

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİLYMARİN'İN ASETAMİNOFEN (PARASETAMOL) KAYNAKLI
KARACİĞER VE BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE
İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURİYE EZGİ BEKTUR

DANIŐMAN: PROF. DR. CENGİZ BAYÇU

HAZİRAN 2012

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SİLYMARİN'İN ASETAMİNOFEN (PARASETAMOL) KAYNAKLI
KARACİĞER VE BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE
İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURİYE EZGİ BEKTUR

DANIŐMAN: PROF. DR. CENGİZ BAYÇU

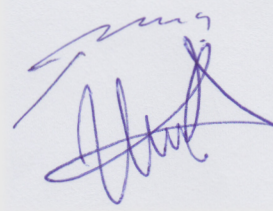
KABUL VE ONAY SAYFASI

Nuriye Ezgi BEKTUR'un Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Silymarin'in Asetaminofen (Parasetamol) kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerine iyileştirici etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih

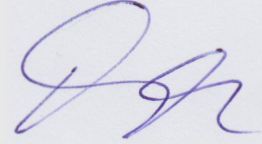
21.06.2012

Üye Prof. Dr. Cengiz BAYGU



Üye Prof. Dr. Varol SAHİKTÜRK

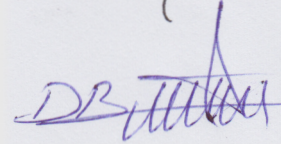
Üye Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ



Üye Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN



Üye Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25/06/2012 tarih ve 319/4282 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

ÖZET

Asetaminofen (Parasetamol, APAP) dünyada yaygın olarak kullanılan analjezik (ağrı kesici) ve antipiretik (ateş düşürücü) bir ilaç olup yüksek dozda alındığında ciddi karaciğer ve böbrek hasarına neden olmaktadır. Çalışmamızda, Akdeniz’de yayılım gösteren *Silybum marianum* bitkisininin flavonolignanti olan Silymarin’in APAP ile oluşturulan karaciğer ve böbrek hasarındaki etkisi incelenmiştir.

Çalışmamızda 28 adet Swiss albino dişi fare kullanılmıştır. Deney düzeneği 4 gruptan oluşmaktadır. I. grup olan kontrol grubuna 7 gün boyunca intragastrik gavaj yoluyla 0.8 cc % 0.9 serum fizyolojik (SF), II. gruba 500 mg/kg APAP, III. gruba 7 gün boyunca her gün 100 mg/kg Silymarin ve IV. gruba ise 500 mg/kg APAP uygulanmasından 1 saat sonra ve 7 gün boyunca 100 mg/kg Silymarin uygulanmıştır. Rutin histolojik tekniklerden sonra preparatlar HE boyamasıyla incelendi. Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için dokulara TUNEL yöntemi uygulandı. Biyokimyasal analizlerde, AST ve ALT seviyeleri enzimatik kolorimetrik, BUN seviyesi kinetik UV testi, Kreatinin ise kinetik kalorimetrik yöntemiyle Roche modular Hitachi analizörü kullanılarak ölçüldü.

APAP verilen grupta karaciğerde v. sentralis etrafında apoptotik hücrelere, portal alanda, 3. zonda nekrotik hücrelere, sinüzoidlerde ve v. sentraliste dilatasyona ve konjesyona rastlanırken, özellikle vasküler yapıların çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Böbrekte ise proksimal tübül hücrelerinde hasara, genişlemiş Bowman boşluğuna, infiltrasyona ve vasküler yapılarda dilatasyona rastlandı. Silymarin uygulanan grupta minimal infiltrasyon gözlemlense de genel olarak biyokimya parametreleri ve histolojik analizler kontrol grubuna eşdeğerdir. APAP+Silymarin grubunda ise APAP'dan dolayı yükselen AST, ALT, Kreatinin ve BUN seviyeleri düşmüş, gerek histolojik yapının ve gerekse TUNEL reaksiyonunun kontrole benzer olduğu görülmüştür. Çalışmamızın sonucunda, APAP ile oluşturulan karaciğer ve böbrek hasarında Silymarin'in koruyucu bir antioksidan olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer, böbrek, silymarin, parasetamol

SUMMARY

Paracetamol (Acetaminophen, APAP) is an antipyretic and analgesic drug which is often used worldwide. However, an overdose can cause hepatotoxicity and renal toxicity in experimental animals and humans. *Silybum marianum*, a common Mediterranean herb, contains Silymarin which is a well known antioxidant. In our study, we examine Silymarin's role of APAP-induced toxicity in liver and kidneys.

In our study, we used 28 Swiss albino female mice. For this purpose, the animals were divided into four experimental groups and all applications are administrated by intragastric gavage in 0.8 cc saline: Group 1 was treated with saline for 7 days, group 2 was treated of APAP at 500 mg/kg, group 3 was treated Silymarin at 100 mg/kg for 7 days and group IV was treated with 500 mg/kg APAP and after 1 hour and then for 7 days treated with 100 mg/kg Silymarin. Formaline fixed liver and kidney tissue samples were then prepared with routine methods and stained with H-E for histologic examination. For evaluation of apoptotic cells TUNEL method was used. For AST, ALT levels enzymatic colorimetric method, for BUN levels kinetic UV test and for Creatine levels kinetic calorimetric method were applied using Roche modular Hitachi analyser.

In APAP-group, necrosis in livers and renal proximal tubulus degeneration, enlargement of Bowman space, dilatation and congestion of sinusoids and v. centralis, infiltration were markedly seen. Apoptotic cells around central vein and liver zone-3 hepatocytes were also observed. In Silymarin group, histology of liver and kidneys were similar to control groups except minimal cell infiltrations. In APAP+ Silymarin group, increased levels of AST, ALT, Creatine and BUN in paracetamol group were significantly decreased to control levels. TUNEL results were also similar when compared to control group. We suggest that, Silymarin may be a potential protective antioxidant in APAP-induced hepatotoxicity and renotoxicity.

Key Words: Liver, kidney, silymarin, paracetamol

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELEr VE KISALTMALAR	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Anatomi	2
<i>2.1.1 Karaciğer anatomisi</i>	2
<i>2.1.2 Böbrek anatomisi</i>	5
2.1.2.1 Böbreğin damarları	9
2.1.2.2 Lenf Drenajı	10
2.1.2.3 Sinirleri	10
2.2 Embriyoloji	11
<i>2.2.1 Karaciğer embriyolojisi</i>	11
<i>2.2.2. Böbrek embriyolojisi</i>	13
2.2.2.1 Böbrek gelişiminin moleküler kontrolü	15
2.2.2.2 Böbreğin pozisyonu	16
2.2.2.3 Böbreğin fonksiyonları	16
2.3 Histoloji	17
<i>2.3.1 Karaciğer histolojisi</i>	17
2.3.1.1 Karaciğer lobülü (Karaciğer lopçuğu)	17
2.3.1.2 Kan dolaşımı	18
2.3.1.3 Karaciğer lopçuğunun görevi	19
2.3.1.4 Karaciğer asinusunun yapısı ve işlevi	21
2.3.1.5 Karaciğer hücreleri	21
<i>2.3.2 Böbrek histolojisi</i>	25
2.4.1. Silymarin'in Genel Özellikleri	34
2.4.2. Silymarin'in farmakodinamiği	37
2.4.3. Silymarin'in terapötik etkisi	39
2.4.4. Silymarin'in etki mekanizması	41

2.5. Parasetamol (Asetaminofen)	41
2.5.1. <i>Parasetamol'ün Yapısı ve Özellikleri</i>	41
2.5.2. <i>Parasetamol Metabolizması</i>	43
2.5.3. <i>Parasetamol'ün analjezik etki mekanizması</i>	45
2.5.4. <i>Karaciğer toksisitesinde kullanılan parametreler</i>	46
2.6. Apoptoz ve Nekroz	49
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	53
3.1. Kimyasal Maddeler ve Uygulamaları	53
3.2. Deney Grupları	53
3.3 Karaciğer ve Böbrek Örneklerinin Değerlendirilmesi	54
3.3.1. <i>Karaciğer ve Böbrek için uygulanan doku takibi</i>	55
3.3.2. <i>Hematoksilen-Eozin Yöntemi</i>	55
3.3.3 <i>TUNEL Yöntemi</i>	56
3.4. Biyokimya Analizi	57
3.5. İstatistiksel Analiz	58
4. BULGULAR	59
4.1. İstatistiksel Bulgular	59
4.1.1 <i>Vücut ağırlıkları</i>	59
4.1.2. <i>Biyokimyasal Analiz</i>	61
4.1.3. <i>Karaciğere ait histolojik skorlama analizi</i>	61
4.1.4. <i>Böbreğe ait histolojik skorlama analizi</i>	61
4.2. Histolojik Bulgular	66
4.2.1. <i>Karaciğer dokusuna ait ışık mikroskopik bulgular</i>	66
4.2.2. <i>Böbrek dokusuna ait ışık mikroskopik bulgular</i>	67
4.3. TUNEL Bulguları	68
5. TARTIŞMA	89
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	106
KAYNAKLAR DİZİNİ	109
ÖZGEÇMİŞ	126

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Gruplar arasında deney sonu vücut ağırlığı farkları.....	59
Tablo 2: Karaciğer histolojik skorlama.....	63
Tablo 3: Böbrek histolojik skorlama.....	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Karaciğer anatomisi.....	2
Şekil 2. Böbrek anatomisi.....	7
Şekil 3. Karaciğer histolojisi.....	20
Şekil 4. Renal korpuskül (Böbrek cisimciği).....	27
Şekil 5. Silymarin izomerleri.....	35
Şekil 6. Parasetamol'ün kimyasal yapısı.....	42
Şekil 7. Parasetamol konjüгатları.....	43
Şekil 8. Parasetamol metabolizması.....	44
Şekil 9. Parasetamol kaynaklı hücre ölümü yolları.....	50
Şekil 10. Apoptozis yolları ve aşamaları.....	51
Şekil 11. Farelerin deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması.....	60
Şekil 12. Gruplar arası biyokimya parametrelerinin karşılaştırılması.....	60
Şekil 13. Karaciğere ait histolojik skorlama.....	65
Şekil 14. Böbreğe ait histolojik skorlama.....	65
Şekil 15. Kontrol grubuna ait karaciğer kesiti (H-E).....	69
Şekil 16. Kontrol grubuna ait karaciğer kesiti (TUNEL).....	70
Şekil 17. Parasetamol grubuna ait karaciğer kesiti (H-E).....	71
Şekil 17. Parasetamol grubuna ait karaciğer kesiti (H-E).....	72
Şekil 18. Parasetamol grubuna ait karaciğer kesiti (TUNEL).....	73
Şekil 19. Silymarin grubuna ait karaciğer kesiti (H-E).....	74
Şekil 20. Silymarin grubuna ait karaciğer kesiti (TUNEL).....	74
Şekil 21. Parasetamol+Silymarin grubuna ait karaciğer kesiti (H-E).....	75
Şekil 21. Parasetamol+Silymarin grubuna ait karaciğer kesiti (H-E).....	76

Şekil 22. Parasetamol+Silymarin grubuna ait karaciğer kesiti (TUNEL).....	77
Şekil 23. Kontrol grubuna ait böbrek kesiti (H-E).....	78
Şekil 24. Kontrol grubuna ait böbrek kesiti (TUNEL).....	79
Şekil 25. Parasetamol grubuna ait böbrek kesiti (H-E).....	80
Şekil 25. Parasetamol grubuna ait böbrek kesiti (H-E).....	81
Şekil 25. Parasetamol grubuna ait böbrek kesiti (H-E).....	82
Şekil 26. Parasetamol grubuna ait böbrek kesiti (TUNEL).....	83
Şekil 27. Silymarin grubuna ait böbrek kesiti (H-E).....	84
Şekil 28. Silymarin grubuna ait böbrek kesiti (TUNEL).....	85
Şekil 29. Parasetamol+Silymarin grubuna ait böbrek kesiti (H-E).....	86
Şekil 29. Parasetamol+Silymarin grubuna ait böbrek kesiti (H-E).....	87
Şekil 30. Parasetamol+Silymarin grubuna ait böbrek kesiti (TUNEL).....	88

SİMGELER VE KISALTMALAR

a.	Arteria
ADH	Antidiüretik Hormon
ALT	Alanin aminotransferaz
Apaf-1	Apoptotik proteaz aktive eden faktör
APAP	N-asetil-p-aminofenol
APAP	Parasetamol (Asetaminofen)
AST	Aspartat aminotransferaz
BMP	Kemik morfojenik proteini
BUN	Kan-üre azotu
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
Caspase	Cysteine- dependent aspartate spesifik proteases
CCl ₄	Karbon tetraklorür
COX	Siklooksijenaz
DAX-1	Dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia critical region, on chromosome X, gene 1
DNA	Deoksiribonükleik asit
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
GDNF	Glial kökenli nörotrofik faktör
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
HNF	Hepatosit nükleer transkripsiyon faktörleri
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

JG Hücreleri	Jukstaglomerüler hücreler
Ko/Fo	Kolesterol/ Fosfolipid
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
Lig.	Ligamentum
MPT	Mitochondrial permeability transition pore
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAPQI	N- asetil benzokinonimin
NF-kB	Nükleer faktör kappa B
NO	Nitrik oksit
NSAID	Non-steroidal anti-enflamatuvar
PAX	Paired box gene
PGHS	Prostaglandin endoperoksit sentaz
PON	Paraoksonaz
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
Sf/fo	Sfingomyelin/ Fosfatidilkolin
SGOT	Serum glutamik okzaloasetik transaminaz
SGPT	Serum glutamik piruvik transaminaz
SOD	Süperoksit dismutaz
T-3	Triiyodotironin
T-4	Tiroksin
TNFR	Tümör nekroz faktör reseptör
TNF- α	Tümör nekrozis faktör-alfa
v.	Vena

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Analjezikler, ağrı kesici etki yapması için kullanılan her türlü ilaca verilen isimdir. Yunanca an- (olmadan) ve algia (ağrı) kelimelerinden türemiştir. Analjezik ilaçlar merkezi ve periferik sinir sistemine etki eder. Analjeziklerin parasetamol (APAP), uyuşturucu ilaçlar (morfin gibi), uyuşturucu etkisi olan sentetik ilaçlar (tramadol gibi), NSAID'ler (*non-steroidal anti-enflamatuvar*) gibi birçok çeşidi vardır. Baş ağrısı, migren, adet sancıları, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara bağlı ağrı, nevralji, nevrit, siyatik, lumbago, kas ve eklem ağrıları, orta kulak ağrıları, sinüzit ve cerrahi operasyonlara veya yaralanmalara bağlı ağrılar ile adet zorluklarından kaynaklanan ağrılarda endikedir. Analjezik ilaçlardan biri olan ve sıkça kullanılan Parasetamol'ün aşırı dozda kullanımı özellikle karaciğer ve böbrek toksisitesine neden olmaktadır. APAP kaynaklı toksisite gerçekleşirken karaciğerde hücresel mimaride bozukluk, hücrelerde aşırı büyüme, lipid birikimi ve nekroz görülen en belirgin değişikliklerdir (25, 34, 107).

Deneysel çalışmalarda APAP'ın oluşturduğu hasarı önlemede antioksidanlar yoğun olarak kullanılmaktadır (157). Ana bileşeni Silybin olan Silymarin, *Astrecea* familyasında yer alan bir flavonoid olup *Silybum marianum L.Gaertn* (deve dikeni) bitkisinin yaprak ve tohumlarından elde edilir. Flavonoidler bu bitkinin antioksidan özelliğini gösteren komponentidir. Silymarin'in antioksidan özelliği nedeniyle hücre koruyucu özelliği vardır ve daha çok karaciğer hasarları için kullanılır. Silymarin'in anti-enflamatuvar, anti-kanserojenik etkilerinin yanı sıra da östrojen agonisti etkisi bulunur. Silymarin ayrıca steroid reseptörlerinden olan östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojenik aktivite gösterir (54, 106, 108).

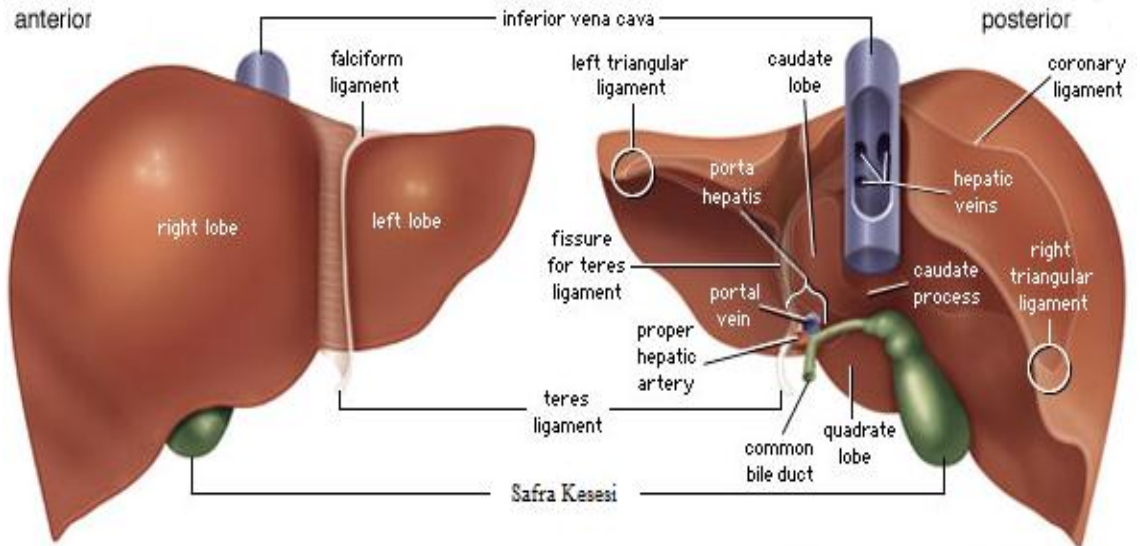
Araştırmamızda yüksek dozda Parasetamol'ün (asetaminofen) karaciğerde ve böbrekte neden olduğu toksisiteye karşın Silymarin'in koruyucu etkisinin olup olmadığını incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Anatomi

2.1.1 Karaciğer anatomisi

Vücudun en büyük bezi ve deriden sonra en büyük organdır. Sağ 7-11'nci kaburgaların arkasındadır. Yaklaşık 1500 gr ağırlığında olup yetişkinde vücut ağırlığının 1/40'ını oluşturur. Karaciğer diyaframın altında, sağ üst ve sol üst kadrantadır (büyük kısmı sağ kadrantadır.). Diyafram karaciğeri, plevra, akciğer, perikard ve kalpten ayırır. Karaciğer, birçok metabolik aktiviteden sorumludur, glikojen depolar ve safra salgılar. Safra, *Ductus hepaticus dexter* ve *Ductus hepaticus sinister* ile karaciğerden çıkar; bu duktuslar birleşerek *Ductus hepaticus communis*'i oluşturur. *Ductus cysticus* da buna katılınca *Ductus choledochus* meydana gelir. Safra kesesi hem safra depolar hem de su ve tuzu abzorbe ederek safrayı konsantre hale getirir. Yiyecek duodenuma ulaştığında, safra kesesi konsantre safrayı *Ductus cysticus* ve *Ductus choledochus* aracılığı ile duodenuma gönderir.



