16±0,69	0.845
D.BİL	0,05±0,052	0,04±0,052	0.999
MDA	1,094±0,29	1,548±0,098	<0,001*
GSH	5,57±0,472	6,65±0,17	0,103

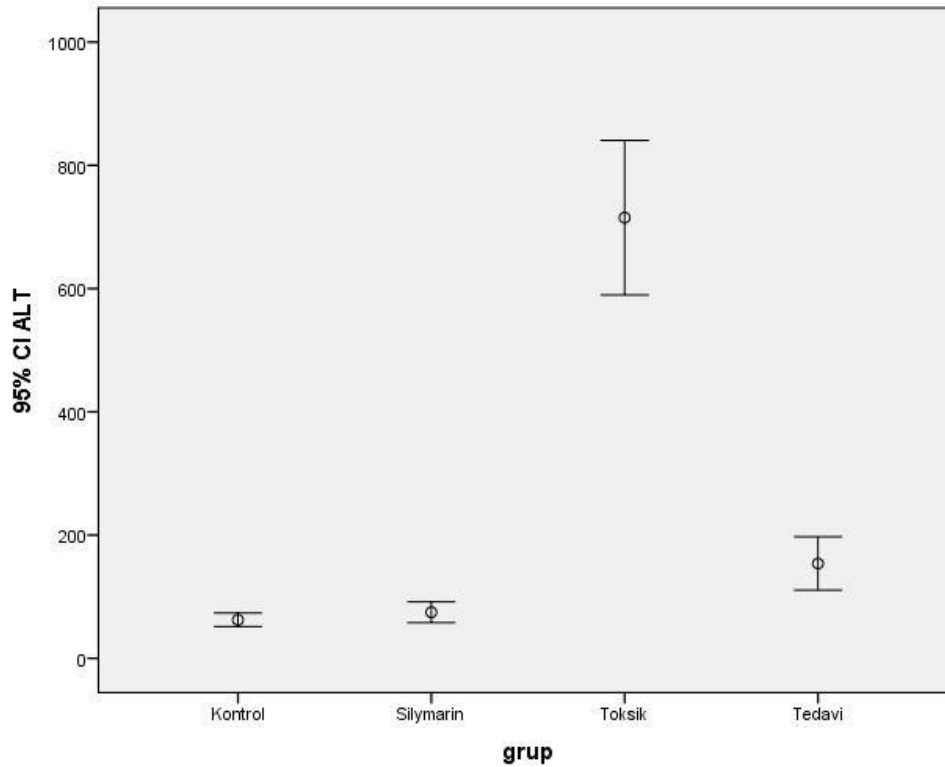
ALT: Alanin aminotransferaz; **AST:**Aspartat aminotransferaz; **ALP:** Alkalen fosfataz; **GGT:** Gamaglutamiltransferaz; **T.BİL.:** Total bilirubin; **D.BİL:** Direkt bilirubin; **SS:** Standart Sapma; **Ort:** Ortalama. **MDA:** Malondialdehit; **GSH:** Glutatyon.
p* $<0,05$ İstatistiksel olarak anlamlı.

Tablo 4. Kontrol grubu ile silymarin grubu arasındaki kan biyokimyasal parametreler, karaciğer doku malondialdehit ve glutatyon düzeylerinin karşılaştırılması

	Kontrol grubu Ort±SS	Silymarin grubu Ort±SS	P
ALT	62.4±15.4	74,8±23,5	0,701
AST	107,2±20.5	122,2±12,3	0,337
ALP	180,7±35	208,8±29,2	0,110
GGT	1,6±1	2,6±3,5	0,701
T.BİL	0,13±0,06	0,2±0,094	0,241
D.BİL	0,05±0,052	0,08±0,06	0,842
MDA	1,094±0,29	1,349±0,31	0,107
GSH	5,57±0,472	5,86±1,3	0,558

ALT: Alanin aminotransferaz; **AST:**Aspartat aminotransferaz; **ALP:** Alkalen fosfataz; **GGT:** Gamaglutamiltransferaz; **T.BİL.:** Total bilirubin; **D.BİL:** Direkt bilirubin; **SS:** Standart Sapma; **Ort:** Ortalama. **MDA:** Malondialdehit; **GSH:** Glutatyon.
p* $<$ 0,05 İstatistiksel olarak anlamlı.

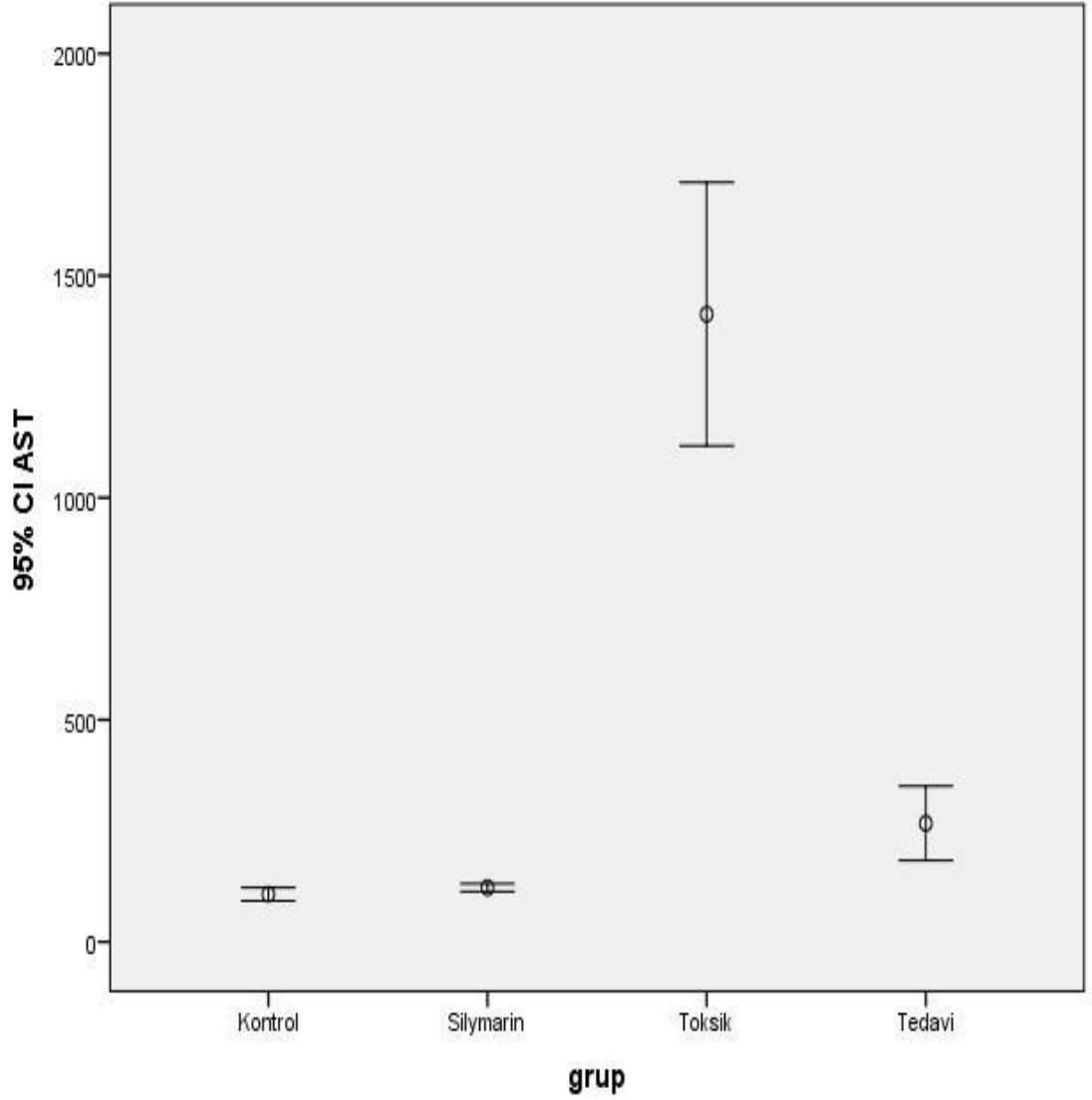
Şekil 5'te kontrol grubu, silymarin grubu, toksik hepatit grubu ve tedavi gruplarında ortalama ALT düzeylerinin grafiksel dağılımı verilmiş olup, gruplar arası ortalama sırasıyla 62-74-715-153 U/L olup, gruplar arasında en küçük ALT değerleri sırasıyla 32-54-472-81 U/L, en büyük ALT değerleri 82-122-938-286 U/L saptanmıştır.



ALT: Alanin Aminotransferaz.

Şekil 5. Alanin Aminotransferaz düzeylerinin grafiksel dağılımı

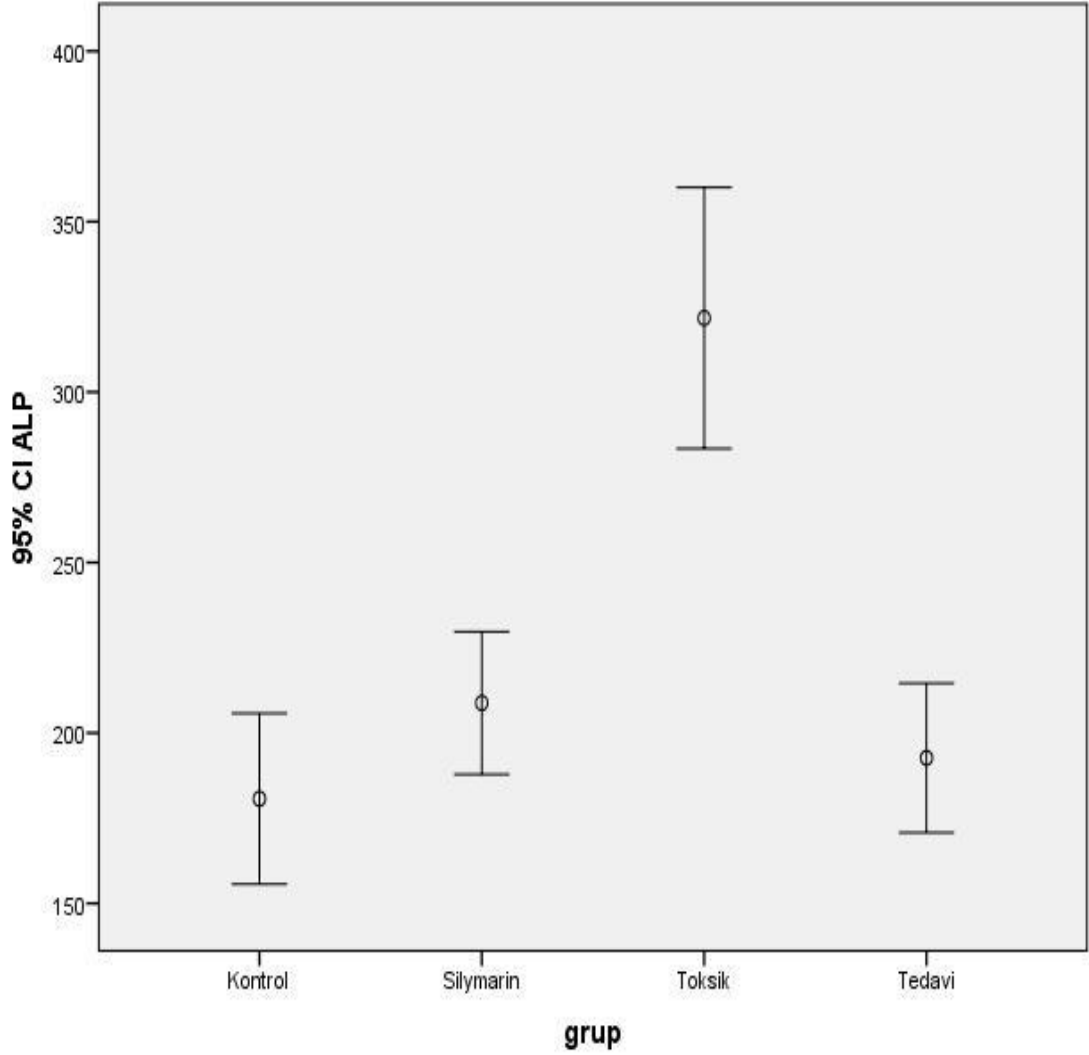
Şekil 6’da kontrol grubu, silymarin grubu, toksik hepatit grubu ve tedavi gruplarında ortalama AST düzeylerinin grafiksel dağılımı verilmiş olup, gruplar arası ortalama sırasıyla 107-122-1413-266 U/L olup, gruplar arasında en küçük AST değerleri sırasıyla 62-102-966-117 U/L, en büyük AST değerleri 134-138-2450-419 U/L saptanmıştır.



AST: Aspartat Aminotransferaz.

Şekil 6. Aspartat Aminotransferaz düzeylerinin grafiksel dağılımı

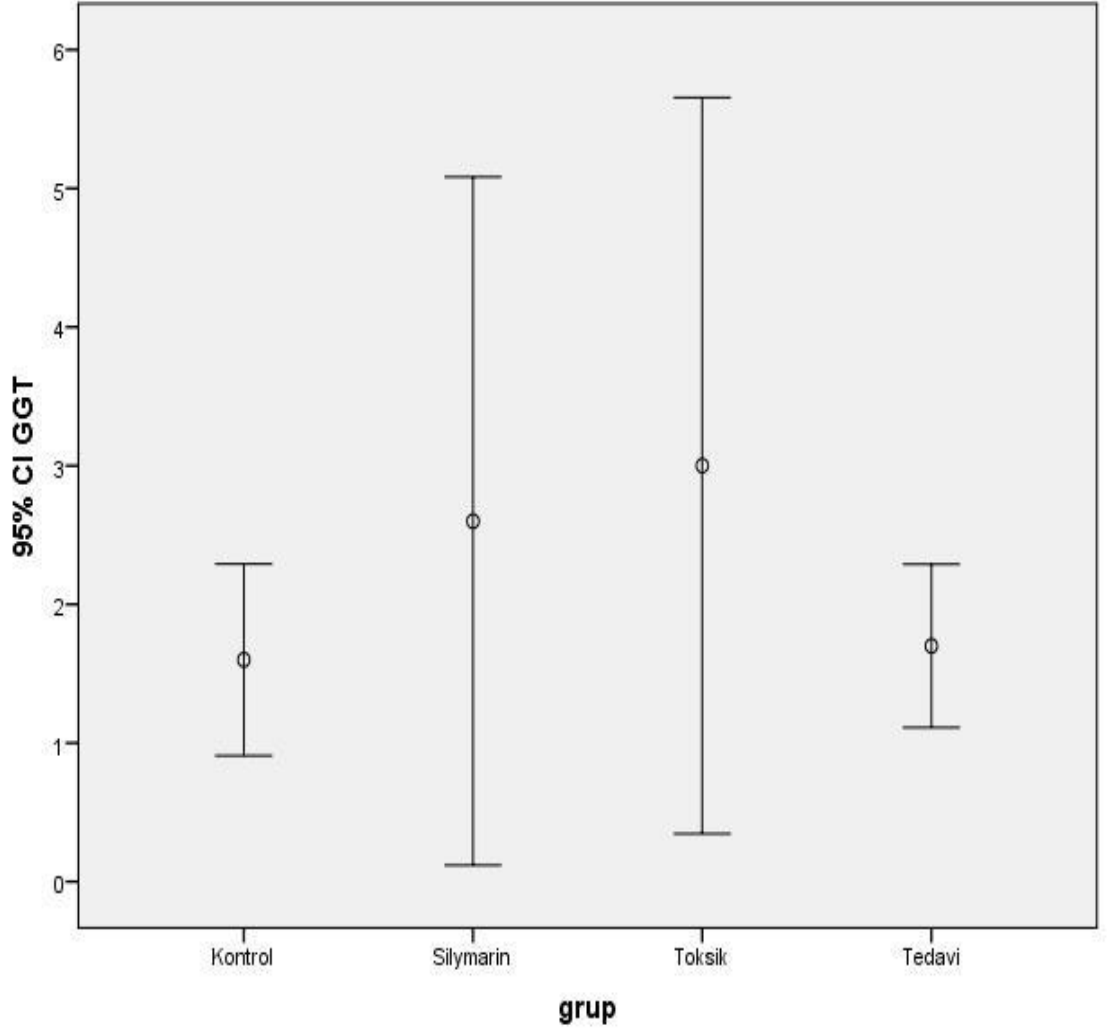
Şekil 7’de kontrol grubu, silymarin grubu, toksik hepatit grubu ve tedavi gruplarında ortalama ALP düzeylerinin grafiksel dağılımı verilmiş olup, gruplar arası ortalama sırasıyla 180-208-321-192 U/L olup, gruplar arasında en küçük ALP değerleri sırasıyla 107-167-250-125 U/L, en büyük ALP değerleri 232-265-450-242 U/L saptanmıştır.



ALP: Alkalen Fosfataz.

Şekil 7. Alkalen Fosfataz düzeylerinin grafiksel dağılımı

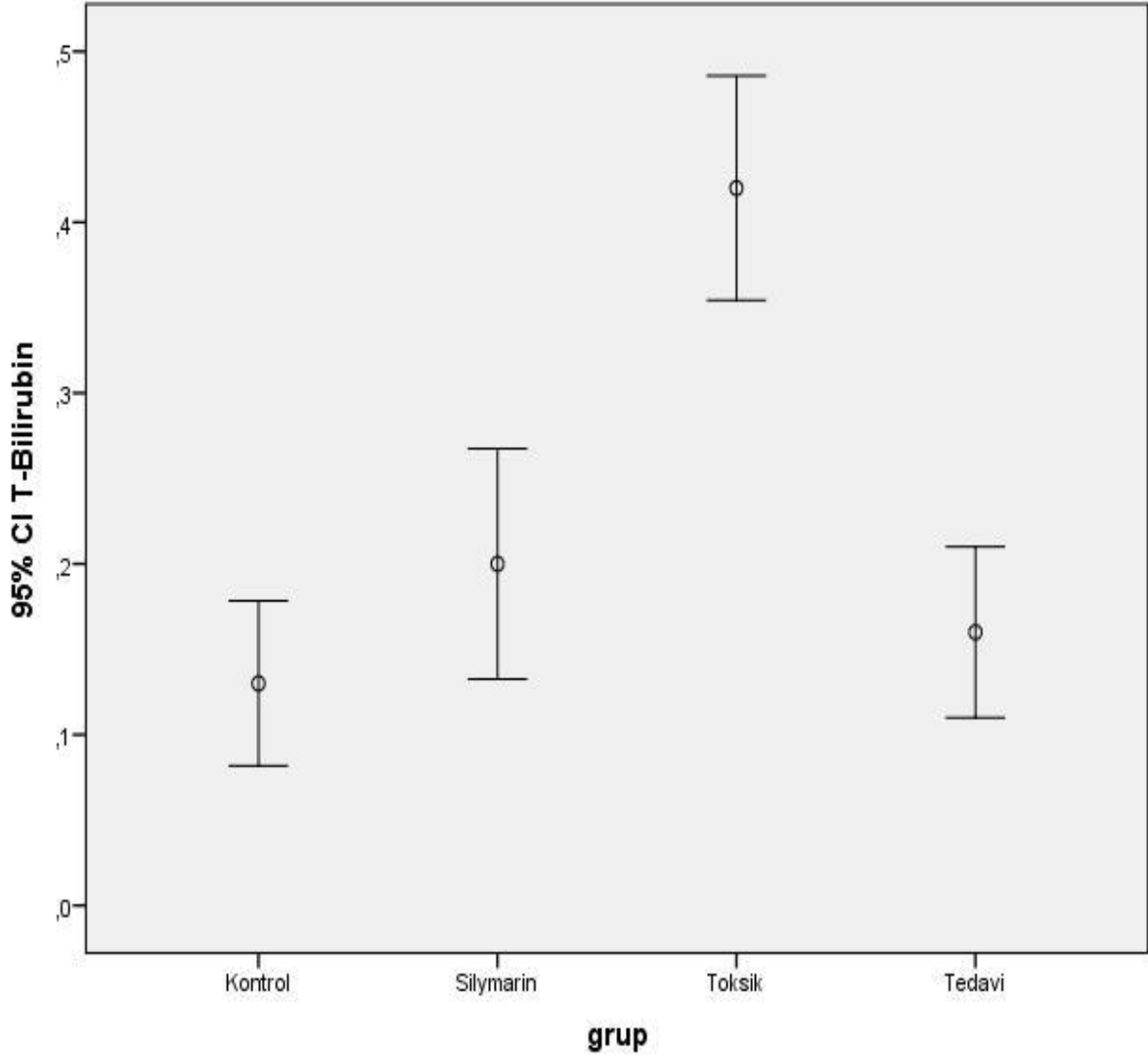
Şekil 8’de kontrol grubu, silymarin grubu, toksik hepatit grubu ve tedavi gruplarında ortalama GGT düzeylerinin grafiksel dağılımı verilmiş olup, gruplar arası ortalama sırasıyla 1.6-2.6-3-1.7 mg/dl olup, gruplar arasında en küçük GGT değerleri sırasıyla 0-0-1-1 mg/dl, en büyük GGT değerleri 3-12-13-3 mg/dl saptanmıştır.



GGT: Gama Glutamil Transferaz.