Şekil 1: Karaciğer anatomisi

Karaciğerin iki yüzü vardır: *Facies diaphragmatica* (anterior, superior ve posterosuperior) ve *Facies visseralis* (posteroinferior). Bu iki yüzü keskin bir kenar olan *margo inferior* ayırır. **Facies diaphragmatica**'nın yüzeyi düzgündür; kubbe biçimindedir ve diyaframın içbükey olan alt yüzüyle komşudur. Diyafram ile *Facies diaphragmatica*'yı ayıran büyükçe boşluğa **Recessus subphrenicus** adı verilir. *Lig. falciforme*, **Recessus subphrenicus**'u sağ ve sol olarak iki boşluğa ayırır. Sağda önde karaciğer, arkada böbrek ve *Glandula suprarenalis*'in arasında olarak yukarıya yükselen büyük periton çıkmasına **Recessus hepatorenalis** (hepatorenal poş veya Morrison poşu) adı verilir. *Recessus hepatorenalis* yerçekimi gücünden etkilenmektedir. Sırt üstü yatan bir hastada, *Bursa omentalis*'ten akan sıvı bu çıkmaza girer. *Recessus hepatorenalis* önde, sağ *Recessus subphrenicus* ile bağlantılıdır.

Facies diaphragmatica, arka kısmında bulunan **Area nuda** dışında tamamen visseral periton ile örtülmüştür. *Area nuda*'da karaciğer diyafram ile temastadır. Bu çıplak alanın sınırları, diyaframdan karaciğere uzanan **Lig. coronarium**'un ön (üst) ve arka (alt) yapraklarının yapışma yerleri olarak belirlenmiştir. Bu yapraklar sağda birleşerek **Lig. triangulare dextrum**'u oluşturur ve sola doğru birbirlerinden uzaklaşarak üçgen biçimindeki *Area nuda*'nın sınırlarını yaparlar. *Lig. coronarium*'un ön yaprağı solda *Lig. falciforme*'nin sağ yaprağı olarak devam eder; arka yaprağı ise *Omentum minus*'un sağ yaprağı olarak ilerler. *Lig. falciforme* ve *Omentum minus*'un sol yaprakları birleşerek **Lig. triangulare sinistrum**'u meydana getirirler.

Karaciğerin diğer yüzü olan **Facies visseralis**, *Porta hepatis* ve *Fossa vesicae biliaris* dışında peritonla kaplıdır. **Porta hepatis** *Facies visseralis*'te, *Lobus caudatus* ile *Lobus quadratus* arasında bulunan yatay yarıktır. Damarların (*V. porta*, *A. hepatica*, *Plexus hepaticus*, lenf damarları) ve duktusların (*Ductuli hepatices*) karaciğere girip çıktığı yerdir. *Facies visseralis*'in midenin ön yüzünün sağ kısmı ile komşu olan bölgesine *impressio gastrica* (**gastrik ve pilorik alanlar**), *Pars superior duodeni* ile komşu kısmına **Impressio duodenalis**, *Colon transversum*'un sağ kısmı ve *Flexura coli sinistra* ile komşu alanlara **Impressio colica**, sağ böbrek ve sağ böbrek üstü bezi ile

komşu bölgelere **Impressio renalis** ve **Impressio suprarenalis** denir. Facies visseralis ayrıca Omentum minus ve Vesica biliaris ile de komşudur.

Sağ lobun visseral yüzünde; **Colon ascendens**, **Flexura coli dextra**, **sağ böbrek**, **diyafram**, **sağ Gl. suprarenalis**, **duodenumun pars superior ve pars descendens parçalarının birleşme yeri**, **V. cava inferior** ve **Vesica biliaris (vesica fellea)**, sol lobun visseral yüzünde ise; **mide (fundus bölümü)** ve **özofagusun izi** vardır.

Sol lobda, mide izinin sağında görülen yuvarlak kabarıntıya **Tuber omentale** denir ve **Omentum minus**'la temas eder. Omentum minus'la, corpus pancreatis'teki aynı isimli kabarıntıdan ayrılır.

Visseral yüzün orta bölümünde bulunan Porta hepatis'in sol tarafında, birisi önde, diğeri arkada iki yarık bulunur. **Lobus caudatus** ile **Lobus hepatis sinister** arasındakine **Fissura ligamenti venosi** denir ve burada **Lig. venosum** (fetal *Ductus venosus*'un fibröz kalıntısıdır. Ductus venosus fetüste, V. umbilicalis'i V. cava inferior'a bağlar.) oturur. **Lobus quadratus** ile **Lobus hepatis sinister** arasındakine de **Fissura ligamenti teretis hepatis** denir ve burada **Lig. teres hepatis** yer alır.

Karaciğerin fonksiyonel olarak birbirinden bağımsız ve eşit büyüklükte sağ ve sol parçaları (portal lobları) vardır. Her bir parçanın (A. hepatica'nın ve V. porta'nın dalı olan) kendine ait arteri, veni ve safra kanalı vardır. Sağ ve sol parçalar (sağ ve sol karaciğer), Facies visceralis'te birbirinden aşağıda Fossa vesicae biliaris, yukarıda Sulcus venae cavae ile ayrılmışlardır. Facies diaphragmatica üzerinde ise iki parçayı ayıran hayali çizgi, Fundus vesicae biliaris'ten V. cava inferior'a uzanır. Karaciğerin hem sağ hem sol parçasının medial ve lateral bölümleri vardır. Sol karaciğerdeki bölümler, Lig. falciforme ile ayrılmıştır. A. hepatica propria'nın dalları ile V. portae hepatis'in dalları, karaciğer içinde VIII tane vasküler segment oluşturur. Sol lob I-IV segmentleri, sağ lob V-VIII segmentleri içerir (10, 163).

2.1.2 Böbrek anatomisi

Metabolik aktivite sonucu ortaya çıkan artık ve fazla suyun atılımından sorumlu olan, bu yol ile vücudun elektrolit ve su dengesini sağlayıp kan basıncını ayarlayan böbrekler karın arka duvarında, Columna vertebralis'in iki yanında bulunur. Böbreklerin her tarafını gevşek bağ dokusu ve yağ dokusu sarar. Ön yüzünü periton örterken arka yüzünü sarmaz. Bu nedenle böbrek retroperitoneal bir organdır. Üst uçları 12. torakal (göğüs) vertebranın üst kenarı, alt uçları ise 3. lumbal (bel) vertebra seviyesinde bulunur. Alt uçları *Crista iliaca*'dan 25 cm daha yukarıdadır. Sağ böbrek, karaciğere komşuluğu nedeniyle sol böbreğe göre daha aşağıdadır. Her bir böbrek 11,5 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlığındadır. Ağırlığı yetişkin erkeklerde 125 ile 170 gr arasında, kadınlarda 115 ile 155 gr arasındadır. İki böbreğin toplam ağırlığı vücut ağırlığının yaklaşık 1/240'ı kadardır.

Böbrek fasulye şeklinde bir organdır. Ön ve dışa bakan facies anterior, arka ve içe bakan facies posterior olmak üzere iki yüzü, margo medialis ve margo lateralis olmak üzere iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere iki de ucu vardır.

Facies anterior: Böbreklerin ön yüzleri konveks olup, öne ve biraz da dışa doğru bakarlar. Bu yüzün komşuları sağ ve sol tarafta farklıdır. **Sağ böbreğin** üst medialinde Glandula suprarenalis dextra, bunun aşağısında kalan geniş kısımda ise karaciğerin sağ lobu bulunmaktadır. Alt dış tarafında Flexura coli dextra, medial kenar boyunca duodenumun ikinci parçası ile komşuluk yapar. Genellikle alt ucun medial bölümü, ince bağırsak kıvrımlarıyla komşuluk yapar. Sağ böbreğin karaciğer ve ince bağırsak kıvrımları ile olan komşuluğu periton aracılığıylaadır. Diğer oluşumlar ile olan komşuluğu fascia renalis aracılığıylaadır. **Sol böbreğin** ön yüzünün üst medialinde Glandula suprarenalis sinistra ile, dış kenara yakın geniş bir saha dalak ile, böbrek hilusuna komşu bölümü pankreas ile, alt ucun lateral yarısı Flexura coli sinistra ile, medial yarısı da jejunum kıvrımları ile komşuluk yapar. Sol böbreğin mide, dalak, ince

bağırsak kıvrımları ile olan komşuluğu periton aracılığı ile olurken diğer oluşumlar ile aralarında periton bulunmaz, dolayısıyla bunlar Fascia renalis'e yapışık durumdadır.

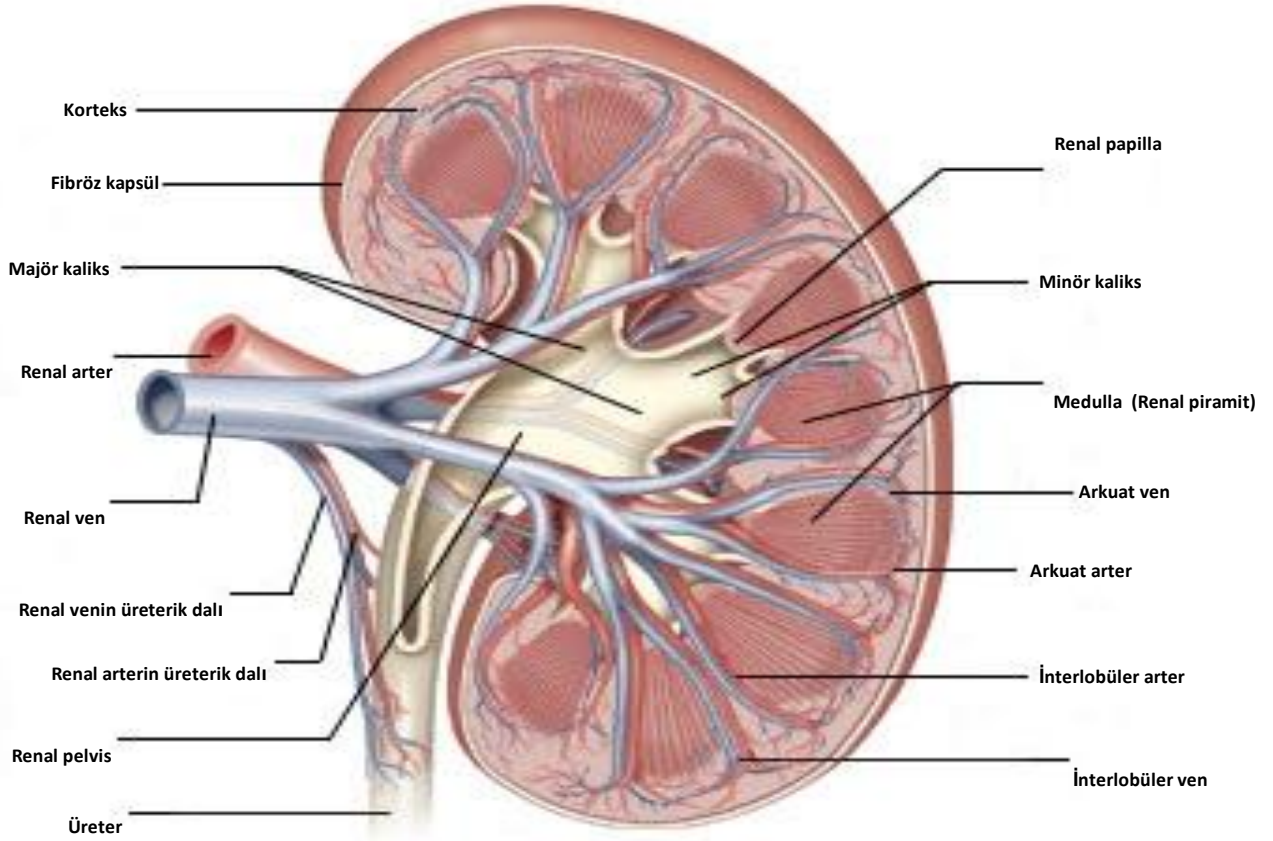
Facies posterior: Böbreklerin arka yüzleri konveks olup, arkaya ve biraz da iç tarafa bakan arka yüzleri, gevşek yağ-bağ dokusundan oluşan bir yastık içerisine oturmuş durumdadır. Böbreklerin arka yüzleri peritonla kaplı değildir. Bu nedenle retroperitoneal organlardır. Her iki böbreğin de arka yüzleri diyaframın, Hilum renale boyunca M. psoas major'un, böbreğin orta kısmı M. quadratus lumborum'un ve dış kısmı M. transversus abdominis'in üzerine oturur. Bu kaslar ile böbrek arasında A.subcostalis, ilk bir veya iki A. lumbalis, N. subcostalis, N. iliohypogastricus ve N. ilioinguinalis bulunur. Sağ böbrek sol böbreğe göre biraz daha aşağıda olduğu için sağ böbreğin üst ucu 12. kosta ile, sol böbreğin üst ucu ise 11. ve 12. kostalar ile komşuluk yapar.

Margo lateralis: Karın duvarının arka dış kısmına yönelmiş olup dışa, biraz arkaya ve yukarı bakar. Sağ böbreğin dış kenarı periton ile karaciğerin sağ lobundan ayrılır. Sol böbreğin dış kenarı üstte periton ile örtülü olup dalak ile komşudur.

Margo medialis: Böbreğin iç kenarının orta kısmı konkav, her iki ucu ise konvekstir. Orta kısımda vertikal uzanan yarığa **Hilum renale** denir. Buradan damarlar, sinirler ve pelvis renalis geçer. Margo medialis, böbrek hilusunun yukarısında gl. suprarenalis ile aşağısında ise üreter ile komşuluk yapar. Hilum renale'de bulunan yapılar önden arkaya doğru V. renalis, A. renalis'in 2-3 dalı, üreter ve A. renalis'in (VAUA) bir dalı bulunur.

Extramitas superior: Alt uca oranla daha kalın ve yuvarlaktır. Birbirlerine daha yakındırlar. Gl. suprarenalis üst uca ve biraz ön yüze doğru oturur.

Extramitas inferior: Üst uca göre daha küçük ve incedir. Alt uç, Crista iliaca'dan yaklaşık 5 cm yukarıda bulunur.



Şekil 2: Böbrek anatomisi

Böbreği içten dışa doğru 3 kılıf çevreler. Bunlar **Capsula fibrosa**, **Capsula adiposa** ve **Fascia renalis**'tir.

1-) Capsula fibrosa: Böbreği dıştan saran, kollajen liflerden yapılmış, ince fakat sağlam fibröz bir kılıftır. Kollajen liflerin uzama kabiliyetinin çok sınırlı olması nedeniyle, böbreğin bazı hastalıklarında Capsula fibrosa genişleyemez ve bu nedenle de çıkarılması gerekebilir. Capsula fibrosa, Hilum renale'ye girdiğinde iki yaprağa ayrılır. Dıştaki yaprak Hilum renale'deki yapıları çevreler ve adventisya tabakalarının yapısına katılır. İçteki ise Papilla renalis hariç Sinus renalis'in iç yüzünü örter ve kaliks duvarları ile devam eder. Capsula fibrosa ile böbrek dokusu arasında **Tunica subfibrosa** denilen ince bir tabaka bulunur. Düz kas lifleri de içeren Tunica fibrosa, Sinus renalis'in iç yüzünü de döşer. Sinus renalis'i döşeyen bu bölümde düz kas lifleri daha fazla oranda bulunur ve özellikle papillalar etrafında yoğunlaşarak kas halkaları oluşturur. Tunica subfibrosa böbrek dokusuna sıkıca yapışmasına karşın Capsula fibrosa'ya gevşek olarak

tutunur. Bu nedenle Capsula fibrosa, bir kesi yapılarak kolayca böbrekten uzaklaştırılabilir. Ancak böbrek hilusundaki yapılara yapışık olması nedeniyle, bu bölgede Capsula fibrosa'yı kesmek gerekir. Tunica subfibrosa'daki düz kas lifleri, kontraksiyon yaptıklarında böbreği küçültecek kadar kuvvetli değildirler. Ancak herhangi bir nedenle böbrekte basıncın artması durumunda kasılarak, Capsula fibrosa'nın gerilmesini bir dereceye kadar önleyebilir.