Şekil 8. Gama Glutamil Transferaz düzeylerinin grafiksel dağılımı

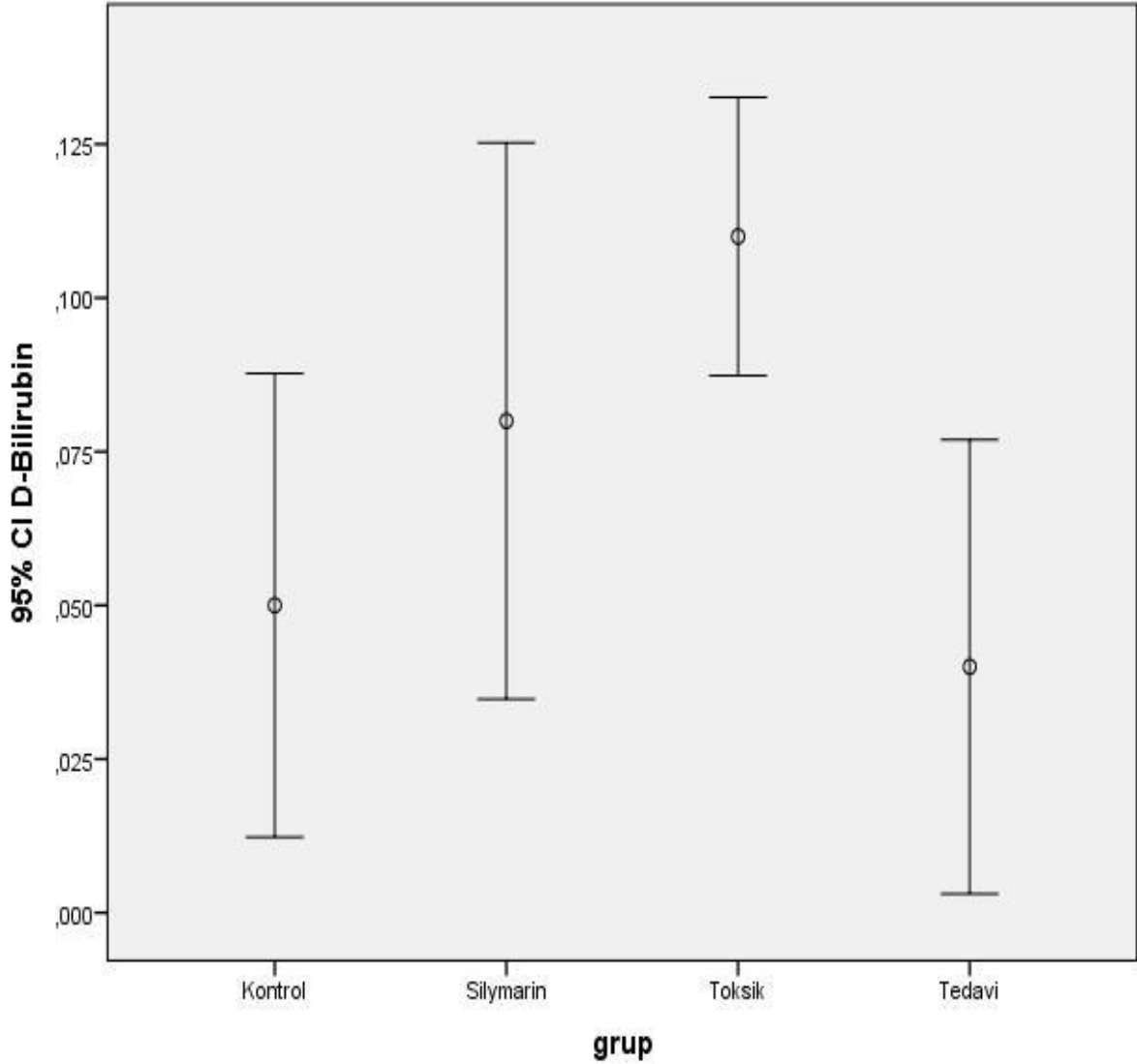
Şekil 9’da kontrol grubu, silymarin grubu, toksik hepatit grubu ve tedavi gruplarında ortalama T.BİL düzeylerinin grafiksel dağılımı verilmiş olup, gruplar arası ortalama sırasıyla 0.13-0.2-0.42-0.16 mg/dl olup, gruplar arasında en küçük T.BİL değerleri sırasıyla 0-0.1-0.3-0.1 mg/dl, en büyük T.BİL değerleri 0.2-0.4-0.6-0.3 mg/dl saptanmıştır.



T.BİL: Total Bilirubin.

Şekil 9. Total Bilirubin düzeylerinin grafiksel dağılımı

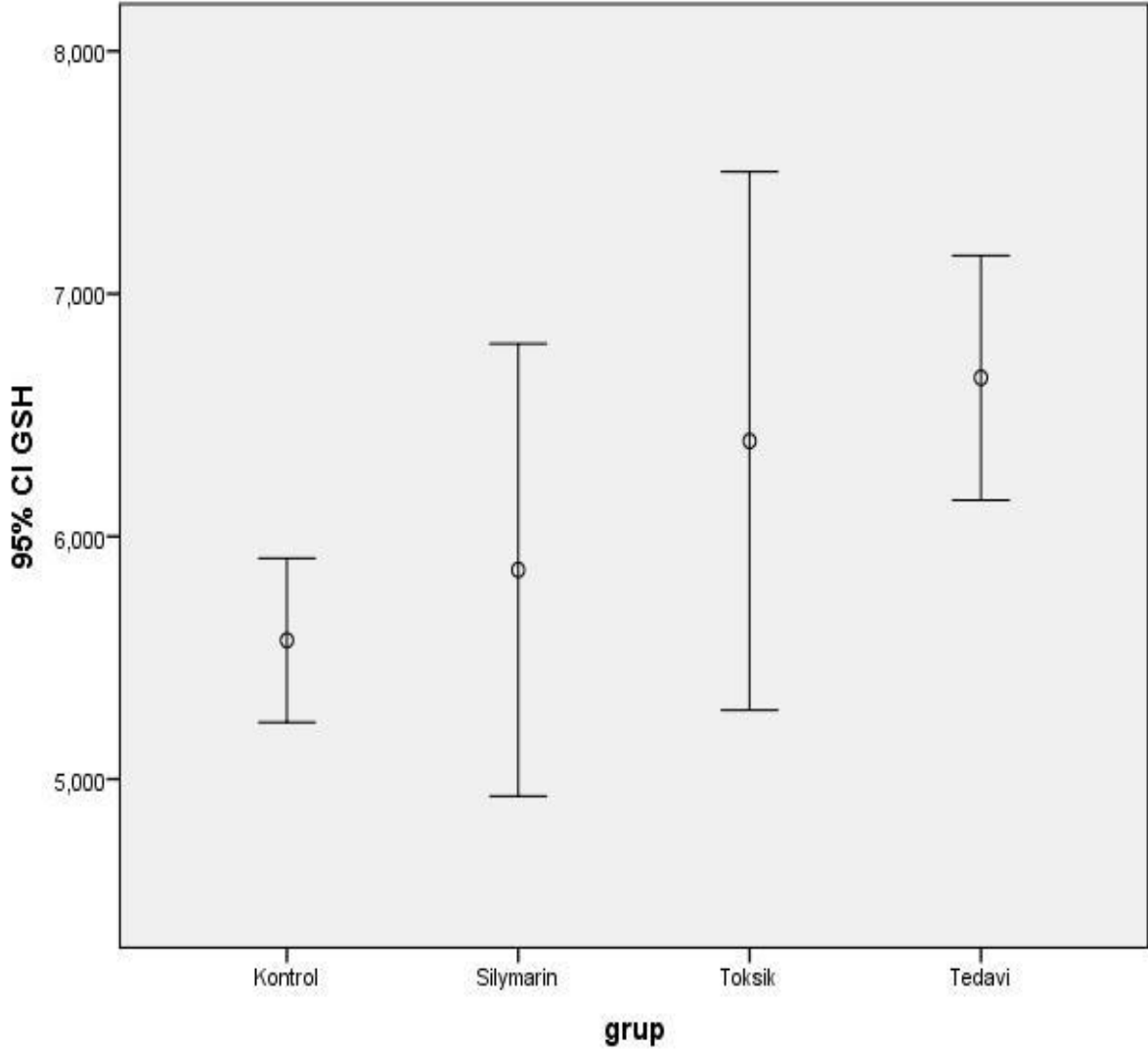
Şekil 10’da kontrol grubu, silymarin grubu, toksik hepatit grubu ve tedavi gruplarında ortalama D.BİL düzeylerinin grafiksel dağılımı verilmiş olup, gruplar arası ortalama sırasıyla 0.05-0.08-0.11-0.04 mg/dl olup, gruplar arasında en küçük D.BİL değerleri sırasıyla 0-0-0.1-0 mg/dl, en büyük D.BİL değerleri 0.1-0.2-0.2-0.1 mg/dl saptanmıştır.



D.BİL: Direkt Bilirubin.

Şekil 10. Direkt Bilirubin düzeylerinin grafiksel dağılımı

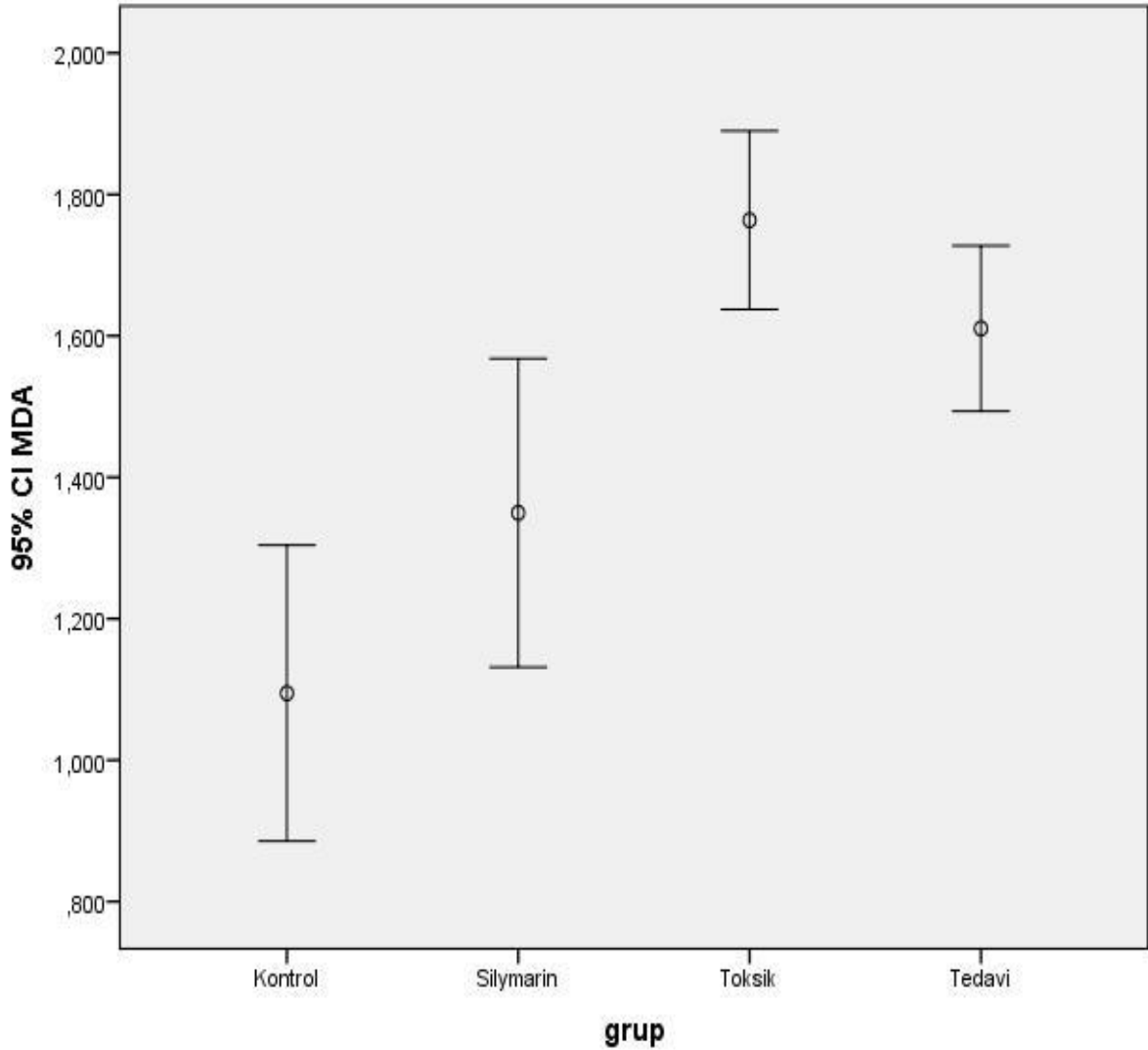
Şekil 11’de kontrol grubu, silymarin grubu, toksik hepatit grubu ve tedavi gruplarında ortalama GSH düzeylerinin grafiksel dağılımı verilmiş olup, gruplar arası ortalama sırasıyla 5.57-5.86-6.39-6.65 $\mu\text{mol/gr}$ olup, gruplar arasında en küçük GSH değerleri sırasıyla 4.79-4.31-4.53-5.59 $\mu\text{mol/gr}$, en büyük GSH değerleri 6.27-8.69-9.03-7.98 $\mu\text{mol/gr}$ saptanmıştır.



GSH: Glutasyon.

Şekil 11. Glutasyon düzeylerinin grafiksel dağılımı

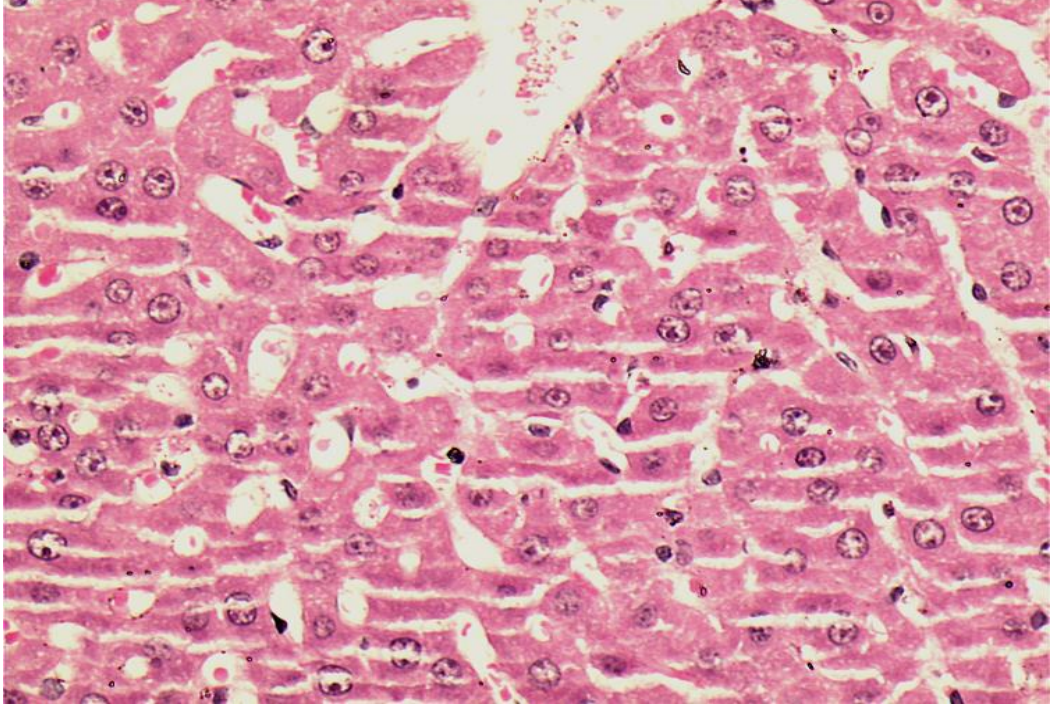
Şekil 12’de kontrol grubu, silymarin grubu, toksik hepatit grubu ve tedavi gruplarında ortalama MDA düzeylerinin grafiksel dağılımı verilmiş olup, gruplar arası ortalama sırasıyla 1.094-1.349-1.797-1.548 nmol/gr olup, gruplar arasında en küçük MDA değerleri sırasıyla 0.723-0.935-1.457-1.401 nmol/gr, en büyük MDA değerleri 1.509-1.966-2.032-1.959 nmol/gr saptanmıştır.



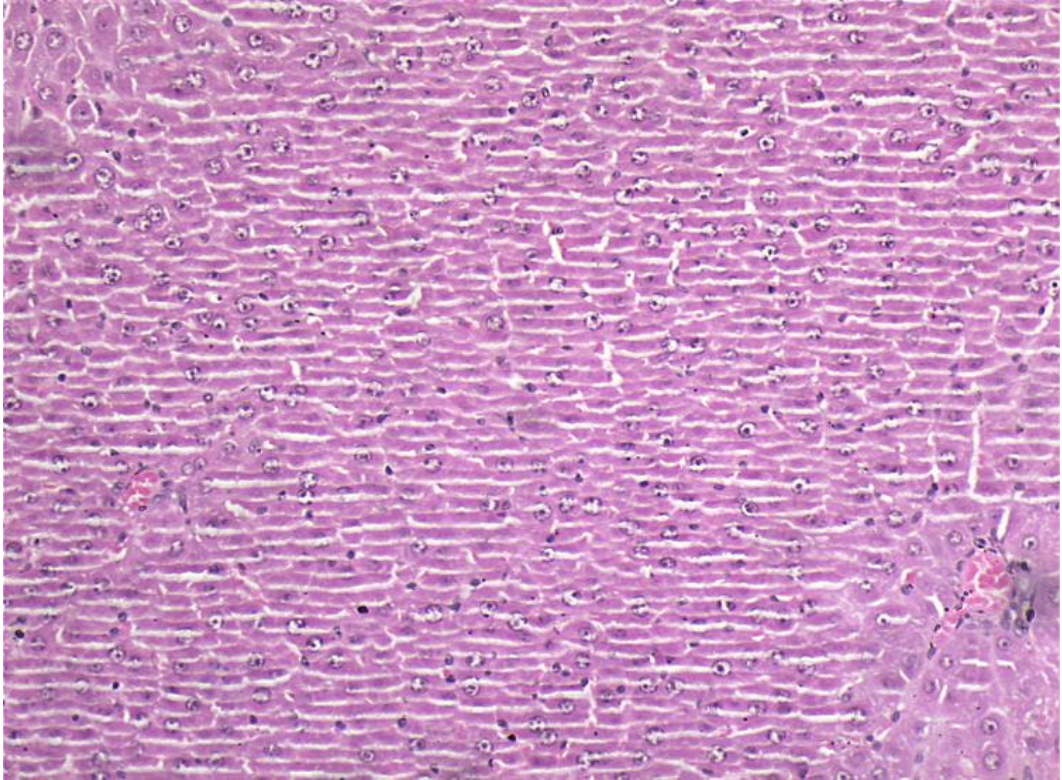
MDA: Malondialdehit.

Şekil 12. Malondialdehit düzeylerinin grafiksel dağılımı

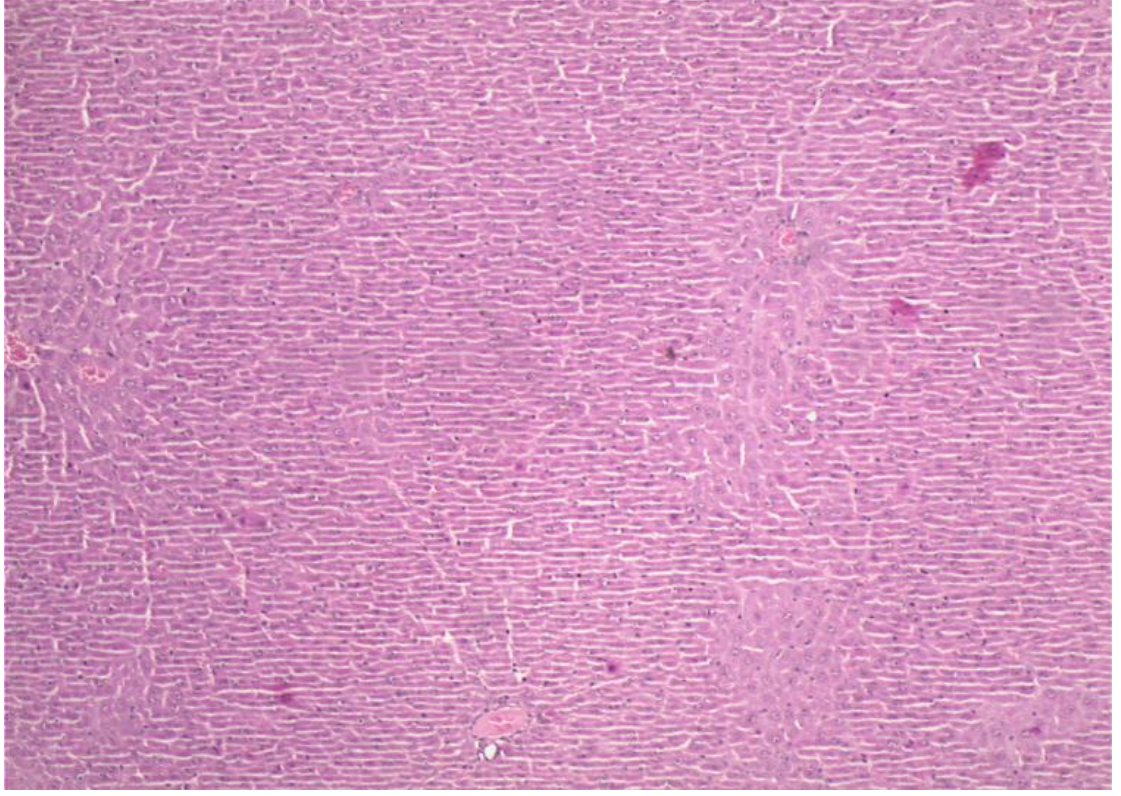
Kontrol grubu, toksik gruba, silymarin grubuna ve tedavi grubuna ait histopatolojik görüntüler Şekil 13-16'da verilmiştir.