2-) Capsula adiposa: Capsula fibrosa'yı dışarıdan sarar. Bu yağ tabakasının kalınlığı kişinin şişmanlık durumuna göre değişkenlik gösterir. Böbreğin ön yüzünde diğer bölgelerine göre daha az miktarda bulunur. Bu yağ dokusu böbrek hilusundan girer ve Sinus renalis'te bulunan yapıların aralarını doldurur.

3-) Fascia renalis (Gerota fasiası): Karın duvarındaki Fascia subserosa'nın devamıdır ve Capsula adiposa'yı dışarıdan saran bölümüdür. Fascia renalis böbreğin dış kenarı yakınında yoğunlaşır ve iki yaprağa ayrılır. Böbreğin ön tarafından mediale doğru uzanan yapıya **Fascia prerenalis** denir. Fascia prerenalis medialde böbrek damarları, V.cava inferior ve Aorta'nın önünden geçerek karşı tarafın aynı yaprağı ile birleşir. Böbreği arkadan saran yaprak ise **Fascia retrorenalis**'tir. Arka yaprak M. psoas major'un fasiası ve Fascia prevertebralis ile kaynaşır. Fascia renalis'in iki yaprağı yukarıda kaynaşarak diyaframın fasciasına, lateralde fascia transversalis'e tutunur. Aşağıda, daha gevşek olarak kaynaşan bu yapraklar, fascia iliaca ile devam ederler. Fascia renalis'ten çıkan bir kısım fibröz lifler, Corpus adiposum'dan geçerek Capsula fibrosa'ya tutunur. Fascia renalis'in arkasında da bir miktar yağ tabakası bulunur. Buna da **Corpus adiposum pararenale** denilir.

Karın arka duvarında retroperitoneal olarak bulunan böbrekler, bazı durumlarda biraz aşağı-yukarı yönde hareket edebilirler. Üst yarılarının diyaframa yaslanması nedeniyle, derin inspirasyonda 1-2 cm aşağı inerler. Böbrekleri yerinde tutan en önemli oluşumlar, böbreklerin damarları ve Fascia renalis'tir. Ayrıca Capsula adiposa ve pararenal yağ tabakası da yardımcı olur (10, 163).

2.1.2.1 Böbreğin damarları

Böbreğe kan A. renalis'ler aracılığı ile gelir. **A. renalis**'ler her iki tarafta 1. ve 2. lumbal omurlar arasındaki Discus intervertebralis hizasında dik açı ile Aorta'dan ayrılır. Ancak böbreklerin pozisyonundan dolayı, sol arter sağ arterden biraz daha yukarıda bulunur. A. renalis'ler böbreğin hacmine göre kalın damarlardır. Bu da kısa zamanda böbrekten fazla miktarda kanın geçmesini sağlar. A. renalis'ler **Hilum renalis**'e gelince böbrek segmenti sayısınca (genellikle 5) dala ayrılır. A. segmentalis denilen bu dalların çoğu, **Pelvis renalis**'in ön tarafından geçer. **A. segmentalis**'ler Sinus renalis'te tekrar dallarına ayrılarak Calix renalis minor'ların çevresinde Columna renalis'lere girerler. Böbrek lobları arasında uzanan bu dallara **A. interlobaris** denilir. A. interlobaris'ler kortikal ve medullar cevher hizasında yan tarafa kıvrılarak iki cevher arasında bir kavis şeklinde uzanırlar. **A. arcuata** denilen bu arterler, birbirleriyle anastomoz yapmazlar. A. arcuata'lardan dik olarak çıkan ince dallar böbrek lobçukları arasında uzar. Bunlara **A. interlobularis** adı verilir. A. interlobularis'lerden yan tarafa uzanan ince dallara **Arteriola glomerularis afferens** denilir. Bunlar capsula glomerularis'in (Bowman Kapsülü) damar kutbundan girerek içeride **Rete capillare glomerulare** denilen kılcal damar yumağını oluştururlar. Bu kılcal damar yumağı, tekrar birleşerek **Arteriola glomerularis efferens**'i oluşturur. Bu da, arterin girdiği kutuptan çıkarak **V. interlobularis**'e açılır. V. interlobularis de arterleri takip ederek sırasıyla **V. arcuata**, V. interlobularis, **V. segmentalis** ve sonuçta **V. renalis** olarak **V. cava inferior**'a açılır.

Arteriola glomerularis efferens, kortikal cevhere gelince tekrar kılcal dallara ayrılır. Bu kılcal damarlar idrar kanalcıklarının etrafında **Rete capillare peritubulare corticale** denilen bir ağ oluşturur. Bu ağdaki kan, konsantre olup yavaş seyrederek. İdrar kanalcığındaki idrar ise fazla dilüedir. Bu nedenle kan, idrar kanalındaki suyu tekrar emer. Bu şekilde glomerulustan süzülerek Bowman kapsülü'ne geçen suyun büyük bir kısmı bu ağ vasıtasıyla tekrar emilmiş olur. Bu emilme esnasında bir takım maddeler de kan dolaşımına geri döner.

Böbreğin medullar cevherini besleyen damarlar (**Fasciculus vascularis= Vasa recta**), kısmen **Arteriola glomerularis efferens**'ten, kısmen de **A. arcuata**'dan çıkar. Medullar cevheri besleyen bu damarlar **Venula recta** adı verilen venler aracılığıyla tekrar dönerek **V. arcuata**'ya açılırlar. **A. interlobularis**'lerin uç kısmından ayrılan ince dallar böbreğin dış yüzüne doğru uzanırlar. **Rr. capsulares** denilen bu dalcıklar, böbrek dokusundan çıkarak Capsula fibrosa içinde bir ağ oluştururlar. Capsula fibrosa, böbrekten sıyrıldığı zaman bu damarlar kopar. Capsula fibrosa ve Capsula adiposa'yı besleyen bu dalcıklar A. suprarenalis, A. lumbalis ve A. testicularis'den gelen dalcıklarla anastomoz yaparlar. Bu dalcıkların getirdiği kanı drene eden venlere **V. capsularis** denir. Bu venler **Venula stellata**'lara, bunlar da V. interlobularis'e açılırlar (10, 98, 163).

2.1.2.2 Lenf Drenajı

Lenf damarları üç adet pleksus oluştururlar. Bunlardan birincisi Tubulus renalis'lerin çevresinde, ikincisi Fascia renalis'in altında, üçüncüsü de Corpus adiposum pararenale'de bulunur. Birinci pleksustaki damarlar birleşerek üç-dört ana dal oluşturur. Hilum renale'den çıkarken diğer iki pleksusun damarları ile birleşirler. Böbrekten çıkan lenf damarları V. renalis'i takip ederek Aorta'nın yan tarafındaki **Nodi lymphatici lumbales (Nodi aortici laterales)**' e açılırlar (10, 98, 163).

2.1.2.3 Sinirleri

Sempatik lifler N. splanchnicus minor, N. splanchnicus imus ve Truncus sympathicus'un lumbal bölümünden, parasempatik lifleri ise N. vagus'tan gelir. Bu lifler önce Plexus coeliacus, daha sonra A. renalis etrafındaki Plexus renalis aracılığı ile böbreğe gelir. Bu pleksus içinde birçok gangliyon bulunur. Bunlardan en büyüğü A. renalis'in başlangıç kısmının ön tarafında bulunan **Ggl. aorticorenale**'dir. Bu lifler kan damarları ile Tubulus renalis'in hücrelerine gider. Sempatikler damarları daraltarak,

damardan geçen kanın miktarını azaltır. Böylece kandan süzülen idrarın miktarı azaltılmış olur (10, 98, 163).

2.2 Embriyoloji

2.2.1 Karaciğer embriyolojisi

Karaciğer, safra kesesi ve safra kanalları dördüncü hafta başında ön bağırsağın kaudalinden ventral yönde bir çıkıntı- **hepatik divertikül**- olarak belirir. Hepatik divertikül ve pankreasın ventral tomurcuğunun embriyonik endoderme ait iki farklı hücre topluluğundan geliştiği ileri sürülmektedir. Ön bağırsak endoderminin tümü karaciğere özgü genleri eksprese edebilme ve karaciğer dokusuna dönüşebilme yeteneğine sahiptir. Ancak bu ekspresyon çevredeki ektoderm, non-kardiyak mezoderm ve özellikle Notokord gibi dokulardan açığa çıkan bazı etkenlerle bloke edilir. Bu inhibitörlerin etkisi de gelecekteki karaciğer bölgesinde kardiyak mezoderm tarafından salgılanan **Fibroblast Büyüme Faktörleri (FGF)** tarafından bloke edilir. Kısaca; bağırsak endoderminden karaciğere özgü genlerin eksprese olması kardiyak mezoderm tarafından salgılanan inhibe edici faktörlerin disinhibisyonu ile olur. Kardiyak mezodermden gelen talimatla karaciğer bölgesindeki bağırsak endodermi hepatositlere ve safra kanalı hücrelerine farklanır. Bu süreç kısmen **Hepatosit Nükleer Transkripsiyon Faktörleri** ile de (**HNF 3 ve 4**) kontrol edilir. Divertikül, gelişmekte olan kalp ve mide arasındaki splanknik bir mezoderm kitlesi olan **Septum transversum**'a doğru uzanır. Septum transversum bu bölgedeki ventral mezogastriyumu oluşturur.

Hepatik divertikül, hızla büyüyerek ventral mezogastriyumun iki yaprağı arasında büyüyen iki parçaya bölünür. Hepatik divertikülün daha geniş olan kranial parçası **karaciğer taslağıdır**. Çoğalan endodermal hücreler, ağ şeklinde yayılan hepatosit kordonlarını ve intrahepatik safra kanallarını döşeyen epitelyum hücrelerini oluştururlar. Hepatik kordonlar, endotelle döşeli boşlukların çevresinde ağ oluşturarak hepatik

sinüzoidlerin taslaklarını meydana getirirler. Karaciğerin fibröz dokusu, hematopoetik dokusu ve Kupffer hücreleri septum transversum mezenşiminden köken alır.

Karaciğer hızla büyür ve beşinci haftadan onuncu haftaya kadar üst abdominal kavitenin büyük bir kısmını kaplar. Umblikal venden gelen kanın oksijen miktarı, karaciğerin gelişimini ve fonksiyonel segmentasyonunu belirler. Başlangıçta karaciğerin sağ ve sol loplarının büyüklüğü aynıdır ancak kısa bir süre sonra sağ lop daha fazla büyür. İntrauterin yaşamın dokuzuncu haftasında karaciğerin ağırlığı toplam vücut ağırlığının % 10'u kadardır. Organın ağırlığındaki bu fazlalık, kısmen sinüzoid sayısının yüksekliğine atfedilirse de, bir başka önemli etken de, altıncı haftada başlayan ve karaciğere parlak, kırmızı bir renk veren hematopoietik işlevlerdir. Hepatik hücrelerle damar duvarı arasında, beyaz ve kırmızı kan hücrelerinin üretildiği, proliferasyonla karakterize geniş bir hücre ağı vardır. Hematopoietik etkinlik, gebeliğin son iki ayında yavaş yavaş azalır ve doğumda geride ancak birkaç hematopoietik hücre adası kalır. Artık karaciğerin ağırlığı toplam vücut ağırlığının % 5'i kadardır.

Hepatik divertikülün küçük kaudal parçası **safra kesesini**, divertikülün sapı da **sistik kanalı** oluşturur. Başlangıçta, ekstrahepatik safra kanalları epitel hücreleriyle tikalıdır ancak daha sonra bu hücrelerin dejenerasyonu ile vakuoller oluşur ve kanal gelişir. Hepatik ve sistik kanalları duodenuma bağlayan kordondan **safra kanalı (Koledok kanalı)** gelişir. Bu kanal başlangıçta duodenum halkasının ön yüzüne bağlıdır ancak duodenumun büyümesi ve rotasyonu ile arka yüze taşınır. Onikinci haftada karaciğer hücreleri safra üretimine başlar. Onüçüncü haftadan sonra kanaldan geçerek duodenuma giren safra, mekonyuma koyu yeşil bir renk verir.

Ventral mezenter denilen ve ince, iki yapraklı membrandan **küçük omentum** ve **falsiform ligament** gelişir. Küçük omentum, karaciğerden midenin küçük kurvaturuna (hepatogastrik ligament) ve karaciğerden duodenuma (hepatoduodenal ligament) uzanır. Falsiform ligament, karaciğerden karın ön duvarına uzanır.

Umblikal ven, umblikal kordandan yani göbek kordonundan çıkıp karaciğere ulaşırken falsiform ligamentin serbest kenarı boyunca uzanır. Mezogastriumdan

kaynaklanan ventral mezenter aynı zamanda karaciğerin visseral peritonunu da oluşturur. Karaciğer, diyafram ile doğrudan temas eden çıplak bölgesi olan Area nuda hariç peritonla örtülüdür (136, 159).

2.2.2. Böbrek embriyolojisi

Ürogenital sistem, embriyonun dorsal vücut duvarından köken alan **intermediyer mezenşimden** gelişir. Embriyonun horizontal planda katlanması sırasında, bu mezoderm ventrale doğru çekilir ve somitlerle olan bağlantısını kaybeder. Dorsal aort'un her iki yanında **ürogenital kabartı** adı verilen longitudinal bir mezoderm kabartısı oluşur. Bu doku daha sonra üriner ve genital sistemleri oluşturacaktır. Üriner sistemi oluşturacak olan ürogenital kabartı kısmı **nefrojenik kordon** veya kabartı adını alırken, genital sistemi oluşturacak kısım **gonadal kabartı** adını alır.

İntrauterin yaşamda üç tip böbrek sistemi gelişmektedir. İlk oluşan böbrek sistemi olan ve diğer gelişecek olan böbreklere göre en kranialde kalan **pronefroz** rudimenterdir ve işlevsel bir özelliğe sahip değildir. İkinci oluşan böbrek sistemi kısa süre işlev gösteren, pronefrozlara göre daha iyi gelişmiş olan **mezonefroz**lardır. Üçüncü böbrek sistemi ise kalıcı böbrekleri oluşturacak olan **metanefroz**lardır.

1-) Pronefroz: 4. haftanın başında gelişir. Pronefroz adı verilen ilkel böbrek sistemi servikal bölgedeki 7-10 adet solid hücre topluluğu ve kıvrılmış halde bulunan pronefrik duktuslardan (kanal) oluşur. Pronefrik duktuslar kaudale doğru uzanır ve kloaka'ya açılır. Dördüncü haftanın sonunda pronefrozlar dejenerasyona uğrarlar ancak pronefrik kanalların çoğunluğu kalır ve bir sonraki böbrek sisteminde bunlardan yararlanır.

2-) Mezonefroz: Mezonefrik tübüller ve mezonefrik duktuslar rudimenter yapılar olan pronefrozların kaudalinde, üst torasikle üst lumbal (L3) segmentlerinin intermediate mezoderminden gelişir. Dört hafta boyunca (kalıcı böbrek oluşana kadar)

embriyoda işlev görür. Pronefrik kanaldan köken alan mezonefroza ait ilk boşaltım tübüleri, 4. haftanın başlarında belirmeye başlar. Boyca hızla uzar, “S” şeklini alır. Medial uzantılarının ucunda “glomerulus” denilen kapiller yumak elde ederler. Glomerulusun etrafındaki mezonefrik tübüller **Bowman Kapsülü**’nü oluşturur. Bowman kapsülü ve glomeruluslar birlikte **renal korpuskülü** oluştururlar. Mezonefrik tübüller, bilateral **mezonefrik kanal (Woffian Kanalı)** olarak bilinen longitudinal toplayıcı kanala girer. Mezonefrik kanallar da kloaka’ya açılırlar. İkinci ayın ortasında mezonefroz, orta hattın her iki yanında büyük ve oval şekilli bir organ halini alır. Bu esnada gelişen gonad da mezonefrozun medialinde yer alır. Gonad ve mezonefrozun birlikteliğinde oluşan doku kabarıklığı **ürogenital sırt** adını alır. Mezonefrozlar, birinci trimesterin sonuna doğru dejenere olurlar; ancak, mezonefrik tübüller, erkeklerde testisin efferent duktulilerine dönüşürler. Mezonefrik kanal, yetişkin erkek bireylerde önemli yapılara dönüşmektedir. Kızlarda ise tümüyle kaybolur.

3-) Metanefroz: Kalıcı böbreklerin primordiumu olan metanefrozlar, beşinci haftanın başında gelişmeye başlar ve yaklaşık dört hafta sonra işlevsel hale gelirler. Kalıcı böbrekler iki farklı kökene sahiptirler.