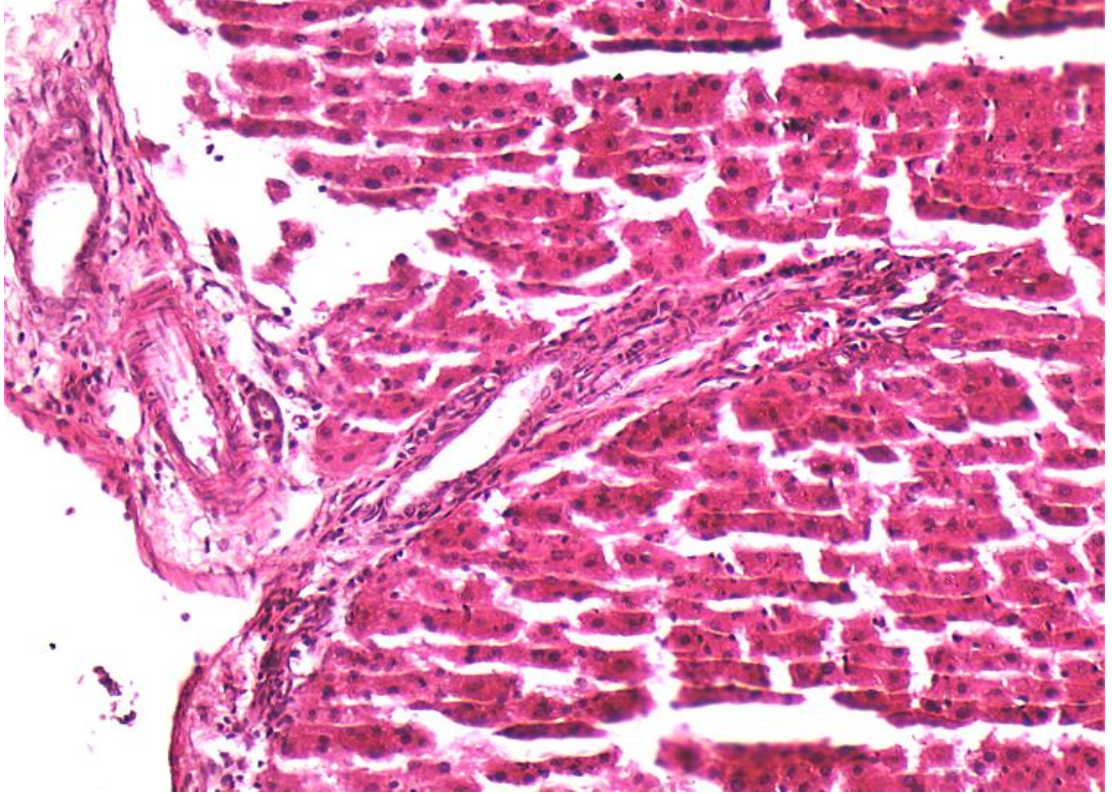
Şekil 13. Kontrol grubuna ait karaciğer histolojisi (H&E;50x)



Şekil 14. Toksik grubuna ait karaciğer histolojisi (H&E;100x)



Şekil 15. Silymarin grubuna ait karaciğer histolojisi (H&E;100x)



Şekil 16. Tedavi grubuna ait karaciğer histolojisi (H&E;50x)

TARTIŞMA

Karaciğer detoksifikasyon, protein sentezi ve biyokimyasal sindirim gibi binlerce fonksiyonu olan hayati bir organdır. Akut veya kronik hastalık etkenlerinin başında viral ve toksik etkenler gelmektedir. Günümüzde tıbbi, bitkisel ilaç ve vitamin kullanımının artması, alkol, kokain, ekstazi, mantar toksisitesi ve endüstriyel kimyasal kullanımının yaygınlaşması karaciğerde toksisitesini artırmaktadır. Hepatotoksistelerde risk faktörleri arasında genetik etkenler, kimyasal özellik, alkol kullanımı, yandaş hastalıklar, yaş ve cins önemli olmaktadır.

Kronik olgular olmakla birlikte hepatotoksistelerde akut veya fulminan seyretmektedir. Toksik etken karaciğerde ağırlıklı olarak hepatositleri, intrahepatik safra yollarını veya vasküler yapıyı etkilemektedir.

Asetaminofen tüm dünyada en çok kullanılan analjezik ve antipiretik ilaçtır, sıklıkla intihar amacıyla da kullanılır. Doza bağlı olarak akut hepatosit nekrozunun en sık görülen sebebidir. Toksikite tek doz 10 gram ve üzeri dozlarda ortaya çıkmaktadır (150 mg/kg). Seyrek olarak daha düşük dozlarda ve kronik 4 gram/gün kullanımda da toksisite olduğu bildirilmiştir. Karaciğerde metabolize olan ilacın toksik metaboliti N-Asetil-P-Benzoquinone (NAPQI) dir. Doz aşımında bu metabolit ürün oksidatif stres ve serbest oksijen radikallerinin artması ile hepatosit yıkımını artırmaktadır (8-11,68,69).

Organizmada metabolik faaliyetler sonucunda hücrelerde diğer molekülleri okside edecek serbest reaktif oksijen molekülleri (süperoksit (O₂), hidroperoksil, hidroksil, nitrik oksit, nitrojen dioksit v.b) ortaya çıkar. Organizmadaki tabii antioksidan sistemle (superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi) serbest radikaller ortadan kaldırılır ve antioksidan denge sağlanır. Vücudun antioksidan savunma sisteminin yetersiz kaldığı durumlarda artmış serbest radikaller lipid peroksidasyonuna yol açar. Normal dozlarda alınan

asetaminofen ve aktif metaboliti NAPQI intrensek antioksidan glutatyonla zararsız hale getirilir. Yüksek doz alımda metabolize edilemeyen NAPQI aşırı hepatosit yıkımına neden olur (70).

Çeşitli etkenlere bağlı oluşan hepatotoksisitede toksik ajanın uzaklaştırılması dışında pek spesifik tedavi yoktur. Son yıllarda çeşitli etkenlere bağlı hepatotoksisitede artmış oksidatif stres ekstrensek antioksidanlarla (Allopürinol, mannitol gibi ilaç olarak kullanılan maddelerle, beta karoten, askorbik asit (vitamin c), folik asit, vitamin e (alfa- tokoferol) gibi vitaminler) tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatit sonucunda antioksidan olan glutatyonun kullanımı ile azaldığı ve lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir (33,71).

Günümüzde asetaminofen toksisitesinde olumlu etkileri nedeniyle antioksidan NAC kullanılmaktadır (24).

Yapılan çalışmalarda NAC'ın yanı sıra birçok ilaç, bitkisel veya kimyasal antioksidanlar çalışılmaktadır. Halk arasında karaciğere faydalı bitkiler arasında enginar, biberiye, tarçın gibi bitkilerin antioksidan özellikleri nedeniyle karaciğer hastalıklarında faydalı olduğu görüşü hakimdir. Bunlardan özellikle silymarin ile önemli çalışmalar yapılmakta antioksidan özelliği ortaya konmaya çalışılmaktadır.

Silybum marianum günümüzde antioksidan özelliğinin yanı sıra antiinflamatuvar, antifibrotik ve antineoplastik ajan olarak klinik ve hayvan çalışmalarında kullanılmaktadır. Karaciğerde metabolize olduktan sonra ortaya çıkan izomerleri silybin, silychristin, isosilybin ve silydianindir. Bu izomerler arasında antioksidan etkinliği en fazla olanın silybinin olduğu belirtilmektedir (50,72-74).

Silybin'in kuvvetli antioksidatif etkisiyle direkt olarak artı glutatyon artırıcı etkisi nedeniyle dolaylı olarak olumlu etki gösterdiği ve lipid peroksidasyonunu artırdığı belirtilmektedir (56).

Çalışmamızda asetaminofen toksisitesinin yol açtığı hepatotoksisite silymarin'in antioksidan etkileri biyokimyasal ve mikroskopik düzeyde araştırılmıştır. APAP ile oluşturulan hepatosit hasarında biyokimyasal olarak ALT, AST, ALP, GGT, T.BİL, D.BİL düzeyleri, doku düzeyinde lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA ve antioksidan aktiviteyi gösteren GSH düzeyleri incelenmiştir.

Çalışmalarda toksik hepatit oluşturmak için 900mg/kg-1000mg/kg-2000mg/kg asetaminofen dozları bildirilmektedir. Bu çalışmada 1250 mg/kg dozunu kullandık (75-77).

Silymarin'in antioksidan ve tedavi etkinliği için yapılan çalışmalarda en çok kullanılan doz olan 100mg/kg'ı kullandık (75,78-80).

Çalışmamızda kontrol grup ALT:62.4±15.3 U/L, AST:107.2±20.5 U/L, ALP:180.7±35 U/L, T.BİL:0.13±0.06 mg/dl, D.BİL:0.05±0.052 mg/dl, toksik grup ALT:715±175.2 U/L, AST:1413±414.4 U/L, ALP:321.7±53.6 U/L, T.BİL:0.42±0.09 mg/dl, D.BİL:0.11±0.031 mg/dl, silymarin ile tedavi grubu ALT:153±60.51 U/L, AST:266±117.012 U/L, ALP:192.7±30.6 U/L, T.BİL:0.16±0.69 mg/dl, D.BİL:0.04±0.052 mg/dl bulunmuş olup, toksik grubun değerleri, kontrol gruba göre artmış ve istatikselsel olarak anlamlı, tedavi grubundaki değerlerin kontrol gruba göre yakın olduğu, toksik gruba göre tedavi grubundaki değerlerin azalmış ve istatikselsel olarak anlamlı olduğu saptandı.

Selvam ve ark. (81) parasetamol hepatotoksisitesinde silymarin ve bir başka antioksidan s.jambos'un olumlu etkilerini araştırmışlardır. Hepatotoksisite geliştirilen ratlarda ALT, AST, ALP,T.BİL, D.BİL düzeylerinin anlamlı olarak arttığı, tedavi gruplarında ise anlamlı olarak düzeldiğini göstermiştir. Bu çalışmada tüm rat gruplarına dokuz gün boyunca silymarin, son gün parasetamol verilmiştir. Histopatolojik olarak parasetamol toksisitesinde silymarin ile tedavi edilen grupta normal dzeyelele yaklaştığını saptamışlardır.

Murali ve ark. (82) smilax zeylanica'nın parasetamol kaynaklı kaynaklı karaciğer toksisitesinde etkilerini araştırdıkları çalışmada toksik grupta ALT, AST, T.BİL, ALP düzeylerinin kontrol gruba göre istatikselsel anlamlı olarak artmış, tedavi grubundaki değerlerin kontrol gruba göre yakın olduğu ve toksik gruba göre tedavi grubundaki değerlerin istatikselsel olarak anlamlı olduğunu saptamışlardır.

Çalışmamızda kontrol grupta serum GGT:1.6±1 U/L, toksik grupta GGT:3±3.8 U/L, tedavi grubunda GGT:1,7±0,8 U/L bulunmuş olup, toksik grupta kontrol grubuna göre artış, tedavi grubunda da toksik gruba göre azalma olmakla birlikte istatikselsel anlamlılık saptanmamıştır.

Lebda ve ark. (83) parasetamol kaynaklı kronik hepatotoksisite de ginger'in etkilerini inceledikleri çalışmada serum GGT düzeylerinin tedavi grubunda arttığı, diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda literatür taramasında asetaminofen hepatotoksisitesinde GGT zerine fazla çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan deneyselsel çalışmalarda asetaminofen toksisitesinde karaciğerde histopatolojik olarak nekroz, inflamasyon hasarı ve balon dejenerasyon gözlendiği belirtilmektedir (84). Ancak bu çalışmalarda kullanılan asetaminofen ve silymarin dozlarının farklı doz ve srelerde uygulandığı dikkati çekmektedir.

Bizim çalışmamızda tek doz APAP ve silymarin kullanılan rat gruplarında önemli bir histopatolojik değişiklik saptanmamıştır. Bizim çalışmamıza benzer olarak Hacettepe üniversitesinde Turgut ve ark. (85) karvakolun hepatoprotektif etkisini göstermek için oluşturdukları asetaminofen toksisitesindeki 24. saatin sonunda gruplar arasında histopatolojik açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır. Selvam ve ark. (81) yapmış olduğu çalışmada 8 gün silymarin tedavisinden sonra yüksek dozda (2500 mg/kg) parasetamol toksisitesi geliştirmiştir. Toksik grupta histopatolojik olarak yaygın hemoroji ve nekroz grüldüğü, silymarin tedavisi yapılanlarda normal olduğu gözlenmiştir. Shito ve ark. (86) ratlarda galaktozaminle fulminan hepatit nekroz oluşum zamanı araştırdıkları çalışmada geliştirdikleri nekrozun tam olarak 48. saatte ortaya çıktığını saptamışlardır. Eskişehir Osmangazi Üniversitesinde Orhan ve ark. (87) asetaminofene bağlı nekroz gelişim zamanını ve flumazenilin etkinliğini araştıran ön çalışmada tüm ratlarda nekrozun 72. saatte geliştiğini saptamışlardır. Trakya Üniversitesinde Yayla ve ark. (88) yaptığı benzer protokollü asetaminofen toksisitesinde 24.saat'te histopatolojik olarak hepatosit nekrozuna rastlanmamıştır. Yukarıda belirtildiği gibi çalışmamızda 1250 mg/kg tek doz asetaminofenle 24. saatte nekroz gözlenmemesi çalışmanın protokolu ile ilgili olduğu gözlemlenmiştir.

Birçok hastalığın ve toksisitenin etyopatogenezinde oksijen radikallerinin lipid peroksidasyonunu artırması ile özellikle hücre membranı ve organellerinin hasarı suçlanmaktadır. Lipid peroksidasyonu sonucu ortamda malondialdehit (MDA), aldehit düzeyleri ve hidrokarbon gazları artar. Mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olan bu atık ürünlerin özellikle MDA'nın doku serum ve vücut sıvılarındaki düzeyi lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (89).

Çalışmamızda kontrol, asetaminofen toksisitesi ve silimarin tedavisi yapılan gruplarda karaciğer dokusundaki MDA düzeyleri ölçülerek gruplar arası karşılaştırıldı. Kontrol grupta MDA:1.094±0.29 nmol/gr, toksik grupta MDA:1.797±0.148 nmol/gr, tedavi grubunda MDA: 1.548±0.098 nmol/gr saptanmış olup, istatistiksel anlamlı bulundu. Toksik grupta oldukça yüksek olan MDA düzeyleri silymarin tedavi grubunda anlamlı olarak düşük idi. Literatürde gerek asetaminofenle oluşturulan toksik hepatit modelinde, gerekse CCL4 yapılan hepatotoksisite MDA düzeyleri çalışmamızla uyumlu bulunmuştur. Aktaş ve ark. (90) asetaminofen toksisitesinde L-karnitin etkilerini inceledikleri çalışmada, Shaker ve ark. (75) CCL4 kaynaklı hepatotoksisite de silymarin'in etkilerini araştırdıkları çalışmada ve Pawan ve ark. (91) asetaminofen kaynaklı hepatotoksisite de *ageratum conyzoides* L.'in etkilerini araştırdıkları çalışmada MDA düzeyinin toksik gruplarda anlamlı olarak yüksek tedavi

gruplarında ise anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmalarda GSH düzeyi toksik grupta düşük tedavi grubunda ise anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Elektron transferi enerji üretimi ve birçok metabolik işlevde gerekli olan serbest radikaller nötralize edilmezlerse birikerek ciddi hasarlara neden olurlar. Endojen ve eksojen antioksidanlar artmış serbest radikallerin oksidasyonunu önlerler. Endojen enzimatik olmayan antioksidanların başında gelen glutatyon tüm hücrelerde milimolar konsantrasyonlarda bulunur. Aminoasit transportu, proteinlerin sülfidril gruplarının redükte kalmasını sürdürme ve okside edici moleküllere ve elektrofilik ksenobiyotiklere karşı koruma gibi çeşitli fonksiyonları yerine getirir. Artmış oksidatif strese veya GSH sentezinin yeterliği olmadığı diğer durumlarda ortamda biriken oksijen radikalleri lipid peroksidasyonun artmasına yol açarak vitaliteyi bozar. Yapılan bazı çalışmalarda APAP ile geliştirilen hepatotoksisite GSH düzeylerinde azalmaya ve hepato nekroza geliştiği gösterilmiştir. Diğer bazı çalışmalarda ise GSH düzeylerinde önemli bir değişiklik gösterilememektedir. Bu farklılıklar GSH biyoritmindeki değişikliklerle ilgili olabilir (92,93).

Çalışmamızda kontrol grupta GSH:5.57±0.472 µmol/g, , toksik grupta GSH:6.39±1.55 µmol /g, silymarin tedavi grubunda GSH:6.65±0.7 µmol /g saptanmış olup gruplar arası anlamlı farklılık bulunmamıştır. Mirochnitchenko ve ark. (94) yaptıkları asetaminofen hepatotoksisite çalışmasında toksik grupta 1. Saatte bakılan karaciğer GSH düzeylerinin azaldığı, 8.saatte normal karaciğer GSH düzeyine geldiğini tespit etmişlerdir. Benzer olarak Meotti ve ark. (95) APAP verdikten 4 saat sonra hepatik GSH' in azaldığını 24 saat sonra ise normal düzeyde olduğunu belirtmişlerdir ve karaciğerin savunma gücüne bağlamışlardır. Masaya ve ark. (86) farelere 300 mg/kg APAP uygulanan bir çalışmada 6, 24 ve 48 saat sonunda sülfidril grup derişimine bakılmıştır. Uygulama sonrası sülfidril gruplarında gözlenen azalmanın 6 saat sonra artmaya başlayarak 24 saat sonunda pik yaptığı ve 48 saatin sonunda yeniden düşüşe geçtiği gösterilmiştir. GSH'nun hepatositteki sülfidril gruplarının ana kaynağı olup, gözlenen artışın hepatositin adaptif yanıtı ile ilişkili olabileceği ve sonraki dönemdeki düşüşün ise ROS detoksifikasyonundan kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Biz çalışmamızda deneklerin sakrifikasyonunu 24. saatte yapmış olduğumuzda dolayı istenilen GSH düzeylerine ulaşamamış olabilir.

Sonuç olarak ratlarda 1250 mg/kg dozda asetaminofen'in karaciğer transaminazları ve doku MDA düzeyinde yükselmeye yol açtığı, silymarin'in serum transaminazlarda belirgin düzelme sağladığı, karaciğer dokusunda MDA düzeyini azalttığı tespit edilmiştir. Bu

bulgularla silymarin'in hepatoprotektif etkisi olduğu dűşünűlebilir. Histopatolojik inceleme ve doku GSH düzeylerinde beklenen sonuç elde edilememiştir. Konu ile ilgili olarak ileride planlanan çalışmalarında asetaminofen toksisitesinin daha yüksek dozlarda, hepatoprotektif etkisi araştırılan molekűllerin daha uzun sürede kullanılması, özellikle histopatolojik değerlendirmenin en erken 48-72. saatlerde yapılması uygun olacaktır. Planlanan bu tür çalışmalarında silymarin'in birçok diğer patolojilerde olası sistemik antiinflamatuvar ve antineoplastik etkilerinin araştırılması yararlı olabilir.

SONUÇLAR

Çalışmamızda asetaminofen toksisitesinin yol açtığı hepatotoksisite de silymarin'in antioksidan etkileri biyokimyasal ve mikroskopik düzeyde araştırılmıştır. APAP ile oluşturulan hepatosit hasarında biyokimyasal olarak ALT, AST, ALP, GGT, T.BİL, D.BİL düzeyleri, doku düzeyinde lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA ve antioksidan aktiviteyi gösteren GSH düzeyleri incelenerek aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

1. Toksik hepatit grubunda serum ALT, AST, ALP, Bilirubin düzeyleri, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu.
2. Silymarin uygulanan tedavi grubunda serum ALT, AST, ALP, Bilirubin düzeyleri, toksik hepatit grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük bulundu.
3. Toksik hepatit grubunda karaciğer doku MDA düzeyi, kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu.
4. Toksik hepatit grubu ile tedavi grubu arasında karaciğer doku MDA düzeyi istatistiksel anlamlı olarak düşük bulundu.
5. Karaciğer doku GSH ve serum GGT düzeyleri, gruplar arasında istatistiksel anlamlı bulunmadı.
6. Gruplar arasında karaciğer histopatolojik değerlendirmede anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Sonuç olarak ratlarda 1250 mg/kg dozda asetaminofen'in karaciğer transaminazları ve doku MDA düzeyinde yükselmeye yol açtığı, silymarin'in serum transaminazlarda belirgin düzelme sağladığı, karaciğer dokusunda MDA düzeyini azalttığı tespit edilmiştir. Bu bulgularla silymarin'in hepatoprotektif etkisi olduğu düşünülebilir. Histopatolojik inceleme

ve doku GSH düzeylerinde beklenen sonuç elde edilememiştir. Konu ile ilgili olarak ileride planlanan çalışmalarda asetaminofen toksisitesinin daha yüksek dozlarda, hepatoprotektif etkisi araştırılan moleküllerin daha uzun sürede kullanılması, özellikle histopatolojik değerlendirmenin en erken 48-72. saatlerde yapılması uygun olacaktır. Planlanan bu tür çalışmalarda silymarin'in birçok diğer patolojilerde olası sistemik antiinflamatuvar ve antineoplastik etkilerinin araştırılması yararlı olabilir.

ÖZET

Asetaminofen, dünyada sık olarak kullanılan ateş düşürücü ve ağrı kesiciler arasında en önde gelen ilaçtır. Yüksek doz alındığında ölümlü sonuçlanabilen ciddi karaciğer yetmezliğine sebep olmaktadır. Çalışmada silymarin'in asetaminofen hepatotoksisitesinde etkisi incelendi.

Çalışma metodunda 40 adet Wistar albino erkek rat rastgele 4 eşit gruba ayrıldı. 1.grub kontrol grubuna intraperitoneal 1 ml %0.9 serum fizyolojik, 2. Grub silymarin grubuna 100mg/kg ip. silymarin, 3. grub toksik gruba 1250 mg/kg asetaminofen ip, 4. grub tedavi grubuna 1250 mg/kg ip. asetaminofen uygulamasından 4 saat sonra 100 mg/kg silymarin ip. uygulandı. Tüm gruplar 24 saat sonunda sakrifiye edildi. Deney sonunda biyokimyasal analizlerle alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalen fosfataz, gamaglutamiltransferaz, total bilirubin, direkt bilirubin, karaciğer doku malondialdehit, glutatyon düzeyi ve hispatolojik incelemeler yapıldı.

Tedavi grubunda, toksik grupta artmış olan alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalen fosfataz, total bilirubin seviyelerinde düşme saptanıp istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit seviyesi toksik grupta artmış, tedavi grubunda ise düşme tespit edilip istatistiksel anlamlı saptandı. Toksik grupta azalması beklenen glutatyon düzeyleri kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. Gruplar arasında karaciğer histopatolojik değerlendirilmesinde anlamlı farklılık gözlenmedi. Sonuç olarak 1250 mg/kg dozda asetaminofen'in karaciğer transaminazları ve doku malondialdehit düzeyinde yükselmeye yol açtığı, silymarin'in serum transaminazlarda belirgin düzelme sağladığı, karaciğer dokusunda malondialdehit düzeyini azalttığı tespit

edilmiştir. Bu bulgularla silymarin'in hepatoprotektif etkisi olduğu düşünülebilir. Konu ile ilgili olarak ileride planlanan çalışmalarda asetaminofen toksisitesinin daha yüksek dozlarda, hepatoprotektif etkisi araştırılan moleküllerin daha uzun sürede kullanılması, özellikle histopatolojik değerlendirmenin en erken 48-72. saatlerde yapılması uygun olacaktır. Planlanan bu tür çalışmalarda silymarin'in birçok diğer patolojilerde olası sistemik antiinflamatuvar ve antineoplastik etkilerinin araştırılması yararlı olabilir.