- Toplayıcı sistemi oluşturan **metanefrik divertikül**
- Boşaltım sistemini oluşturan metanefrojenik **blastem veya mezenşimin metanefrik kitlesi.**

Toplayıcı kanallar, mezonefrik kanalın kloakaya yakın noktasında, metanefrik mezoderme doğru ortaya çıkan üreter tomurcuğundan (üreterik tomurcuk, metanefrik divertikül) gelişir. Metanefrik mezoderm ise nefrojenik kordonun kaudal kısmından köken almaktadır. Bu tomurcuk, metanefrik doku içine penetre olur. Penetrasyonun ardından üreter tomurcuğu genişleyerek **primitif renal pelvisi** oluşturur. Gelecekteki **majör kaliksleri** oluşturmak için renal pelvis kranial ve kaudal parçalara ayrılır. Kalikslerin her biri metanefrik blasteme penetre olurken iki yeni tomurcuk oluşturur. Bu tomurcuklarda oniki ve daha fazla sayıda **tübül** oluşturana kadar bölünmeye devam eder. İlk dört toplayıcı tübül jenerasyonları genişler ve birleşerek **majör kaliksleri**

oluşturur. İkinci oluşan dört jenerasyon birleşir ve **minör kaliksleri** oluşturur. Her bir toplayıcı tübülün ark oluşturulan son kısmı metanefrik mezoderm kitlesi içindeki **mezenşimal hücre kümesini** uyararak **renal vezikül** oluşumuna neden olur. Renal vezikül uzar, metanefrik tübüller oluşur. Bu renal veziküllerden daha sonra “S” biçimli küçük tübüller meydana gelir. “S”nin bir ucundaki cebin içine doğru büyüyen kapiller damarlar **glomerüllere** farklılar. Bu tübüller ve glomerüller birlikte boşaltım birimi olan **nefronu** oluşturur. Her nefronun proksimal ucu, glomerül tarafından derin şekilde yaylandırılmış **Bowman Kapsülü**’nü oluşturur. Tübülün distal ucundan ise **proksimal** ve **distal kıvrıntılı tübüllere** ve **Henle Kulpu**’na farklılar. Her bir distal kıvrıntılı tübül, kavis oluşturan bir toplayıcı tübül ile bağlantı kurar ve sonuçta tübüller birleşirler.

Doğumda böbrekte 1 milyon nefron bulunur. Gestasyonun onuncu haftasından sonra idrar oluşumu başlar. Doğumda böbrek lobüllü görünür. Ancak nefronların büyümeye devam etmesiyle süt çocukluğu döneminde lobüllü görünüm kaybolur (136, 159).

2.2.2.1 Böbrek gelişiminin moleküler kontrolü

Mezenşimal dokudan salgılanan ve bir transkripsiyon faktörü olan WT1 (Wilms’ tümör supressör 1) metanefrik blastemin üreter tomurcuğunun uyarısına yanıt verebilecek durumuna gelmesine olanak verir. WT1 aynı zamanda mezenşim dokusundan üreter tomurcuğunun büyümesini sağlayan **Glial Kökenli Nörotrofik Faktör (GDNF)** ve **Hepatosit Büyüme Faktörleri’nin (HGF)** yapımını da kontrol eder. Üreter tomurcuğu epitelinde yapılan GDNF için **RET** ve HGF için **MET** adlı tirozin kinaz reseptörleri epitelyum ve mezenşimal dokular arasındaki etkileşimi sağlayacak sinyalizasyon yollarını oluşturur. Üreter tomurcukları da mezenşimi **Fibroblast Büyüme Faktörü-2 (FGF-2)** ve **Kemik Morfojenik Proteini-7 (BMP-7)** vasıtasıyla uyarır. Bu büyüme faktörlerinin her ikisi de bir yandan WT1 yapımının sürmesini sağlarken diğer yandan da hem apoptozisi bloke eder hem de metanefrik mezenşimin proliferasyonunu uyarır. Mezenşimal dokunun nefron oluşturmak amacıyla epitele dönüşmesinde, ekstrasellüler matriks modifikasyonu yoluyla üreter

tomurcuklarının da rolü vardır. Böylece epitelyal bazal laminanın temel özelliği gereği **Fibronektin, Kollajen I ve Kollajen III; Laminin ve Tip IV Kollajen**le değiştirilir. Bunlara ek olarak, mezenşimal dokunun yoğunlaşarak epitele dönüşmesi için elzem olan hücre adezyon moleküllerinden **Syndecan** ve **E-cadherin** de sentezlenir. Bütün bu süreç **PAX 2** ve **WNT-4** genleri tarafından bloke edilir. Bunların yanı sıra ürogenital kabartının oluşumunda **Steroidojenik Faktör-1** ve **DAX 1** genleri önemlidir. Bu genlerde meydana gelen mutasyonlar, X'e bağlı konjenital adrenal hipoplazi ile sonuçlanmaktadır (159).

2.2.2.2 Böbreğin pozisyonu

Böbrekler başlangıçta pelviste, sakrumun ventralinde, birbirine yakın konumda bulunurlar. İntrauterin gelişim süresince vücudun dikleşmesi, lumbal ve sakral bölgelerdeki büyüme sonucunda böbrekler yavaş yavaş yukarı doğru kayarlar. Kalıcı böbrek olan metanefrozlar, pelvis içindeyken arteriyel kan dolaşımını Aort'un pelvik bir dalından alır. Böbrek yükseldikçe, her seferinde daha yukarı kesimlerdeki Aorta dalı olan arterlerden kan dolaşımını sağlamaya devam eder. Altta kalan önceki arterler genellikle dejenere olur.

Böbrekler dokuzuncu haftada yetişkindeki pozisyonuna ulaşır. Başlangıçta hilus (hilum) ventrale bakmaktadır. Ancak böbreklerin yükselmesiyle hilus medial hatta doğru 90°'lik bir dönüş yapar. Dokuzuncu haftayla birlikte hilus arteromedial hatta yönelmiştir (136, 159).

2.2.2.3 Böbreğin fonksiyonları

Metanefrozdan oluşan kalıcı böbrek onikinci haftada işlevsel hale gelir. İdrar amniyon boşluğuna geçer ve amniyon sıvısıyla karışır. Bu karışım fetüs tarafından yutulur ve fetal sindirim sistemine girer. Burada emilerek kan dolaşımına geçer ve tekrar böbrekler tarafından amniyon sıvısına atılır.

Fetal yaşam süresince yıkım ürünlerinin atılımı görevi plasenta tarafından üstlenilmiş olduğundan böbrekler sorumlu değildir (136, 159).

2.3 Histoloji

2.3.1 Karaciğer histolojisi

Dört adet zayıfça sınırlanmış lobdan oluşan karaciğer, insan vücudundaki en büyük bezdir. Karaciğer kollajen ve elastik lif içeren bir kapsül ile (**Glisson kapsülü**) çevrelenmiş olup, periton ile kaplıdır. Glisson kapsülü hilumda kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülüdür. Hilumda, organa portal ven ve hepatik arter girer, organdan sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkar. Bu damarlar ve kanallar, klasik karaciğer lopçukları arasında sonlandıkları (ya da köken aldıkları) portal alanlara dek bağ dokusu ile çevrilmiştir. Bu noktadan itibaren karaciğer lopçuklarındaki hepatositlere ve sinüzoidal endotel hücrelerine destek sağlayan ince bir retiküler lif ağı oluşur (90).

2.3.1.1 Karaciğer lobülü (Karaciğer lopçuğu)

Karaciğerin temel yapı elemanı karaciğer hücresi ya da hepatositir. Bu epitelyal hücreler birbirleriyle bağlantılı plaklar halinde gruplaşmış olup, karaciğer kütesinin üçte ikisini oluşturur. Işık mikroskobu kesitlerinde, karaciğer lobülü olarak isimlendirilen yapısal birimler görülebilir. Karaciğer lobülü 0,7 x 2 mm boyutlarında olan ve çevresinde portal aralıklar (portal boşluk) ile ortasında santral ya da sentrolobüler ven bulunan poligonal bir doku kitlesinden oluşur. Hepatik arterin ve portal venin dalları, bir safra kanalı beraberliğinde, hegzagonal karaciğer lobülünü çevreleyen portal alanda yer alan **klasik portal triadı** oluşturmaktadır.

Karaciğer lobülü içindeki hepatositler ışımsal olarak dizilmiş ve bir duvarın tuğlalarına benzer biçimde düzenlenmiştir. Bu hücre plakları lobülün periferinden merkezine doğru yönelmişlerdir. Labirent şeklinde ve sünger benzeri bir yapı

oluşturacak biçimde serbestçe anastomozlaşırlar. Bu plaklar arasındaki boşlukta karaciğer sinüzoidleri adı verilen kapillerler bulunur. Sinüzoidal kapillerler sadece kesintili bir pencereci endotel tabakasından oluşan düzensiz olarak genişlemiş damarlardır. Pencereciğin çapı yaklaşık 100 nm'dir ve pencereci kümeler halinde gruplanmıştır. Endotel hücrelerinin altında da boşluklar bulunur ve bunlar, pencereci ve süreklilik göstermeyen bazal lamina ile bu damarların yüksek düzeyde geçircen olmasını sağlar.

Endotel hücrelerinin altında bulunan **Disse Aralığı** adı verilen boşluk endotel hücreleriyle hepatositleri birbirinden ayırır. Endotelin pencereci ve kesintili yapısı kanın şekilli elemanlarının değil, plazma sıvısının kolayca Disse Aralığı'na geçmesine ya da ters yönde hareketine olanak vererek sinüzoid lümeniyle karaciğer hücreleri arasında molekül (makromoleküller de dahil) alışverişini kolaylıkla sağlar. Bu geçiş sadece çok sayıda büyük molekülün (örn. lipoproteinler, albumin, fibrinojen) hepatositler tarafından kana verilmesi nedeniyle değil, aynı zamanda bu makromoleküllerin çoğunun hepatositlerce alınıp çözülmesi nedeniyle de fizyolojik bir önem taşır (90, 98, 145).

2.3.1.2 Kan dolaşımı

Karaciğerin bir diğer eşsiz ve mükemmel özelliği **ikili kanlanma sistemi**dir.

1) **Portal Ven Sistemi : Portal ven**, besin maddeleri yönünden zengin kanı sindirim kanalından getirir. Karaciğere gelen toplam kanın % 75'ini portal ven sağlar. Portal venlerin yaklaşık 300 mikron metre çapında olan uç dalları dallanarak portal alanlara küçük **portal venüller** gönderir. Portal venüller dallanarak, lobülün çevresini dolaşarak seyreden **dağıtıcı venleri** oluşturur. Dağıtıcı venlerden çıkan küçük **giriş venülleri**, sinüzoidlere açılır. Sinüzoidler ışınsal olarak seyreder ve birleşerek lobülün merkezinde **santral** ya da **santrolöbüler veni (terminal venül)** oluştururlar. Bir santral venin çapı, 50 mikron metre kadardır. Santral venler, daha geniş olan ve tekrarlayan şekilde dallanarak yol alan **hepatik venlere** dönüşen **sublobüler venleri** meydana getirecek şekilde bir araya gelir. Hepatik venler, bir araya gelerek kanın karaciğerden

ana drenaj (akıntı) yolu olan **inferiyor vena kavaya** katılır. Kanın ve safranin lobüller boyunca zıt yönlerde doğru akması, lobül organizasyonu (düzenlenimi) ve hepatosit işlevinin anlaşılması için önemlidir.

2) **Arteriyel Sistem: Hepatik arter** defalarca dallanır ve lobüller arası arteri oluşturur. Bu arterlerden bazıları portal yapılara akarken bazıları da portal alanlardan farklı uzaklıklarda, doğrudan sinüzoidler içinde sonlanan arteriyelleri (**giriş arteriyelleri**) oluşturur. Bu sayede sinüzoidler içinde **arteriyel** ve **portal venöz kan** karışır. Arteriyel sistemin başlıca işi karaciğer hücrelerine yeterli miktarda oksijen sağlamaktır. Hepatik arterler karaciğere gelen toplam kanın 25'lik oksijenli kanı temin eder.

Kan, karaciğer lobülünde çevreden merkeze doğru akar. Sonuç olarak oksijen ve metabolitler ile bağırsaklardan emilen diğer bütün toksik olan ve olmayan maddeler önce lobülün çevresindeki hücrelere, daha sonra merkezindeki hücrelere ulaşır. Bu kan akım yönü perilobüller hücrelerin santralobüller hücrelerden farklı davranmasının nedenini kısmen açıklayabilir (90, 98, 145).

2.3.1.3 Karaciğer lopçuğunun görevi

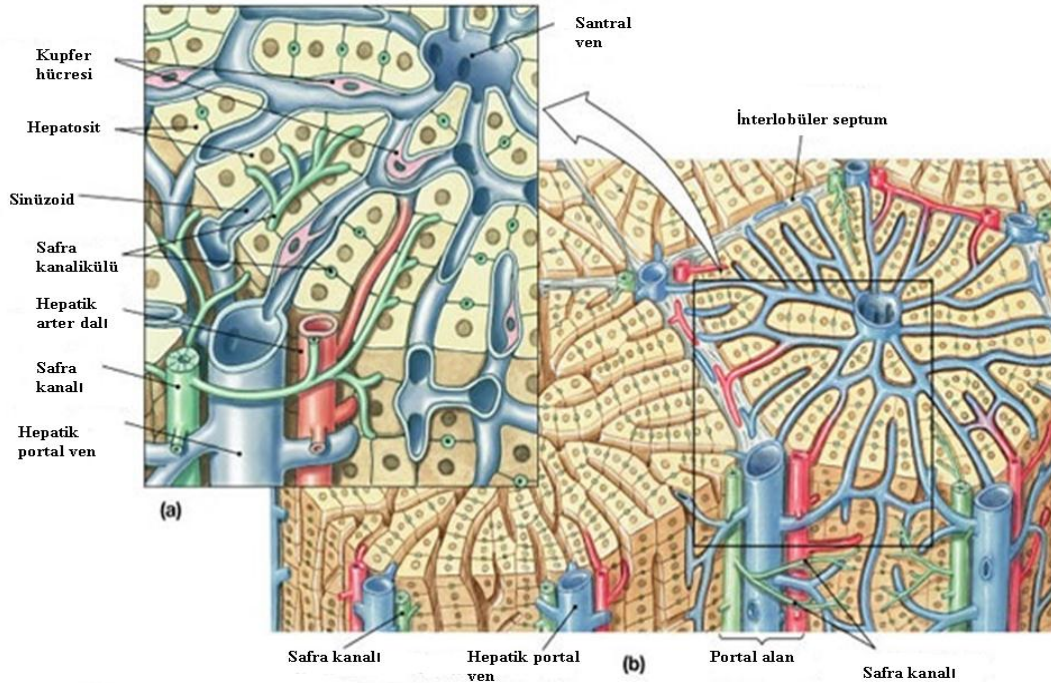
Karaciğer lopçuğunun (lobülünün) mimarisinin üç adet kavramsal yaklaşımı bulunmaktadır:

- Yapısal parametrelere dayalı olan **karaciğer lopçuğunun (lobülünün) klasik kavramı.**
- Birbirine komşu lobüllerden aynı safra kanalına safra boşalımı yaklaşımına dayalı **portal lobül kavramı.**
- Birbirine komşu lobüllerin venöz sinüzoidleri boyunca oksijenin dağılım derecelendirilmesine dayalı **karaciğer asinus kavramı.**

Klasik karaciğer lopçuğu genelde hegzagon bir yapı olarak tarif edilen, kan sinüzoidlerinin birleştiği merkezi bir venül içeren polihedral bir yapıdır. Portal venin ve hepatik arterin birer dalları ve bir safra kanalı şeklinde portal triadı oluşturan yapılar, genellikle altıgenin açısı oluşturan bölgelerinde yer almaktadır. Bu geometrik yapılanma, perilobüler bağ dokusunun çok fazla olmaması nedeni ile insanlarda çok az belirgindir. Bununla beraber, portal triadın oluşturucularının biliniyor olması insan hepatik lobülünün belirlenmesine yardımcı olmaktadır.

Portal lobülde, portal triad merkezi ekseninde yer almakta olup, etrafı saran hepatosit parankimasından safrayı toplamaktadır.

İşlevsel düşünüşler, klasik görüşleri değişime uğratmıştır; **karaciğer asinusu** kavramı patofizyolojiye bir altyapı sağlamıştır. Karaciğer asinusunda **sınırlar, bir hepatik arterin son dalı ile belirlenmektedir** (90, 98, 145).



Şekil 3: Karaciğer Histolojisi

2.3.1.4 Karaciğer asinusunun yapısı ve işlevi

Karaciğer parankiminin portal venin uç dallarından ve hepatik arterden beslenmesiyle bağlantılı olarak tanımlanan ve oval-elmas şekline sahip olan sahalara **karaciğer asinüsleri** denir. Klasik karaciğer lobülüne göre daha küçüktürler ve daha zor görünürler fakat işlevsel ve klinik yönlerden kullanışlılardır; çünkü çoğu hastalıkta görülen metabolik ve patolojik değişiklikler en iyi bu yapılar üzerinden açıklanmaktadır. Bir karaciğer asinüsünün kısa ekseni, iki klasik karaciğer lobülünün sınırları arasında uzanırken uzun ekseniyse iki santral ven arasında kısa eksene en yakın sanal çizgidir. Asinüsteki hepatositler kısa eksenin etrafında yer alan ve aynı merkezden dışa doğru yerleşime sahip (konsantrik) eliptik zonlardır. En içte yer alan Zone 1 (birinci bölge), portal venülün ve hepatik arteriyolün uç dallarına en yakın yerleşime sahiptir. Bu bölge kandaki oksijenin ve besin maddelerinin ilk alındığı yer olup, hepatositlerdeki glikojen ve plazma proteini üretiminin en fazla olduğu kısımdır. Zone 3 (üçüncü bölge) merkezi vene en yakın olup, oksijen açısından fakirdir. Zone 2 (ikinci bölge) oksijen ve besin maddeleri açısından ara bir durumdadır. Üçüncü bölge daha az oksijen almaktadır, metabolizmanın değişmesi durumunda iskemik nekrozun ve yağ birikiminin ilk görülmeye başladığı yerdir ve *ilaç ve alkol detoksifikasyon* alanıdır. Klasik karaciğer lobülü ve karaciğer asinüsü, lobüllemenin birbirleriyle çelişmekten çok birbirlerini tamamlayan kavramlarıdır (90, 98, 145).