Anahtar kelimeler: Silymarin, asetaminofen, toksik hepatit, antioksidan.

PROTECTIVE EFFECTS OF SILYMARIN ON ACETAMINOPHEN-INDUCED TOXIC HEPATITIS

SUMMARY

Acetaminophen is one of the drugs in the world which are commonly used as analjezic and antiphyretic. It can cause liver damage that can result with death when it is taken as high doses. In our study we proposed to examine the silymarin effect on acetaminophen induced hepatotoxicity

In this study, 40 wistar albino rats are randomly divided into 4 groups. 1 ml % 0.9 serum physiologic was injected to intraperitoneal area in control group (group 1). 100 mg/kg silymarin was also injected to intraperitoneal area in second group (group 2). 1250 mg/kg acetaminophen was injected to intraperitoneal area in toxic group (group 3). And after 4 hours 1250 mg/kg intraperitoneal injection of acetaminophen to treatment group (group 4) 100 mg/kg of silymarin was administered to this group. All rats were sacrificed after 24 hours and we did biochemical analyses of acetaminophen, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, glutamyltransferase, total bilirubin, direct bilirubin and liver tissue malondialdehyde, glutathione levels and histopathological examinations.

In treatment group, acetaminophen, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, total bilirubin, direct bilirubin levels which are found increased in toxic group, are found as decreased and statistically significant. The malondialdehyde, a lipid peroksidation product, levels are high in toxic group and low in treatment group. This was statistically significant glutathione levels in toxic and treatment

groups are not statistically different. There was no significant difference between groups, liver histopathological features. As a result, it was found that. 1250 mg/kg acetaminophen cause increase in liver transaminase and tissue malondialdehyde levels, silymarin helps improvement of liver transaminase levels and decrease of malondialdehyde levels in liver tissue. With this findings it can be assumed that silymarin has hepatoprotective effect. About this subject for studies planned to be done in the future, we suggest high dose usage of acetaminophen toxicity and long time usage of molecules that are searched for hepatoprotectivity and evaluation of histopathological features to be done between 48-72 hours. Also searching for other systemic antiinflammatory and antineoplastic effects of silymarin can be useful.

Key words: Silymarin, acetaminophen, toxic hepatitis, antioxidant.

KAYNAKLAR

1. Yarsan E. Lipid Peroxidation and Prevention Process. YYU Vet Fak Derg 1998;9(1-2):89-95.
2. Stehbens W.E. Oxidative stress, toxic hepatitis and antioxidants with particular emphasis on zinc. Exp Mol Pathol 2003;75(3):265-76.
3. Arıcı S. Toxic Hepatitis. Pamukkale Medical Journal 2008;1(2):113-19.
4. Zimmerman H.J, Ihsak K.G. Hepatic injury due to drugs and toxins. In: MacSween R.N.M, Burt A, Portman B. (Eds.). Pathology of the liver, 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2002:622–709.
5. Erenel G, Erbaş D, Arıcıoğlu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. Gazi Tıp Derg 1992;3:243-50.
6. Foster S. Milk thistle: Silybum marianum. Austin (TX): American Botanical Council 1990.
7. Mattia C, Coluzzi F. What anesthesiologists should know about paracetamol (acetaminophen). Minerva Anesthesiol 2009;75:644-53.
8. Bessems, J.G., and Vermeulen N.P. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity:molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. 2001;31(1):55-138.
9. Heard, K.J. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. N Engl J Med 2008;359(3):285-92.
10. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi, O, Tunca R, Erginsoy S ve ark. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. Exp Toxicol Pathol 2007;59(2):121-8.
11. Bartlett D. Acetaminophen toxicity. J Emerg Nurs 2004;30(3): 281-3. PMID:15192687 .

12. Duthie S.J. Berry phytochemicals, genomic stability and cancer: evidence for chemoprotection at several stages in the carcinogenic process. *Mol Nutr Food Res* 2007;51(6):665-74.
13. Waters E, Wang JH, Redmond HP, Wu QD, Kay E, Hayes DB. Role of taurine in preventing acetaminophen-induced hepatic injury in the rat. *Am j physiol gastrointest liver physiol* 2001;280:1274-79.
14. Camu F, Vanlersberghe C. Pharmacology of systemic analgesics. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2002;16:475-88.
15. Kiang TK, Ensom MH, Chang TK. UDP-glucuronosyltransferases and clinical drug-drug interactions. *Pharmacol Ther* 2005;106:97-132.
16. Graham GG, Scott KF, Kienen F. Mechanism of action of paracetamol. *Am J Ther* 2005; 12:46-55.
17. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL (çeviri: Ö. Süzer). *Goodman&Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:671-715.
18. Rumack B.H, Peterson R.C, Koch G.G. Acetaminophen overdose: 662 cases with evaluation of oral acetylcysteine treatment. *Arch Intern Med* 1981;141:380-5
19. Krenzelok E.P, Leikin J.B. Approach to the poisoned patient. *Dis. Mon.* 1996;42:509-608.
20. Anker A.L, Smilkstein M.J. Acetaminophen concepts and controversies. *Emerg. Med. Clin. North Am.* 1994;12:335-49.
21. Johnson JM. Over-the-counter Counter Overdoses. A review of Ibuprofen, Acetaminophen, and Aspirin Toxicity in Adults. *Advanced Emergency Nursing Journal* 2008;30:369-78.
22. Rolband GC, Marcuard SP. Cimetidine in the treatment of acetaminophen overdose. *J Clin Gastroenterol* 1991;13:79-82.
23. Flanagan RJ, Meredith TJ. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *Am J Med* 1991;91:131-9.
24. Terneus MV, Brown JM, Carpenter AB, Valentovic MA. Comparison of Sadenosyl-L-methionine (SAME) and N-acetylcysteine (NAC) protective effects on hepatic damage when administered after acetaminophen overdose. *Toxicology* 2008;244:25-34.
25. Draganov P, Durrence H, Cox C. Alcohol-acetaminophen syndrome. *Postgraduate Medicine.* 2000;107:189-95.
26. Schilling A, Corey R, Leonard M, Egtesad B. Acetaminophen: Old drug, new warnings. *Cleve Clin J Med.* 2010;77(1):19-27.
27. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989;97:439-45.

28. Gotthardt D, Riediger C, Karl Heinz W. Fulminan hepatic failure: etiology and indications for liver transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:5-8.
29. Jos GM, Bessems and Nico PE, Vermeulen. Paracetamol (Acetaminophen)-induced toxicity: Molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology* 2001;31(1):55-138.
30. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA hasarı ve kromotografik yöntemlerle tespit edilmesi. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi* 2009;20(2):79-83.
31. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 199;91(suppl 3C):14-22.
32. Şenses VS, Özyazgan S, Akkan AG. Serbest oksijen radikalleri-1: Vücuttaki antioksidan sistemler. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi* 1999;3(1-2):5-11.
33. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengesi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998;11:336-41.
34. Çaylak E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2011;9(1):73-83.
35. Adam B, Yiğitoğlu MR. Tıbbi Biyokimya. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2012, s.549-58.
36. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları, 1995, s.1-73.
37. Kavas G.Ö. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri, *Türkiye Klinikleri* 1989;9:18.
38. Moslen M.T. Reactive Oxygen species in normal Physiology, cell injury and phagocytosis. *Free Radicals in Diagnostic Medicine* (Editors: D Armstrong) Plenum Press, New York. 1994, p.1-15.
39. Reed DJ. Mechanisms of chemically induced cell injury and cellular protection. (E. Hodgson; R.C. Smart, Editörler). *Introduction to biochemical toxicology*. United States of America: Wiley and Sons Inc; 2000, s. 221-53.
40. Bray TM, Taylor CG. Enhancement of tissue glutathione for antioxidant and immune functions in malnutrition. *Biochemical Pharmacology* 1994;47: 2113-23.
41. Liebman JF, Greenberg A. Mechanistic principles of enzyme activity. New York: VCH Publishers; 1988, p. 279-314.
42. Yanbeyi S. Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole'ün Tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. (doktora tezi, basılmamış). Ondokuz Mayıs Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun. 1999.

43. Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Van Zanden J, Van Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2001;10:141-52.
44. Ames B.N, Shigenaga Mk, Hagen Tm. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90:7915–22.
45. Özdem S, Şadan G. Serbest oksijen radikallerinin oluşum ve klinik açıdan önemi. *AÜ Tıp Fak. Derg* 1994;11(1):63-71.
46. Aslan R, Şekeroğlu R, Bayıroğlu F. Serbest radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *YYÜ Sağ. Bil. Ens Derg* 1995;2:137-42.
47. Bayramoğlu M, Candan F. Antioxidant properties of volatile oils obtained from *rtemisia taurica* Willd. and *Salvia kronenburgii* Rech. Fil. plants and their effects on xanthine xidase. *African Journal Of Biotechnology*.2014;13(5):683-92.
48. Sayed M.D. Traditional medicine in health care. *Journal of Ethophannacology* 1980;2:19-22.
49. Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M. *Farmasotik Botanik*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları 2004;88:281,324-5.
50. Morazzoni P, Montalbetti A, Malandrino S. Comparative pharmacokinetics of silipide and silymarin in rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1993;18:289-297.
51. Dixit N, Baboota S, Kohli K, Ahmad S, Ali J. Silymarin: A review of pharmacological aspects and bioavailability enhancement approaches. *Indian J. Pharmacol* 2007;39(4):172-79.
52. Karamolla A. Akut viral hepatit vakalarında (legalon) Silymarin kullanımı. Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Hastanesi, 1991.
53. Şentürk H. Renal iskemi-Reperfüzyonu Sırasında Sıçan Böbreğinde Oluşan Oksidatif Stres Hasarına Silimarin ve Likopen Etkisi. Doktora Tezi, ESOGÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
54. Thakur S.K. Silymarin-A hepatoprotective agent, *Gastroenterol* 2002;6:78-82.
55. Halim AB, El-Ahmady O, Hassab-Allah S, et al. Biochemical effect of antioxidants on lipids and liver function in experimentally-induced liver damage. *Ann Clin Biochem* 1997;34:656-63.
56. Miguez MP, Anundi I, Sainz-Pardo LA. Hepatoprotective mechanism of silymarin: no evidence for involvement of cytochrome P450 2E1. *Chem Biol Interact* 1994;91:51-63.
57. Campose R, Garrido A, Guerra R. at Velenzuela.A. Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletionand lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Plant Med* 1989;55:417-9.

58. Fraschini F, Demartini G, Epasti D. Pharmacology of Silymarin. *Clin. Drug Invest* 2002;79:313-6.
59. Shotorbani Azarmir. Tüberküloz hastalarında yaşam kalitesi ölçülmesi ve Silymarin'in Anti-Tüberküloz ilaç kaynaklı hepatotoksisite üzerine etkisinin deney hayvanlarında araştırılması, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006.
60. El-Bahay C. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;158:253-60.
61. Luper, S. A review of plants used in the treatment of liver disease: Part 1, *Alter Med Nev* 1998;3: 410-21.
62. Kock H.P, Bachner J, and Loffler E. Silymarin: potent inhibitor of cyclic AMP Phosphodiesterase, *Methods Find Exp Clin pharmacol* 1985;7:409-13.
63. Ferenci P, Dragosics B, Dittrich H, Frank H, Bendal L, Lochs H. Randomized controlled trials of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver. *J Hepatol* 1989;9:105-1
64. Pradhan S.C, and Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med Res* 2006;124:491-504.
65. Karimi G, Ramezani M, and Tahoonian Z. Cisplatin nephrotoxicity and protection by Milk thistle extract in rats, *eCAM* 2005;2(3):383-6.
66. Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I, Raghu D, Rao DN, Reddy PP. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. *Clin Chim Acta* 2000;293:53-62.
67. Zakowski JJ, Tappel AL. A semiautomated system for measurement of glutathione in the assay of glutathione peroxidase. *Anal Biochem* 1978;89(2):430-6.
68. Benson GD, Koff RS, Tolman KG. The therapeutic use of acetaminophen in patients with liver disease. *Am J Ther* 2005;12:133-41.
69. Ersöz G. Toksik hepatit. İltar T, Özütemiz Ö, Bor S, Aydın A, Tekeşin O, Ersöz G ve ark. (Editörler). *Gastroenteroloji'de. İzmir: İzmir Güven Kitabevi; 2011:1022-31.*
70. Goodman LS, Gilman A. *The Pharmacological Basis of Theurapeutics. Eight Edition. New York: Permagon Press 1991;(1):656-9.*
71. Allameh A, Vansoun EY, Zarghi A. Role of glutathione conjugation in protection of weanling rat liver against acetaminophen induced hepatotoxicity. *Mechanisms of ageing and development* 1997;95:71-9.
72. Stanca E, Serviddio G, Bellanti F, Vendemiale G, Siculella L, Giudetti AM. Down-regulation of LPCAT expression increases platelet-activating factor level in cirrhotic rat liver: potential antiinflammatory effect of silybin. *Biochim Biophys Acta* 2013;1832(12):2019-26.

73. Di Sario A, Bendia E, Taffetani S, Omenetti A, Candelaresi C, Marzioni M et al. Hepatoprotective and antifibrotic effect of a new silybin-phosphatidylcholine-Vitamin E complex in rats. *Dig Liver Dis.* 2005;37(11):869-76.
74. Wang Y, Zhang L, Wang Q, Zhang D. Recent advances in the nanotechnology-based drug delivery of Silybin. *J Biomed Nanotechnol* 2014;10(4):543-58.
75. Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S. Silymarin, the antioxidant component and *Silybum marianum* extracts prevent liver damage. *Food and Chemical Toxicology* 2010;48:803–6.
76. Metwally M, El-Gellal A, El-Sawaisi S. Effects of silymarin on lipid metabolism in rats. *World Appl. Sci. J.* 2009;6(12):1634-7.
77. Galal RM, Zaki HF, Seif El-Nasr MM, Agha AM. Potential protective effect of honey against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Arch Iran Med.* 2012;15(11):674-80.
78. Lang I, Nekam K, Gonzalez-Cabello R. Hepatoprotective and immunological effects of antioxidant drugs. *Tokai J Exp Clin Med* 1990;15:123-7.
79. Sabina E.P, Pragasam S.J, Kumar S, Rasool M. 6- Gingerol, an active ingredient of ginger, protects acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice, *Journal of Chinese Integrative Med* 2011;9(11):1264-9.
80. Mansour H.H, Hafez H.F, and Mohamed F.N. Silymarin modulates cisplatin induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Journal of Biochemistry and Molecular Biol* 2006;39(6):656-61.
81. N. Thamizh Selvam, V. Venkatakrishnan, R. Dhamodharan, S. Murugesan and S. Damodar Kumar. Hepatoprotective activity of methanolic extract of *Syzygium jambos* (Linn.) leaf against paracetamol intoxicated Wistar albino rats. *Ayu* 2013;34(3):305-8.
82. Murali A, Ashok P, Madhavan V. Effect of *Smilax zeylanica* roots and rhizomes in paracetamol induced hepatotoxicity *J Complement Integr Med* 2012;9(1):doi:10.1515/1553-3840.1639.
83. Mohamed A Lebda, Nabil M Taha, Mahdy A Korshom, Abd El-Wahab. A Mandour and Raghda I Goda Ginger (*Zingiber officinale*) potentiate paracetamol induced chronic hepatotoxicity in Rats. *Academic Journals* 2013;7(42):3164-70.
84. Yen FL, Wu TH, Lin LT, Cham TM, Lin CC. Nanoparticles formulation of *cuscuta chinensis* prevents acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Food and chemical toxicology* 2008;46:1771-77.
85. Turgut H. C, Erden A, Akıncı S. B, Sarıcaoğlu F, Sevgen Ö. Asetaminofen'in Neden Olduğu Hepatotoksitede Karvakrol'ün Etkisinin Değerlendirilmesi Ve N-Asetil Sistein ile Karşılaştırılması. *Anestezi Dergisi* 2014;22(1):13-7.
86. Masaya Shito, Ulysses J. Balis, Ronald G. Tompkins, Martin L. Yarmush, Mehmet Toner. A Fulminant Hepatic Failure Model in the Rat *Digestive Diseases and Sciences* August 2001;46(8):1700-8.

87. Orhan, Z. Ratlarda oluşturulan asetaminofen hepatotoksitesi üzerine flumazenilin antioksidan aktivitesinin araştırılması ve histopatolojik incelenmesi (tez). Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2012.
88. Yayla, C. Asetaminofen ile oluşturulan toksik hepatitte rhein'in olası etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2013.
89. Aydın S, Atukeren P, Cakatay U, Uzun H, Altug T. Gender-dependent oxidative variations in liver of aged rats. *Biogerontology* 2010;11:335-46.
90. Aktaş Ö, Eskiocak S, Sayılan Özgün G, Yalçın Ö, Süt N. Asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan ratlarda L-karnitinin etkisi. *Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem* 2013;38(4):475–82.
91. Pawan Kumar Verma, Rajinder Raina, Mudasir Sultana, Shahid Prawez, Neha Jamwal. Hepatoprotective mechanisms of *Ageratum conyzoides* L. on oxidative damage induced by acetaminophen in Wistar rats. *Free radicals and antioxidants* 2013;3(2):73-7.
92. Konukoğlu D, Akçay T. Glutasyon metabolizması ve klinik önemi, *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 1995;15:214-8
93. Kondala R.A, John J.M, Leonard A.H. N-Acetylcysteine a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Curr Opin Pharmacol* 2007;7:355-9.
94. Mirochnitchenko O, Weisbrot-Lefkowitz M, Reuhl K, Cheni L, Yangi C, Inouye M. Acetaminophen Toxicity Opposite Effects Of Two Forms Of Glutathione Peroxidase. *The J Biol Chem.* 1999;274(15):10349-55.
95. Meotti FC, Rosa JM, Bracardo PS, Balz D, Waltrick AP, Bagio A et al. Protective effect of crude extract from *wedelia paludosa* on the hepatotoxicity induced by paracetamol in mice. *J Pharm Pharmacol.* 2006;58:137-42.

EKLER

Ek 1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI


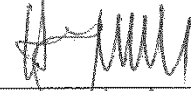

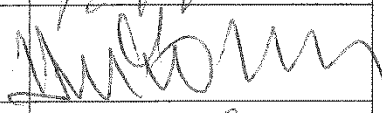


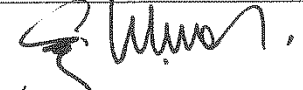

EDİRNE

Oturum Sayısı: 03

Karar Tarihi: 05.04.2013

KARAR NO: 2013.03.06

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Gülbin Ünsal'ın yaptığı Araş.Gör.Dr.Abdilkerim Oyman'ın Tıpta uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2013/33 protokol nolu "Asetaminofen ile Oluşturulan Toksik Hepatitte Silymarin'in Koruyucu Etkileri" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr.Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	

Ek 2

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ SÖZLEŞMESİ

PROJE NO : 2013-98

PRJ NİTELİĞİ : Tıpta Uzmanlık

1- PROJE BAŞLIĞI

Asetaminofen ile Oluşturulan Toksik Hepatitte Silymarin'in Koruyucu Etkileri

2- PROJE PERSONELİ

Adı ve Soyadı	Unvanı	Telefon (İş)
Proje Yöneticisi : Gülbin ÜNSAL	Prof. Dr.	Tel:
Araştırmacılar : Abdilkerim OYMAN	Arş. Gör. Dr.	Cep: 532 524 34 26
Nurettin AYDOĞDU	Prof. Dr.	Fax:
Ufuk USTA	Prof. Dr.	

3-

PROJE BÜTÇESİ


Teçhizatın Tanımı : Detay listesi ektedir.		Fiyatı (TL)
Ekonomik Kod		
	03.2 Tüketime Yönelik Mal ve Malzeme Alımları	4.590,00 TL
	03.3 Yolluklar	
	03.5 Hizmet Alımları	435,00 TL
	03.7 Menkul Mal, Gayrimaddi Hak Alım, Bakım ve Onarım Giderleri	1.450,00 TL
	06.1 Mamul Mal Alımları	
TOPLAM ÖDENEK		6.475,00 TL

4- PROJENİN GELİŞİMİ :

1. Projenin Kabul Tarihi: 25.06.2013	4. I. Rapor Tarihi : 03.01.2014	Sonuç : (+/-)
2. Projenin Başlama Tarihi : 03.07.2013	5. II. Rapor Tarihi :	Sonuç : (+/-)
3. Projenin Bitiş Tarihi:	6. III. Rapor Tarihi :	Sonuç : (+/-)
4. Projenin Süresi: 12 Ay	7. IV. Rapor Tarihi :	Sonuç : (+/-)
	8. V. Rapor Tarihi :	Sonuç : (+/-)
	9. Sonuç Raporu Tarihi: 03.07.2014	Sonuç : (+/-)

5- İLGİLİ BÖLÜM VE FAKÜLTE : Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

6- PROJENİN UYGULANMASI :

1. Bu proje 2547 sayılı YÖK Kanununun 4684 sayılı Kanunla değişik 58. maddesi gereğince, Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma Projeleri Hakkında Yönetmelik ve Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Uygulama Yönergesi çerçevesinde yürütülür.		
2. Proje süresinde ve harcama fasıllarında Rektörlük onayı alınmadan değişiklik yapılamaz.		
3. Proje Yöneticisi her 6 ayın sonunda gelişme raporunu, Bölüm Başkanlığı ve ilgili Dekanlık veya Enstitü Müdürlüğü aracılığı ile Rektörlüğe iletmekle yükümlüdür.		
4. Projelerden alınan teçhizat tüm öğretim üyelerinin kullanımına açıktır.		
5. Bir ay geçtiği halde gelişme raporu verilmemiş veya süresi bitmiş olup süre uzatımı talebinde bulunulmamış projeler iptal edilir. Bakiye ödenek, BAP Komisyonu tarafından kabul edilecek yeni projelere tahsis edilir veya diğer projelere aktarılır.		
Adı ve Soyadı	İmza	Tarih
Proje Yöneticisi : Prof. Dr. Gülbin ÜNSAL		18.07.2013

Komisyon Başkanı

Prof. Dr. Süleyman PIŞKIN
Rektör Yardımcısı