2.3.1.5 Karaciğer hücreleri

- 1) Hepatosit
- 2) Peroksizom
- 3) İto Hücreleri
- 4) Kupffer Hücreleri

1) **Hepatosit:** Bir hepatik lobülün fonksiyonel olan **ekzokrin** ve **endokrin** hücrelidir. Hepatositler, sinüzoid boşlukları ile çevrili, birbirleri ile anastomoz yapan

bir hücre kalınlığında plaklar oluşturur. Perisinüzoidal **Disse aralığı** hepatositleri sinüzoiddeki kandan ayırır.

Portal triadı oluşturan yapılar, bağ dokusuna gömülü vaziyette, hepatik lobülden **sınırlayıcı hepatosit plakları** ile ayrılır. Hepatik arterden ve portal venden gelen kan sinüzoidlerin içerisine akar ve sonra merkezi venüle boşalır. Safra akışı ise hepatositlerden portal alandaki safra kanalına olacak şekilde ters yöndedir.

Bir hepatositin iki adet hücresel bölgesi bulunmaktadır: **Bazolateral bölge** ve **apikal bölge**.

Bazolateral bölge çok sayıda mikrovillus içerir ve yüzü **Disse aralığına doğrudur**. Disse aralığındaki fazla sıvı, hepatik lobülün dış kısmında bulunan **Mall aralığı** tarafından toplanır. Birbirine komşu hepatositlerin yan yüzeylerinde bulunan **gevşek bağlantı kompleksleri (neksuslar)**, fonksiyonel açıdan hücreler arası işbirliğini sağlamaktadır.

Bazolateral bölge **kandan kaynaklanan maddelerin emilimine ve plazma proteinlerinin (albumin, fibrinojen, protrombin ve koagülasyon faktörleri V, VII ve IX gibi) salgılanmasına** katkıda bulunur. Hepatositler kan pıhtılaşması için çok sayıda plazma proteini sentezler. Kan pıhtılaşma hastalıkları, karaciğer hastalığı ile ilişkilidir.

Apikal bölge, mikrovilluslarla çevrelenmiş bir girinti şeklinde, hepatositin ekzokrin bir ürünü olan safranin dışarı kaçışını önlemek üzere kenarları **tıkayıcı bağlantılarla** sıkıca kapatılmış olan **safra kanalikülünün** kenarını çevrelemektedir.

Hepatosit plazma proteinlerinin sentezinde yer alan kaba endoplazmik retikulumun yanı sıra, glikojen ve lipid sentezi ve detoksifikasyon mekanizmaları ile ilişkili olan çok iyi gelişmiş bir yapı şeklinde düzgün yüzeyli endoplazma retikulumu içerir.

Düzgün yüzeyle endoplazma retikulumunun membranlarında yerleşik olan enzimler şu işlevlerden sorumludur:

- Kolesterol ve safra tuzlarının sentezi,
- Bilirubin, steroidler ve ilaçların glukuronid ile konjugasyonu
- Glikojenin glikoza yıkımı
- Serbest yağ asitlerinin trigliseritlerle esterleşmesi
- Tiroid hormonları olan triiyodotironinden (T3) ve tiroksinden (T4) iyodun uzaklaştırılması
- Düzgün yüzeyle endoplazma retikulumunun önemli ölçüde geliştiği, fenobarbital gibi, lipitte eriyebilir ilaçların detoksifikasyon işlemi.

Golgi aygıtı, salgılanan proteinlerin glikolizasyonuna ve lizozimal enzimlerin çeşitlenmeleri işlemine katkıda bulunur. **Lizozomlar** yaşlanmış olan plazma glikoproteinlerini bazolateral bölgede hepatik lektin membran reseptörü ile – **asialoglikoprotein reseptörü** içine alarak yıkıma uğratır. Bu reseptörün bağlanma afinitesi, sililik asidin ortadan kaldırılmasını takiben terminal galaktoza karşı oluşmaktadır. Hepatositlerdeki lizozomlar, ferritinin yıkım ürünü olan ve **çözünabilen ferritin** ile **çözünemeyen hemosiderin** şeklinde bulunan demiri depolamaktadırlar (90, 98, 145).

2) Peroksizomlar: Peroksizomlar, membran ile sarılmış olup, hidrojen peroksit açığa çıkartan oksidazları yüksek miktarda içermektedir. Hidrojen peroksit toksik bir metabolit olduğundan katalaz enzimi bu ürünü oksijen ve su açığa çıkartacak şekilde yıkıma uğratır. Bu katalitik olay, hepatositlerde ve böbrek hücrelerinde meydana gelmektedir.

Peroksizomlar, daha önceden var olan peroksizomlardan tomurcuklanma yolu ile oluşmaktadırlar. Böylece, bu organel, peroksizomal matriks proteinlerini taşır. Bir peroksizom, değişik metabolik yollarda kullanılacak olan yaklaşık 50 adet enzimi içermektedir (98).

3) İto Hücreleri (Yıldızsı Hücreler) : Karaciğer sinüzoidlerinin yakın konumunda, Disse Aralığı'nda yer alır. Bu hücreler, mezenşimal kaynaklı olup, yağ içerirler ve Vitamin A'nın metabolizması ve depolanmasında rol oynamaktadırlar.

Patolojik durumlarda, karaciğer yıldızsı hücreleri kollajen üreten hücrelere dönüşürler. Karaciğer yıldızsı hücreleri Tip I Kollajen sentezi ve salınımına ek olarak, Laminin'i, proteoglikanları ve büyüme faktörlerini salgılamaktadırlar. Kollajen birikimi ve hücre dışı matriks bileşenleri sirozun tipik bir özelliği olan ilerleyici bir karaciğer fibrozisine neden olacak şekilde artış gösterirler.

Kupffer hücreleri tarafından üretilen sitokinler, karaciğer ito hücreleri tarafından yapılan kollajen sentezini uyarır. Disse Aralığı'nda artmış olan kollajen lif birikimi ve hücre dışı matriks, sinüzoidlerdeki endotel hücrelerindeki aralıklarda ve fenestralarda kayıplara neden olmaktadır.

Fibrotik süreç ilerledikçe, karaciğerin yıldızsı hücreleri sinüzoidlerin lümenini sıkarak daraltan ve damar direncini arttıran miyofibroblastlara dönüşürler. Sirozda, portal venöz kanın akışına karşı karaciğer sinüzoidlerinde oluşan direnç artışı portal hipertansiyona neden olur (98).

4) Kupffer Hücreleri: Kupffer hücreleri değişime uğramış olan fagositik hücreler olup, monositlerden köken alır. Endotel hücrelerinin lümene bakan yüzeyinde bulunur. Başlıca işlevleri yaşlanmış eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini sindirmek, immünolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamak ve kalın bağırsaktan portal kana geçen bakterileri ortadan kaldırmaktır. Karaciğer hücre topluluğunun % 15'ini Kupffer hücreleri oluşturur. Bu hücrelerin çoğu fagositozda çok aktif oldukları periportal lopçuk bölümlerinde yerleşmiştir (90).

2.3.2 Böbrek histolojisi

Bir çift böbrek, bir çift üreter, mesane ve üretradan oluşan boşaltım sistemi homeostaz, süzülme, aktif emilim, pasif emilim ve salgılama gibi görevleri sonucunda içinde çeşitli artık ürünlerin seçilerek atıldığı idrarın üretiminden sorumludur.

İki böbrek dakikada 125 ml süzülme ürünü üretir; 124 ml organda emilir ve 1 ml idrar olarak üreterlere salgılanır. Her 24 saatte 1500 ml idrar oluşur.

Böbrekler sıvı elektrolit dengesinin sağlanmasında, renin salgılayarak kan basıncının düzenlenmesinde, glikoprotein yapısında olan eritropoietin üreterek eritrosit yapımında görevleri vardır. Aynı zamanda kalsiyum metabolizmasının kontrolü ile ilgili bir Vitamin D türevi olan 1,25-dihidroksikolekalsiferol'ü (D3 Vitamini) de aktive eder.

Her böbrek, dışta **korteks** (kabuk) ve içte **medullaya** (öz) sahiptir. İç ve dış bölgelere ayrılan korteks içerisinde bir-dört milyon **nefron** bulunmaktadır. Medulla ise 10-18 adet piramidal şekilli **medullar piramitten (Pyramis renalis, Malpighi Piramitleri)** oluşur. Bu piramitlerin **Basis pyramidis** denilen taban kısımları böbreğin dış yüzüne, **Papilla renalis** denilen tepe kısımları ise Sinus renalis'e yönelmiştir. Pyramis renalis'ler birbirlerine değmeyecek şekilde sinus renalis etrafında dizilmişlerdir. Bunların aralarında **Columna renalis (Bertin Sütunları)** denilen kortikal cevher uzantıları bulunur. Üç boyutlu olarak düşünüldüklerinde, bir Pyramis renalis'in sadece Papilla renalis kısmı hariç olmak üzere, diğer yüzleri tamamen kortikal cevherle sarılıdır. İşte bir Pyramis renalis ve etrafını saran kortikal cevher bölümüne bir **böbrek lobu (lobus renalis)** denilir. Buna göre bir böbrekte piramit sayısı kadar böbrek lobu bulunur. Pyramis renalis'lerin taban kısımlarından kortikal cevhere parmak gibi uzanan birbirine paralel tübül demetleri girer. Bu demetlere **medullar ışınlar (Pars radiata, Stria medullaris= Ferrein Uzantıları)** denir.

Papillaları hariç olmak üzere, Pyramis renalis'lerin her tarafını saran alan böbreğin korteks alanını oluşturmaktadır. Kortikal cevherin iki bölümü vardır. Birinci

bölümü böbreği bir kabuk gibi sarar. Bu bölüm, Capsula fibrosa ile Pyramis renalis'lerin taban kısımları arasında bulunur. İkinci bölüm ise böbrek piramitleri arasında bulunur. Sinus renalis'e kadar uzanan bu ikinci bölüm kesitlerde Pyramis renalis'ler arasında bir sütun şeklinde görülürler. Bu nedenle bunlara **Columna renalis (Bertin sütunları)** denilir.

Bir böbrek lopçuğu, iki farklı yolla tanımlanabilen kortikal bir yapıdır:

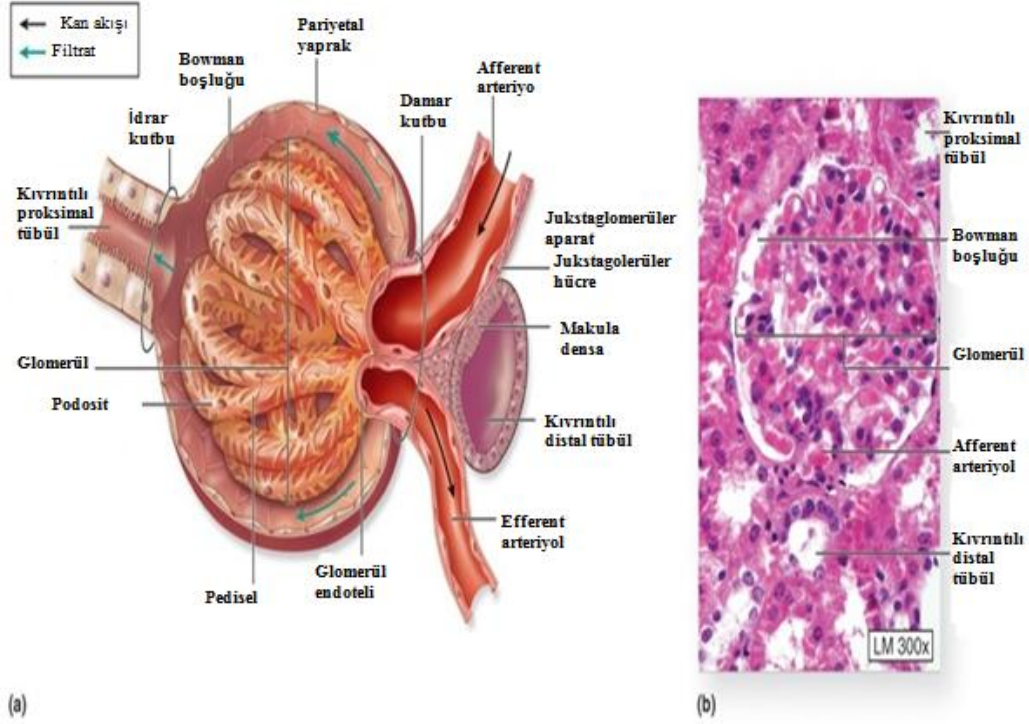
1-) **Böbrek lopçuğu**, tek bir **toplayıcı kanal (Bellini Kanalı)** ve ona boşalan çevredeki nefronlardan oluşur. Nefronların düz parçaları, tek bir toplayıcı kanalla birlikte bir medullar ışını (Ferrein Işını) olarak adlandırılır. Bir medulla ışını, lopçuğun eksenidir.

2-) **Böbrek lopçuğu**, iki komşu çıkan lopçuklararası (interlobüler) arterle yana gelmiş korteks bölümüdür. Her lopçuklararası arter bir afferent glomerular arteriyol, bir kapiller ağ ve efferent glomerular arteriyolden oluşan glomerül serileri oluşturur.

Her böbrek, gevşek bağ dokusu, kan damarları, lenfatikler ve sinirleri içeren bir stroma ile çevrelenmiş nefron ve toplayıcı kanallardan oluşmaktadır. **Nefron** 300 µm çapında **böbrek cisimciği (renal cisimcik)** ve 5-7 mm uzunluğunda **böbrek tübülünden** oluşur. Böbrek tübülü birçok bölümden oluşur. Bunlar **proksimal kıvrıntılı tübül, Henle Kulpu** ve toplayıcı tübüle boşalan **distal kıvrıntılı tübüldür**. Toplayıcı tübül, kortikal bölüm ile dış medullar ve iç medullar toplayıcı tübüller olmak üzere üç bölüme sahiptir: Henle Kulpu'nun kalın inen ve kalın çıkan kolları sırasıyla proksimal ve distal kıvrıntılı tübülleri, Henle Kulpu'nun ince koluna bağlar (10, 90, 98, 145).

Böbrek cisimciği (renal cisimcik, malpighi cisimciği) adını verdiğimiz yapı kapiller damar yumağı olan **glomerüller** ve onu saran **Bowman Kapsülü**'nden oluşur. Bowman Kapsülü iki tabakaya sahiptir: Kapsülün iç tabakasını oluşturan ve kapiller glomerüle tutunan **visseral tabaka** ve böbrek cisimciğinin iç tabakasını oluşturan, bağ dokusu stroma ile birlikte olan **pariyetal tabaka**. İki tabaka arasında, kapiller

duvarından ve visseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı **idrar boşluğu (Üriner boşluk, Bowman Boşluğu)** bulunmaktadır.



Şekil 4: Renal korpuskül (Böbrek cisimciği)

Her böbrek cisimciğinde, getirici (afferent) arteriyollerin girdiği ve götürücü (efferent) arteriyollerin çıktığı bir **damar kutbu** ve proksimal kıvrıntılı tübüllerin başladığı bir **idrar kutbu** vardır. Afferent arteriyol renal cisimciğe girdikten sonra genellikle her biri kapillere bölünerek **glomerülleri** oluşturur (10, 90, 98, 145).

Bowman kapsülünün pariyetal epitelini ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelten oluşur. Tek katlı yassı epitel, proksimal tübül ile devam eden idrar kutbu tek katlı kübik ya da prizmatik epitele dönüşür.

Visseral tabakadaki hücrelerin gövdelerinden birkaç birincil uzantı şekillenir ve bu hücreler **podosit (ayaklı hücre)** adını alır. Podositler, glomerüler kapiller yüzeyini tümüyle çevreleyen uzun ve dallanan hücre uzantılarına sahiptir. Podositler glomerüllerin pencereci endotel hücrelerin her ikisi ve bunların ilişkili olduğu bazal lamina **glomerüler süzme (filtrasyon) bariyerini** oluşturur. Podositlerin sekonder

uzantıları olan pediseller arasında 25 nm'lik sabit bir mesafede, bazal lamina ile doğrudan temas halindedir. Pediseller bazal laminaya $\alpha_3\beta_1$ integrin ile tutunurlar. Pediseller, bazal laminayı kaplamak için birbirlerinin içine geçerler ve süzme (filtrasyon) yarıkları olan boşluklar ile birbirlerinden ayrılırlar. Süzme yarıkları, membranöz materyal olan, 6 nm kalınlığında filtrasyon yarığı diyaframı ile birbirlerine bağlanırlar. Süzme yarığı diyaframı, aktin filamentlerine (pedisel içinden) CD2AP proteini ile tutunan nefrin proteininden oluşur. Nefrinin endotel pencerelerinden ve bazal laminadan moleküllerin geçişini geciktirdiği sanılmaktadır. Glomerüler süzme bariyerinin bileşenlerine ek olarak, plazma ultrafiltratındaki moleküllerin geçişini kontrol eden diğer sınırlayıcı etkenler ise boyut ve elektrik yüküdür. 3.5 nm'den daha küçük ve pozitif yüklü veya nötr moleküller daha kolay süzülürler. Albumin (3.6 nm ve anyonik) zor süzülür.

Glomerül kapillerindeki pencereci endotel hücreleriyle, bunların dış yüzeyini örten podositler arasında kalın bir bazal membran bulunur. Bu membranın kapillerdeki kan ile idrar boşluğunu birbirinden ayıran bir bariyer olduğuna inanılmaktadır. Bu bariyer, endotel hücrelerinin bazal laminası ile podositlerin bazal laminasının kaynaşmasıyla oluşmaktadır. Bu bazal membran elektron mikroskopuyla incelendiğinde Lamina densa adı verilen ortada elektron yoğun bir tabaka ve bu tabakanın her iki yanında elektron geçirgen bir tabaka olan Lamina rara bulunur. Elektron geçirgen olan lamina rara hücrelerin tutunmasına yarayabilecek **fibronektin** içerir. Lamina densa ise negatif yüklü bir proteoglikan olan ve katyonik moleküllerin geçişini engelleyen **heparan sülfat** içeren bir matriks içinde **Tip IV Kollajen** ve **laminin**in oluşturduğu ağ şeklinde bir yapıdır. 10 nm'den daha büyük partiküller bazal laminadan geçemez; molekül ağırlığı albumin molekül ağırlığından (69kDa) fazla olan negatif yüklü proteinler ise membrandan eser miktarda geçmektedir.

Erişkin bir kişide her iki böbreğe gelen kan dakikada 1.2-1.3 L'yi bulur. Bu durum vücutta dolaşan bütün kanın her dört-beş dakikada bir böbrekten geçmesi anlamına gelmektedir. Glomerüllerde bulunan ve yaklaşık 45 mmHg olan arteriyel kapiller içindeki hidrostatik basınç, başka kapillerdeki hidrostatik basınçtan daha

yüksektir. Kanın hidrostatik basıncına yanıt olarak glomerül süzüntüsü oluşur. Bu basınç, kolloidlerin oluşturduğu onkotik basınç (20 mmHg) ve Bowman Kapsülü içindeki sıvıların hidrostatik basıncı (10mmHg) ile dengelenmektedir. Glomerül kapillerinin getirici ucundaki net süzülme basıncı 15 mmHg'dır. Ultrafiltratın bileşimi kan plazmasına benzer ancak makromoleküller glomerül duvarını geçemediğinden hemen hiç protein içermez.

Glomerül üç bileşenden oluşur: Pencereci endotel hücrelerle döşenen ancak pencereci kapillerin açıklıklarını kaplayan ince perdeye sahip olmayan **glomerüler kapillerler**, **mezengiyal matrikse** gömülü **mezengiyal hücrelerce** oluşturulan mezangiyum ve Bowman Kapsülü'nün **visseral tabakasını** oluşturan **podositler**.

Mezengiyum, glomerüler kapillerler arasında bulunan mezengiyal hücreler ve mezengiyal matriksten oluşan glomerül içi (intraglomerüler) bir yapıdır. Ek olarak; mezengiyal hücreler, makula densa ile afferent ve efferent glomerüler arteriyollerle sınırlandırılan bir boşlukta glomerül dışında da toplanırlar (ekstraglomerüler mezengiyal hücreler). İntraglomerüler mezengiyal hücreler, ekstraglomerüler mezengiyal hücrelerle devam edebilirler (10, 90, 98, 145).

Mezengiyal hücreler, düz kas hücreleri ve makrofajların özellikleri sahip özelleşmiş perisitlerdir. Mezengiyal hücreler; kasılabilir, fagositik, çoğalabilme yeteneğinde, matriks ve kollajen sentezleyen ve biyolojik olarak aktif maddeleri (prostaglandinler ve endotelinler) salgılayan hücrelerdir. Endotelinler, afferent ve efferent glomerüler arteriyollerin kasılmasını uyarırlar. Mezengiyal hücreler, glomerüler süzme sürecine aşağıdaki şekilde katılır:

- 1-) Glomerüler kapiller için mekanik destek sağlayarak,
- 2-) Fagositik aktiviteleri ile glomerüler bazal lamina materyallerinin dönüşümünü kontrol ederek,
- 3-) Kasılabilme aktiviteleri ile kan akışını düzenleyerek,
- 4-) Prostaglandinleri ve endotelinleri salgılayarak,

5-) Anjiyotensin II'ye yanıt vererek.

Glomerüler süzücü membran tamamen kapillerle çevrelenmez. Süzme bariyerini geçemeyen immünoglobulinler ve komplement moleküller, mezengiyal matrikse girebilirler. Matrikste immünoglobulin bileşiklerinin birikimi, glomerülusun sonuçta tıkanmasına yol açan immün yanıtın tetikleyicisi olan sitokinlerin mezengiyal hücrelerce üretimini artırır.

Proksimal Kıvrıntılı Tübül: Böbrek cisimciğinin idrar kutbunda, pariyetal yaprağın tek katlı yassı epiteli proksimal kıvrıntılı tübülün epiteli olan apikal kısmı sıkı bağlantılarla bir arada tutulan tek katlı kübik ya da prizmatik epitel ile devam eder. Bu kısım distal kıvrıntılı tübüllerden daha uzundur. Bu nedenle böbrek cisimciklerinin etrafında daha sık görülür. Proksimal kıvrıntılı tübül çok sayıda mitokondri içerdiğinden sitoplazması asidofilik boyanmaktadır.

Üriner boşluktaki plazma ultrafiltratı, aktif ve pasif mekanizmalarla, süzölmüş su, glukozun ve aminoasitin tümü, sodyum klorürün (NaCl) % 85'i, fosfat (P), kalsiyum (Ca) proksimal kıvrıntılı tübül tarafından emilirler. Proksimal kıvrıntılı tübüller geri emilim için uygun yapısal özelliklere sahiptirler.

1-) Mikrovillusların oluşturduğu iyi gelişmiş fırçamsı kenarlı bir üst (apikal) bölge.

2-) Yoğun hücre zarı kıvrımları ve interdijitasyonları içeren bir bazolateral bölge.

3-) İyonların, Mg^{+2} 'a bağımlı Na^+ , K^+ aktive olmuş pompa ile aktif transportu için adenozintrifosfat (ATP) sağlayan hücre zarı kıvrımları arasına yerleşik olan uzun mitokondriyonlar.

4-) Endositoz ve küçük proteinlerin aminoasitlere yıkımı için gerekli olan apikal tübuloveziküller ve lizozomlar. Üre ve glukozun hücre zarını geçme hareketi bir transport proteini (taşıyıcı protein) ile gerçekleştirilir. Geri emilen materyal peritübüler kapiller ağa girer.

Proksimal tübül epitel hücrelerinin mikrovilluslarının tabanları arasında çok sayıda kanalcık bulunur; bu kanalcıklar makromoleküllerin emiliminde etkin rol oynamaktadır. Uç zarların içe doğru yaptığı girintiler pinositotik vezikülleri oluşturur ve bu veziküllerin içinde glomerül süzgecinden geçen makromoleküller (M.A<70kDa) bulunur. Lizozomlarla pinositoz vezikülleri kaynaşırlar ve oluşan monomerler dolaşıma geri döner. Bu hücrelerin taban bölümlerinde yoğun iç girintiler ve komşu hücreler arasında yan kenetlenmeler bulunmaktadır. Na⁺ iyonlarının aktif olarak hücre dışına atılmasından sorumlu olan Na⁺/K⁺ ATPaz (sodyum potasyum pompası) adı geçen bazolateral zarlarda bulunur. Mitokondri hücrenin tabanında yerleşmiştir. Bu düzenlenme hücrenin tabanında yüzey alanını arttırır.

Su ozmotik gradyent ile pasif olarak emilir. Proksimal kıvrıntılı tübül suya geçirgen olduğundan, su; osmoz ile sıkı bağlantılar arasından yan hücrelerarası boşluğa geçer. Süzüntüdeki glikoz miktarı proksimal tübülün emme yeteneğini aştığında, idrar miktarı artar ve idrar glikoz içerir (10, 90, 98, 145).

Henle Kulpu: Dış çapı 60 µm olan ve yapıca proksimal tübüle benzeyen kalın inen kol, 12 µm çapa sahip ince inen kol, ince çıkan kol ve yapıca distal tübüle benzeyen kalın çıkan koldan oluşan “U” şeklinde bir yapıdır. Nefronu oluşturan henle kulpunun inen kollarının lümeni geniştir; çünkü duvar epitelinin çekirdekleri yalnızca çok hafif şekilde lümeneye çıkıntı yapan yassı epitelyum hücrelerinden oluşmaktadır.

Henle Kulpu, süzölmüş suyun % 15 kadarını ve NaCl, K⁺, Ca⁺² ve HCO₃⁻’in % 25 kadarını geri emer.

Bütün nefronların 1/7’si **kortikomedullar sınırın** yakınında bulunur. Bu yüzden **jukstamedullar nefronlar** adını alırlar. Diğer nefronlar ise **kortikal nefronlar** adını alır. Jukstamedullar nefronlar, medulla intersitisyumunda hipertonic gradyenti sağlama konusunda özel bir önemi vardır. Medulla interstisyumundaki hipertonic ortam böbreğin hipertonic idrar üretme yeteneğinin temelini oluşturur. Jukstamedullar

nefronların Henle Kulpu çok uzundur ve medullanın derinliklerine dek inerler. Kortikal nefronlarda ise inen ince kollar çok kısadır ve çıkan ince kol bulunmaz.

Henle Kulpu'nun inen ince kısmı suya geçirgen olmasına karşın çıkan bölümün tümü su geçirmez. Medulla intersitisyumunda hipertonic gradyentin oluşabilmesi için çıkan kalın kolda NaCl aktif olarak tübülden dışarı atılır. Medullar piramitlerin uçlarındaki intersitisyumun ozmolaritesi kandan dört kat daha yüksektir.

Distal Kıvrıntılı Tübül: Henle Kulpu'nun çıkan kalın kolu kortekse girer, belli bir yolu kat eder, kıvrımlar oluşturur ve tek katlı kübik epitelden oluşmuş distal kıvrıntılı tübül oluşur. Hem distal hem de proksimal kıvrıntılı tübüllerin kortekste bulunmalarına karşın distal kıvrıntılı tübüllerin fırçamsı kenarları ve apikal kanalları yoktur. Hücreleri daha küçüktür. Distal tübül hücreleri proksimal tübül hücrelerine göre daha küçük ve düz olduğu için distal tübülde daha fazla sayıda çekirdek görülür. Distal kıvrımlı tübül hücreleri iyon geçişinde işlev gösteren daha incelikli bazal membran girintilerine ve bunlara eşlik eden mitokondriumlara sahiptir.

Distal kıvrımlı tübüller kortekste izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait böbrek cisimciğinin damar kutbu ile temas halindedir. Bu yakın temas noktasında distal tübül afferent arteriyol gibi farklılaşır. Distal kıvrımlı tübül hücreleri bu jukstaglomerüler bölgede genellikle prizmatik hale dönüşür ve çekirdekleri bir araya toplanır. Çoğu hücrenin bazal bölümünde golgi kompleksi bulunur. Mikroskopik örneklerde çekirdeklerin yakın yerleşiminden dolayı daha koyu görünen bu distal tübül segmenti "makula densa" olarak adlandırılır. Makula densa hücreleri tübül içi sıvıdaki klorür iyon (Cl^-) içeriğine ve su hacmine duyarlıdır. Dolaşıma renin salgısını başlatan moleküler sinyaller üretir.

Distal kıvrımlı tübüllerde aldosteron yoğunluğu yeterince yüksek olduğunda; sodyum iyonu (Na^+) emilir, potasyum iyonları (K^+) dışarı verilir. Bu düzenek vücudun toplam su ve tuz içeriğini etkiler. Distal tübül aynı zamanda tübüldeki idrara hidrojen ve

amonyum iyonlarını salar. Bu etkinlik kandaki asit-baz dengesinin korunmasında çok önemlidir.

Toplayıcı Tübül ve Kanallar: Distal kıvrımlı tübüllerden geçen idrar, birbirlerine bağlanarak daha büyük, düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır. Bu kanallar medullar piramitlerin ucuna yaklaştıkça genişler. Küçük toplayıcı tübül hücreleri çapı yaklaşık 40 µm olan kübik epitelyum hücrelerinden oluşmaktadır. Medullanın derinliklerine indikçe, medullar piramitlere yaklaştıkça, çapı 200 µm'ye varan, epiteli prizmatik epitel olan toplayıcı tübül hücreleri ile karşılaşırız.

Toplayıcı tübül esas hücreler ve interkalat hücreler olmak üzere iki hücre tipinden oluşan kübik epitelyum ile döşelidir. Esas hücreler, az sayıda katlantılara ve mitokondriyonlara sahip bir bazolateral yüze sahiptir. Na⁺ ve suyu geri emerler ve Na-K ATPaz pompasına bağımlı durumdaki K⁺'u salgırlar. İnterkalat hücrelerin mitokondriyonları çoktur, ya H⁺ iyonunu ya da HCO₃⁻'i salgırlar. Bu nedenle, asit-baz dengesinin önemli düzenleyicileridir. Aynı zamanda K⁺'u geri emerler.

Suyun ve NaCl'ün emilimini birkaç hormon ve faktör düzenler:

1-) **Anjiyotensin II**, proksimal kıvrımlı tübüldeki NaCl ve su geri emilimini uyarır. Hücre dışı sıvı hacmindeki azalma, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini aktive eder ve plazma Anjiyotensin II yoğunluğunu artırır.

2-) Adrenal korteksin glomeruloza hücrelerinden sentezlenen **aldosteron**, Henle Kulpu'nun çıkan kolunda, distal kıvrımlı tübülde ve toplayıcı tübülde NaCl geri emilimini uyarır. Anjiyotensin II ve K⁺'un plazma yoğunluğundaki artışı, aldosteron salınımını uyarır.

3-) **Atriyal Natriüretik Faktör** (28 aminoasitli bir peptit), NaCl ve suyun idrarla atılımını artırır. Ayrıca nörohipofizden ADH (vazopressin) salınımını engeller. Atriyal natriüretik faktörle aynı genle kodlanan ve benzer aminoasit dizilimine sahip olan **Ürodilatin** (32 aminoasitli peptit) ise distal kıvrımlı tübül ve toplayıcı tübülün medulladaki kısmından NaCl ve suyun geri emilimini engeller. Ürodilatin, Natriüretik Faktör'den daha kuvvetli bir natriüretik ve diüretik hormondur.

4-) **Antidiüretik Hormon (ADH, vazopressin)**, su dengesinin düzenlenmesinde en önemli hormondur. ADH, hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerinde yerleşik nöroendokrin hücrelerden sentezlenen, 9 aminoasit uzunluğunda olan bir peptittir. Hücre dışı sıvı hacmi azaldığında, ADH toplayıcı tübülün suya geçirgenliğini artırır. ADH olmadığında, toplayıcı tübül suya geçirgen değildir. ADH, NaCl'in idrarla atılımında küçük bir etkiye sahiptir.

Jukstaglomerüler Aygıt: Böbrek cisimciğinin hemen bitişiğinde, getirici arteriyolün Tunika media'sında değişmiş düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücrelere **jukstaglomerüler (JG) hücreler** denir. Sitoplazmalarında salgı granülleri vardır ve **Renin** adı verilen kan basıncının korunmasında rol oynayan bir enzim salgılar. Jukstaglomerüler hücre ve makula densa bir arada **jukstaglomerüler aygıtı** oluşturur. Jukstaglomerüler aygıtın bir bölümünü de açık renk boyanan **glomerül dışı mezengiyal hücreler (Lacis Hücreleri)** oluşturur. JG hücrelerinin bol miktarda granüllü endoplazmik retikulumu, iyi gelişmiş golgi kompleksi ve 10-40 nm çaplı salgı granülleri bulunmaktadır.

JG hücreleri tarafından salgılanan Renin, karaciğer tarafından üretilen ve bir plazma proteini olan Anjiyotensin'i inaktif decapeptit olan Anjiyotensin I'e dönüştürür. Anjiyotensin I, akciğer endotel hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunan dönüştürücü bir enzimin etkisiyle iki aminoasitini kaybeder ve etkin vazopresif bir oktapeptit olan Anjiyotensin II'ye dönüşür. Bu sayede vazokonstrüksiyon gelişir ve vücutta su kaybı sonucunda oluşmuş olan hipotansiyon düzenlenir (10, 90, 98, 145).

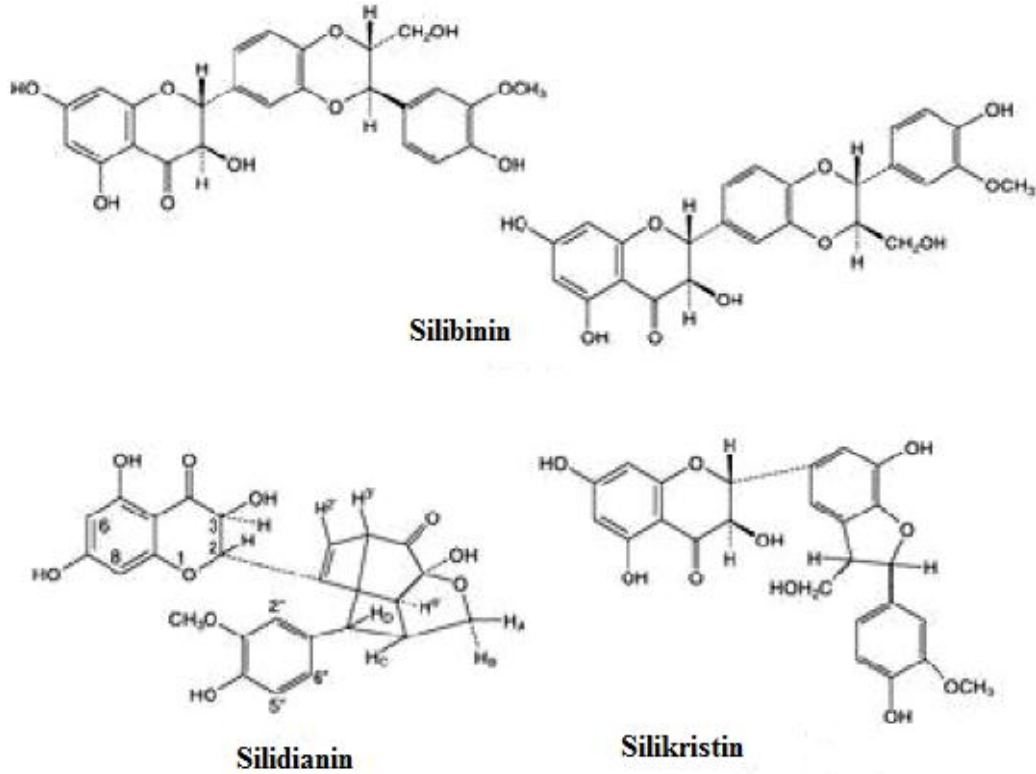
2.4. Silymarin

2.4.1. Silymarin'in Genel Özellikleri

Silybum marianum (milk thistle, deve diken) adlı yenilebilir bir bitkiden elde edilen Silymarin'in anavatanı Akdeniz bölgesi olup Avrupa'dan Kuzey Amerika'ya kadar yayılım göstermektedir (41, 117, 149). *Silybum marianum* Hindistan, Çin, Güney

Amerika, Afrika ve Avustralya’da yetişmektedir. Bir yan etkisi olmadığı bilinen bu bitkiyi kullanan ülkelerden biri olan Kanada’da onaylı olarak 70 farklı ürün içerisinde satılmakta olup Almanya’da da yılda 180 milyon dolar gibi yüksek miktarda bir pazara sahiptir (41, 181).

Silymarin ($C_{25}H_{22}O_{10}$) polifenolik bir flavonoiddir. Ekstratı hazırlanırken % 95’lik etanol ve deve dikenini bitkisinin tohumları kullanılır. Deve dikenini bitkisi yaklaşık olarak % 70-80 Silymarin flavonolignanını içermektedir. Yaklaşık % 20-30 oranında kimyasal olarak belirlenmemiş, çoğunlukla polimerik ve okside olmuş polifenolik bileşiklerden oluşmaktadır. Silymarin kompleksinin asıl elemanı Silybin’dir. Silybin’in varlığı Silymarin’in belirtilen yararlarının en önemli göstergesidir. Yaklaşık 1:1 oranında A ve B iki diastomer karışımı olan Silybin’in yanı sıra, diğer flavonolignanların büyük miktarları Silymarin kompleksinde bulunmaktadır. Bunlar; İzosilybinin (% 5), Silikristin (% 20), Silidianin (% 10) ve Dehidrosilybin’in ve birkaç flavonoid, özellikle Taksifolin adı verilen izomer flavonoidlerdir (17).



Şekil 5: Silymarin izomerleri

Silybum marianum bitkisinin tohumları ayrıca Betain, Trimetilglisin ve özellikle Silymarin'in karaciğeri koruyucu ve anti-enflamatuar etkisine katkıda bulunan temel yağ asitlerini içermektedir (20, 65, 162, 170). İlave olarak, *S. marianum*'un beyaz çiçekli varyeteleri, 3-Deoksiflavonoglikanları, Silandrin, Silimonin, Silihermin ve Neosilihermin A ve B içerir. Deve dikenii sütünün çok eski zamanlardan beri tanımlanan ve kullanılan tipik uygulamaları, çoğunlukla gastrointestinal sistem (GİS) problemlerinde ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (17, 38, 53). Son zamanlarda, Silymarin/ Silybin ve onların preparasyonları alkol tüketimi ile ilişkili karaciğer hastalıkları, kronik hepatit ve siroz tedavisi ile çevresel toksin etkilerinin tedavisinde destekleyici olarak kullanılmaktadır (21, 54).

Silymarin suda çözünmez, genelde % 70-80 oranında Silymarin ekstresi içeren standart kapsüllerde üretilir. Oral yoldan alındığında yavaş bir şekilde emilir, 4-6 saatte maksimum plazma düzeyine ulaşır ve ortalama 10 saat içinde vücuttan atılır. Genelde safra yoluyla ve daha az miktarda idrar yoluyla atılır. Silymarin'in yarı ömrü 6-8 saattir. Safra yoluyla atıldıktan sonra bağırsak florasının etkisiyle hidrolize olur ve yeniden emilir. Oral yolla alınan Silymarin'in emilim oranı hayvan deneylerinde % 35 olarak gösterilmiştir (92, 178, 180).

Silymarin erişkinlerde günde üç kez 100-300 mg/kg dozunda verilir. Akut toksisite çalışmalarında Silymarin'in çok iyi tolere edildiği gösterilmiştir. İntravenöz injeksiyon sonrası Silymarin'in akut toksisitesi üzerine yapılan çalışmalarda ortalama öldürücü doz (LD₅₀) farelerde 400 mg/kg, sıçanlarda 385 mg/kg ve tavşan ile köpeklerde 140 mg/kg olarak belirlenmiştir. Silymarin oral yoldan verildiğinde daha da yüksek dozlarda (10 g/kg) tolere edilmektedir. Akut zehirlenmelerde ölüm nedeni kardiyovasküler bozukluk olarak düşünülmektedir. Subakut ve kronik toksisite oranı çok düşüktür (41, 92).

Karbon tetraklorür (CCl₄), etanol gibi karaciğere doğrudan ya da dolaylı olarak hasar veren kimyasalların kullanıldığı çalışmalarda Silymarin'in karaciğer koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir (112, 137). CCl₄ ile siroz oluşturulan farelerin karaciğerlerinin

plazma membranlarında Ca^{+2} , Na^{+} , K^{+} ve ATPaz aktivitelerinde belirgin bir düşüş meydana gelirken, koruyucu olarak kullanılan Silymarin grubunda ise ATPaz aktivitesinde düşüş gözlenmiş ve Ca^{+2} , Na^{+} ve K^{+} değerlerinin düştüğü belirtilmiştir. Plazma membranlarında lipid analizleri CCl_4 ile oluşturulan sirotik grupta kolesterol/ fosfolipid (Ko/Fo) ve sfingomyelin/ fosfatidilkolin(Sf/fo) oranlarının yükseldiği, Silymarin'in kullanıldığı tedavi grubunda ise izole olan membranlarda normal Ko/Fo ve Sf/fo oranları ortaya konulmuştur. Silymarin ayrıca CCl_4 kaynaklı kronik karaciğer hasarında artmış olan kollajen içeriğini azaltmıştır (41, 50, 92, 127, 137, 138).

Karaciğerde toksisite yaratan maddelerden biri olan etanol, sitotoksositeye karşı koruyucu olan glutasyon (GSH) seviyelerinin düşmesine, (180) Silymarin uygulaması ise glutasyon seviyesindeki düşüşü engelleyerek hasarın önlenmesine yardımcı olmaktadır. Kronik alkolik karaciğer hastalarında Silymarin'in immünomodülatör etkisi de bulunmaktadır. Bu etki ile Silymarin'in immün düzenleyici aktivitesinin karaciğer koruyucu aktivitesine dahil olduğu ve hastanın azalmış immün cevabını desteklediğini ortaya koydu (39, 92).

2.4.2. Silymarin'in farmakodinamiği

1-) Antioksidan Özelliği: Silymarin bir antioksidan ve serbest radikal süpürücüsüdür. Silymarin ayrıca hücre zarınının lipid bölgesinde oluşabilecek herhangi bir anormalliği önlemek için hücre membran bileşenleri ile doğrudan ilişki kurar. Bu sayede hücre zarının akışkan yapısını korur. Serbest radikallerin mekanizması, ROS (reaktif oksijen türleri) - kaynaklı, doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olmaktadır. Bu durum hücre membranında membran lipidlerinde ve proteinlerinde hasara ve sonucunda DNA, RNA ve diğer hücre elemanlarının zarar görmesine neden olmaktadır (60,138, 188).

2-) Lipid peroksidasyonuna karşın aktivitesi: Hücre membranında dejenarasyonla sonuçlanan lipid peroksidasyonu, serbest radikaller ile doymamış yağ asitleri arasındaki etkileşim sonucunda oluşmaktadır. Silymarin, hem serbest radikal

süpürücüsü olduğu için hem de glutatyon (GSH) ve superoksit dismutaz (SOD) ile ilişkili enzim sistemini etkilediği için antioksidan özelliği göstermektedir (112, 131, 183).

Hiperlipidemik farelerde, plazma kolesterolünün ve LDL (Low Density Lipoprotein) seviyelerinin Silymarin etkisiyle düşürüldüğü görülmüştür (168, 172).

3-) Karaciğer Yenilenmesinin Situmilasyonu: Bu işlevini hasarlı karaciğerde protein sentezini arttırarak gerçekleştirmektedir. Sıçan karaciğerinin bir kısmının alındığı in vivo ve in vitro çalışmalarda, Silybin, ribozom oluşumunda, DNA sentezinde ve buna bağlı olarak protein sentezinde inanılmaz derecede artışa neden olmaktadır. Fakat Silybin'in bu aktivitesi sadece hasarlı karaciğerde gözlenirken, sağlıklı karaciğerde gözlenmemektedir (37, 121, 176).

4-) Antiinflamatuvar ve anti karsinogenik Özellik: Silymarin'in anti-inflamatuvar ve anti-karsinogenik etkisinin moleküler temeli kesin olarak bilinmemektedir. Kanser oluşumu ve inflamasyon sürecinin çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenleyen NF-kB adlı transkripsiyon faktörünün inhibe edilmesi ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (28, 122, 161). Yapılan çalışmalar Silymarin'in nötrofil göçünü engellediği, Kupffer hücrelerinin inhibisyonuna neden olduğu, lökotrien sentezinin ve prostaglandin oluşumunu inhibe ettiği belirtilmiştir. Lökotrien sentezinin inhibisyonu ile sonuçlanan 5-lipoksigenaz yolağı üzerindeki inhibisyon etkisi Silymarin'in esas farmakolojik özelliğidir.

Silymarin'in anti-karsinogenik etkisi incelendiğinde kanser hücrelerinde apoptozisi arttırdığı, deride oluşan ödemli belirgin derecede azalttığı, katalaz aktivitesini tükettiği, siklooksijenaz ve ornitin dekarboksilaz aktivitesini indüklediği belirtilmiştir. Silymarin'in gerçekleştirdiği bu etkiler fotokarsinogenezise karşı koruma sağlamaktadır. Farelerde UVB ışını ile oluşmuş olan cilt kanserinin, Silymarin'in topikal kullanımıyla önlenildiği gösterilmiştir (54, 94). Silymarin'in yapısında

bulunan isoSilybin B'nin prostat kanserinin profilaksi ve tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir (37).

5-) Antifibrotik Etkisi: Karaciğer fibrogenezinde karaciğer stellate hücrelerinin çok önemli rolü vardır. Etanol, karbontetraklorür gibi etkenler fibrozisi tetikler. Bu durumda stellate hücreler miyofibroblastlara dönüşür ve karaciğerde kollajen birikimine neden olurlar. Silybin'inin stellate hücrelerin proliferasyonunu azaltarak, fibrozu engellediği bilinmektedir (168).

6-) *Amanita phalloides* (A. *phalloides*) zehirlenmesinde etkisi: Türkiye'deki ölümcül mantar zehirlenmelerin neredeyse % 95'inden sorumlu olan Amanitaceae familyasına ait olan *Amanita phalloides* zehirlenmesinden sonraki 10 dakika içinde Silymarin verildiğinde toksinin etkilerini nötralize olduğu saptanmıştır. Son zamanlarda α -amanitine bağlı karaciğer sitotoksitesinde TNF- α 'nın rolü araştırılmış ve Silybin'in, TNF- α etkilerini önlediği gösterilmiştir (40).

7-) Sitokrom p450 İnhibisyonu: Aldığımız ilaçların büyük bir çoğunluğunun ve vücuda giren toksik maddelerin metabolize edilmesinde görev alan hepatik sitokrom p450 enzimlerinin Silybin'in tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (43).

2.4.3. Silymarin'in terapötik etkisi

Karaciğer, böbrek, deri gibi organlarda oluşan viral ajanlar, toksinler, ilaç kaynaklı veya diğer toksik maddelerle oluşan hasarlarda Silymarin'in terapötik etkisi olduğu görülmektedir. Bunlar arasında en belirgin olanlarını şöyle sıralayabiliriz:

1) **Viral Hepatit:** Yapılan çalışmalar Silymarin'in hem viral hem de kronik hepatitte etkili olduğunu göstermiştir. Çalışmalar Silymarin uygulamasının tedavi süresinin kısalttığını, serum bilirubin, ALT ve AST seviyelerini düşürdüğünü belirtmiştir. Üç hafta boyunca, günde üç kez 140 mg/kg Silymarin uygulanan grupta,

kontrol gruplarına göre AST seviyelerinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Kronik hepatitli hastalara altı ay boyunca hergün uygulanan 420 mg/kg Silymarin, karaciğer serum enzim seviyesinde belirgin bir artışa neden olmuştur (51).

2) Toksin ve İlaç Kaynaklı Hepatit: İnsanlarda *A. phalloides*, Fenotiazin, Bütrifenones kaynaklı karaciğer zehirlenmelerinde Silymarin karaciğer hasarını azaltmaktadır (117). *A. phalloides* kaynaklı zehirlenmeler, kimi ilaçlarla tedavi edilse de, Silymarin hariç, ölüm oranı % 22 ile % 40 arasındadır. Bu oran çocuklarda daha yüksektir (53).

3) Alkol Kaynaklı Karaciğer Hastalıkları ve Siroz: Alkol kaynaklı karaciğer hastalıklarında yükselmiş olan karaciğer enzimi ve bilirubin seviyelerini tedavi amacıyla uygulanan Silymarin'in düşürdüğü gözlenmiştir. Sirozlu insanlarda günde 420 mg/kg Silymarin uzun süreli tedavi amaçlı kullanıldığında ölüm oranının plasebo grubuna göre çok daha düşük olduğu görülmüştür (51).

4) Sedef Hastalığı: Sedef hastalarında Silymarin, endotoksinleri uzaklaştırarak karaciğer aktivitesini artırır, cAMP (siklik adenosin mono fosfat) fosfodiesterazı ve lökotrieni inhibe eder. Bu, sirozun karakteristik özelliği olan cAMP'nin ve lökotrien seviyelerinin artışını desteklemektedir (100).

5) Nöroprotektif ve Nörotrofik Etkisi: Antioksidan etkisinden ya da bilinmeyen mekanizmalardan kaynaklı nörodejenerasyon ve nörotoksisitenin önlenmesinde, Silymarin kullanışlıdır. Silymarin TNF'yi inhibe etmekte ve mikroglia aktivasyonuna neden olan indüklenebilir nitrik oksit üretimini azaltmaktadır. Oksidatif stres kaynaklı apoptozise karşı primer hipokampal nöronu koruma amacı ile Silymarin kullanılabilir (152).

6) Nefrotoksisite: Silymarin, Cis-platin kaynaklı (3 mg/kg, i.p) renal toksisitede hasar önleyici olarak etki gösterdiği ve bu amaçla 5 gün süreyle Cis-platin

uygulanan erkek sıçanlarda oluşan tübüler nekroz, artan serum kreatinin ve üre azotu miktarlarının Silymarin uygulaması ile önlenebildiği gösterilmiştir (93).

2.4.4. Silymarin'in etki mekanizması

Silymarin'in koruyucu etki mekanizmaları olarak;

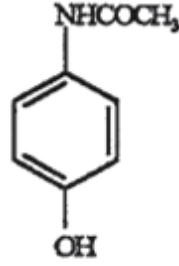
- 1-) Serbest radikalleri süpürülmesi, hücre içeriğindeki GSH miktarının artırılması ve lipid peroksidasyonunun engellenmesi,
- 2-) Karaciğer stellate hücrelerinin (İTO) miyofibroblastlara farklanması, sirozda görülen kollajen depolanmasının engellenmesi,
- 3-) Ksenobiyotik hasarda membran geçirgenliğinin ve steroid benzeri etkisi sayesinde çekirdek ekspresyonunu düzenlenmesi,
- 4-) Karaciğer rejenerasyonunda rol alan ribozomal RNA polimerazın uyarılması ve protein sentezinin gerçekleşmesi,
- 5-) Glukuronidasyonu arttırması ve glutatyonun tükenmesinin önlenmesi,
- 6-) Toksik etki ile bozulmuş immün sistemin düzenlenmesi şeklinde açıklanabilir (26).

2.5. Parasetamol (Asetaminofen)

2.5.1. Parasetamol'ün Yapısı ve Özellikleri

Parasetamol (Asetaminofen, N-asetil-*p*-aminofenol; APAP) ağrı kesici (analjezik) ve ateş düşürücü (antipiretik) etkiye sahip bir ilaçtır. APAP'ın kimyasal adı N- (4-hidroksifenilasetamid) ve moleküler formülü $C_8H_9NO_2$ 'dir. Bu kimyasal yapısından dolayı asetaminofen olarak adlandırılır. Molekül ağırlığı 151.17, erime noktası 169°C, yoğunluğu 1.263 g/cm³, sudaki çözünürlüğü 1.4 g/100 ml (20°C) dir. APAP ilk defa 1878 yılında Morse tarafından sentezlenmiş ve klinik olarak ilk defa aynı yıl von Mering tarafından kullanılmıştır. 1878 yılında bulunmasına rağmen 1960'lı yıllara kadar yaygın bir kullanım alanına sahip değildi. APAP'ın analogu olan "phenacetin" o dönemde daha yoğun kullanılıyordu fakat nefrotoksisiteye neden olmasından dolayı

yerini APAP içeriğine sahip analjeziklere bırakmıştır. APAP çocuklarda, orta şiddetli ağrı tedavisinde, aspirin kullanımı kontrendike olan hastalarda kullanılabilecek oldukça güvenilir bir ilaçtır. Yetişkinlerde toplam oral doz 4 g/ gün olup bu doz toplam 4 veya 6 defa da uygulanabilir. Ağrı giderici amaçla, 5-10 günden fazla kullanılmaması önerilmektedir (95, 96). APAP oral yolla alındığında gastrointestinal sistemde tamamen emilir. Terapötik etkisi erken başlar; plazma düzeyi 1/2- 1 saat içinde maksimuma erişir. Terapötik yarı ömrü 1.5- 2.5 saattir, toksik dozlarda 8 saate kadar çıkabilir hatta artabilir. Plazma yarı ömrünün uzamasında karaciğer hasarına bağlı olarak ilacın metabolizmasındaki bozulmanın ve konjugasyonun doygunluğa erişmesinin rolü olduğu düşünülse de, alınan dozun büyük kısmının başlangıçta hızlı bir şekilde absorbe edilmesinin, kalan kısmının absorpsiyonunun ise yavaş ve uzamış olmasının asıl önemli etken olduğu belirtilmiştir (34, 78, 88, 169, 179).



Şekil 6: Parasetamol'ün kimyasal yapısı

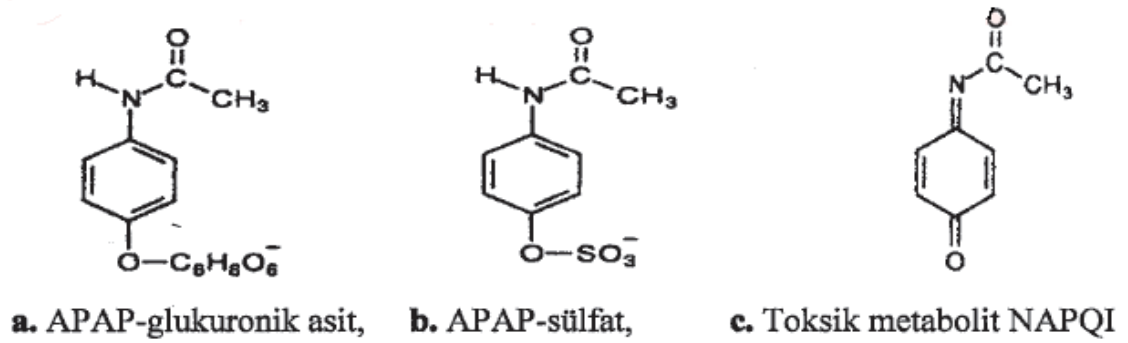
APAP, para- aminofenol türevi non-steroid antiinflamatuvar (NSAI) veya narkotik olmayan analjeziklerdendir. APAP, aspirinin etken maddesi olan asetilsalisilik asite benzer şekilde analjezik ve antipiretik etkilidir fakat bu ilaçtan farklı olarak antiinflamatuvar etkinliği oldukça düşüktür (23, 25, 64,191).

APAP antiinflamatuvar ilaçların analjezik etkisini arttırmak için onlarla birlikte kullanılabilir. Ancak antitrombotik etkinliği zayıftır; kanama süresini değiştirmez. APAP, analjezik ve antipiretik etkisini gösterirken benzeri diğer analjezik ilaçlardan farklı olarak, hipotalamus ve omurilik arka boynuzu gibi peroksitlerden fakir ortamda prostaglandin sentezini inhibe edebilir (66, 191). APAP'ın prostaglandin sentezini inhibe ederek analjezik etkisini göstermesinin yanı sıra bir diğer görüş beyinde COX-1 (Siklooksijenaz-1) ve COX-2 dışında bulunan ve COX-1'in bir varyantı olan COX-3

enzimini inhibe etmesi APAP'ın santral analjezik etkisinde rol oynamaktadır. İltihabi dokular gibi peroksitten zengin ortamda APAP'ın COX'u inhibe edememesi antiinflamatuvar etkisinin olmadığından kaynaklanmaktadır (25, 99).

2.5.2. Parasetamol Metabolizması

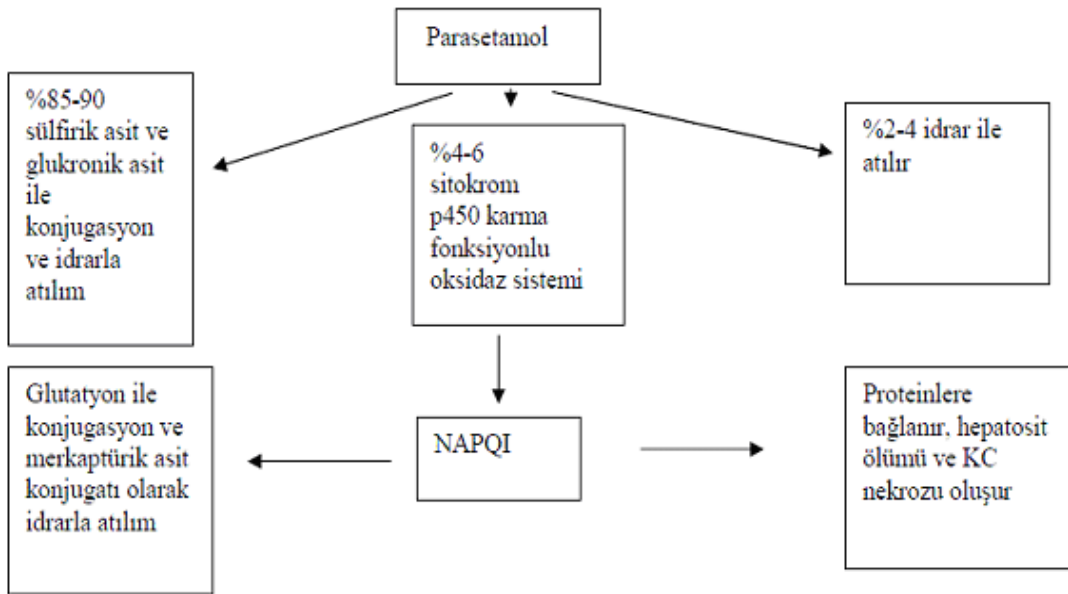
Oral yolla alınan APAP, mide ve bağırsaklardan hızla absorbe edilerek (49, 96, 164, 186) karaciğerde hepatositlerin düz endoplazmik retikulumlarında metabolize olmaktadır. APAP'ın % 65'i glukuronik asit ile % 20-35 arası ise sülfürik asit konjugasyonu ile metabolize olur. Sülfürik asit konjugasyonu yolu tedavi amacıyla belirlenen dozun üzerindeki dozlarda hızla satüre olmaktadır. APAP'ın geri kalan kısmı ise (<%4), sitokrom p450 tarafından reaktif ara ürün olan N-asetil benzokinonimine (NAPQI) metabolize olur. Bu ara ürün normal şartlarda glutatyon tarafından hızla detoksifiye edilir. Sistein ve merkaptürik asit ile konjüge olduktan sonra idrarla atılır (84).



Şekil 7: APAP konjugatları

Yüksek dozda APAP alımında, APAP kritik proteinler olan glutamin sentaz, glutamat dehidrogenaz, aldehit dehidrogenaz, N-10 tetrahidrofolat dehidrogenaz gibi proteinlere kovalent bağla bağlandığından toksik etki görülmektedir (31, 78).

Farelerde yapılan deneysel çalışmalarda toksik dozdaki APAP'ın metabolize olması sonucunda oluşan NAPQI'nın hücre içinde bağlandığı ilk organel mitokondriyondur ve bunun sonucunda da mitokondriyal solunum inhibisyonu görülmektedir (25, 42). Bunun yanı sıra hücre içi Ca^{+2} 'u düzenleyen proteinlerin yüksek doz APAP nedeniyle bozularak, hücre içinde Ca^{+2} 'un aşırı birikmesi ve katabolik enzimlerin artması nedeniyle hücre ölümüne kadar giden tabloların oluştuğu görülmektedir (13, 42, 142, 182, 183, 186,194).



Şekil 8: Parasetamol metabolizması

APAP kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarının iki farklı mekanizma ile oluştuğu ileri sürülmektedir:

a) **Oksidatif stres teorisi:** Yüksek doz APAP alımında oluşan NAPQI, hücrelerde reaktif oksijen ürünleri oluşumuna, bu da lipit peroksidasyonuna neden olduğundan, glutasyon eksikliğine, dolayısıyla hepatositte protein sentezi ve hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) dengesi bozukluğunun ortaya çıkmasına neden olur (8, 12, 18, 48, 59, 89, 132, 174, 192).

b) Kovalent bağlanma teorisi: APAP yüksek düzeyde alındığında, karaciğerin detoksifikasyon sistemleri doymuş hale geçeceğinden, bağlayıcı glutatyon bitecek, aşırı NAPQI ortaya çıkacak, bu da deoksiribonükleik asit (DNA) ve protein thiol gruplarına kovalent bağlanmak suretiyle, hepatositlerde hasar oluşturacaktır (141, 151, 173, 186, 194).

2.5.3. Parasetamol'ün analjezik etki mekanizması

APAP'ın etki mekanizması primer olarak merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu yoluyla ve olasılıkla serotoninergik sistem ile indirekt etkileşim yoluyla etki ettiği düşünülse de mekanizma henüz tam olarak anlaşılmamıştır (191).

Siklooksijenaz ya da prostaglandin endoperoksit sentaz (PGHS), biyosentetik prostaglandin yolunun çalışmasını düzenleyen ve sınırlayan ilk enzimdir. Siklooksijenazın dokularda iki farklı izoformu olduğu ve bu izoformların değişik şekilde regüle edildiği görülmüştür. Siklooksijenaz-1 (COX -1) beyin, böbrek, uterus gibi dokularda yapıcı bir ekspresyon göstermekte ve fizyolojik fonksiyonlarda prostaglandin sentezinde rol almaktadır. Siklooksijenaz-2 (COX-2 veya PGHS-2) ise pro-inflamatuar forbol esterleri, büyüme faktörleri, interlökin-1, endotoksin ve hormonlar gibi değişik agonistler tarafından geçici süre indüklenmektedir (191).

Ağrı yapıcı etkenler, dokudaki tahriş ya da zedelenme, immünolojik reaksiyonlar ve kanserli hücreler lokal araşidonik asitten (eikosatetraenoik asitten) prostasiklin ve prostaglandinlerin sentezini arttırmaları. Antiinflamatuar analjezikler siklooksijenaz enzimini inhibe ederler; böylece sadece siklooksijenaz ürünlerinin değil, aynı zamanda lipooksijenaz ürünlerinin sentezini de azaltmaktadırlar. Bu nedenle glukokortikoidler narkotik olmayan analjeziklere göre daha belirgin bir COX inhibisyonu yapmaktadırlar (76). Ayrıca yara, yanık iyileşmesi, radyasyon, inflamasyon gibi birçok durumlarda sitokinler bu bölgeye hasar düzenleyici olarak göç etmektedirler. Sitokin sentezinin

COX-2'ye bağlı olduğu düşünöldüğünde bu enzimin ne kadar önemli olduğu görölmüştür (8).

APAP, ilk kez 1998'de Harvard Tıp Okulu'nda yapılan epidemiyolojik çalışmalarla over kanserinde risk düşürücü bir faktör olarak tanımlandı. Nedeni tam olarak açıklanamasa da, APAP oksidatif mekanizmayla dönüştüğü toksik metabolitlerin, daha çok tümöral yönde farklılaşan over hücrelerinde birikerek, selektif olarak bu hücreleri ortadan kaldıran bir mekanizma olabileceği ortaya atılmıştır (32).

2.5.4. Karaciğer toksisitesinde kullanılan parametreler

Karaciğer enzimleri **karaciğer hücreleri (hepatositler)** tarafından üretilerek depo edilir ve karaciğerde herhangi bir hasarın olması durumunda yine bu hücrelerden kana salınan bu enzimler aminotransferazlar olarak isimlendirilmektedir. Bunlara örnek olarak Aspartat aminotransferaz (AST – SGOT) ve Alanin aminotransferaz'ı (ALT – SGPT) verebiliriz. Karaciğere toksik etki yapan ilaçların kullanımında (izoniyazid, ketokanazol gibi), akut viral hepatitte (Hepatit A ve Hepatit B), kardiyovasküler kollaps durumlarında (ki bu durumda karaciğere gelen kan akımı azalacak ve karaciğer hücrelerinin beslenmesi bozulacaktır) yaygın hepatik nekroz gibi bir dizi olguda karaciğer hücreleri hasar görmekte ve kandaki AST ve ALT düzeylerinin artmasına neden olmaktadır (80).

Bunların dışında NO, karaciğerdeki parankim hücrelerinde ve parankimal olmayan diğer hücrelerde L–arjinin amino asidinden uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimi aracılığıyla üretilen ve yüksek reaktif oksidan kapasiteye sahip bir bileşendir (101, 135). Sentez için nikotinamid adenin dinökleotid fosfat (NADPH), kalmodulin, oksijen ve dört kofaktöre (hem, flavin, mononökleotid, flavin adenin dinökleotid ve tetrahidrobiyopterin) ihtiyaç bulunmaktadır. Bir otakoid özelliğine sahip olan NO'nun güçlü bir vazodilatör olduğunu ve bu temel etkisine ilave olarak nörotransmitter, immünomodölatör ve yabancı etkenlere karşı sitotoksik etki gösterdiğini söylemek mümkündür (11).

NO'nun karaciğerde fazla miktarda üretilmesinin, endotoksin şokunda ve karaciğerdeki iltihabi reaksiyona ve hasarlanmaya ilişkin diğer modellerde rol oynayan önemli bir unsur olduğu ileri sürülmektedir (187).

NO'nun karaciğerdeki etkilerinin altında yatan mekanizma tam olarak bilinmemesine rağmen, bu bileşenin sitokrom p 450'de azalmaya yol açtığı (79), karaciğerdeki proteinlerin DNA sentezini baskıladığı ve apoptozun yanı sıra nekrozu da uyardığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (110, 167).

Kreatinin, kaslarda enerji deposu olarak rol alan kreatinin fosfatın yıkım ürünüdür. Kişinin vücut ve kas kitlesine bağlı olarak sabit hızda üretilir ve bu nedenle kadın ve çocuklara oranla erkeklerde kandaki seviyesi daha yüksektir. Kreatinin testi genellikle böbrek fonksiyonlarını ve hastalıklarını değerlendirmek için rutin olarak kullanılan bir testtir. Dehidratasyon, nefrotoksisite, transplantasyon rejeksiyonu, akut tübüler nekroz gibi durumlarda kreatinin seviyesinin yükseldiği bilinmektedir. Kreatinin genellikle yine başka bir böbrek fonksiyon testi olan BUN ile beraber istenir. Kan üre azotu (BUN, Blood urea nitrogen) testi, böbrek fonksiyonunun ölçülmesinde kullanılan çok geçerli bir testtir. Memelilerin vücudunda protein maddelerinin yıkılması sonucu meydana gelen amonyak, karaciğerde karbondioksitle üreye dönüştürülür. Kana geçen üre, idrarla dışarıya atılır. Sağlıklı, yetişkin bir insanın 100 ml kanında 7-21 mg/dL üre azotu bulunmaktadır. BUN değeri, dehidrasyon, böbrek hastalıkları (glomerulonefrit, piyelonefrit, diyabetik nefropati), idrar yolu tıkanmaları (prostat hipertrofi), ilaçlar (aminoglikozidler ve diğer antibiyotikler, diüretikler, lityum, kortikosteroidler), gastrointestinal kanamalar ve azalmış böbrek kan akımı gibi durumlarda yükselirken; karaciğer hastalıkları, kötü beslenme, gebeliğin 3. trimesteri gibi durumlarda BUN değeri düşmektedir (33, 190).

Superoksit dismutaz (SOD), superoksit serbest radikalının (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. Bu nedenle oksijene etkin kalmış neredeyse tüm hücrelerde önemli bir antioksidan savunma mekanizmasıdır. Katalaz ve SOD gibi antioksidan enzimler lipit

peroksidazlar ya da reaktif oksijen ürünleri tarafından kolayca inaktive olurlar ve bu nedenle APAP toksisitesinde bu enzim aktivitelerinde azalmalar saptanır (29, 107, 125).

Katalaz, hidrojen peroksiti (H_2O_2), su (H_2O) ve oksijene (O_2) ayıran enzimlerden biridir. Antioksidan sistemin primer bir komponentidir. APAP zehirlenmesinde lipit peroksidazlar ve reaktif oksijen radikallerine bağlı olarak kolayca inaktive olurlar ve serum enzim aktivitelerinde düşüklük görülür (107).

Bir ester hidrolaz olan paraoksonaz (PON) hem arilesteraz hem de paraoksanaz aktivitesine sahiptir. PON proteinleri eklem bacaklılar, balıklar ve kuşlarda bulunmazken fare ve insanlarda aynı kromozom üzerinde birbirine komşu 3 ayrı PON geni bulunmaktadır (PON 1, PON 2, PON 3). PON proteinleri dokulardaki ekspresyonlarına göre birbirlerinden farklılaşmaktadır. PON 1'e ait mRNA'nın karaciğerin yanı sıra böbrek, beyin, kalp, ince bağırsak, akciğer dokularının endotelial tabakalarında lokalize olduğu immünohistokimyasal yöntemlerle tayin edilmiştir. PON 1'in karaciğerde sentezlendiği ve dolaşıma verilen HDL'nin (High density lipoprotein) yapısında yer aldığı bilinmektedir. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunun (oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve konjugasyon) böbrek proksimal tübülünde gerçekleştiği bilinmektedir. İmmünohistokimyasal olarak PON 1'in glomerüler yumak ve proksimal tübül hücrelerinde lokalize olduğu gösterilmiştir. Buna bağlı olarak PON 1'in ksenobiyotiklerin detoksifikasyonuna fonksiyonel olarak katkıda bulunabildiği; karaciğer ve böbrek yetmezliğinde septik şokun çeşitli semptomlarında ve hatta ölüme yol açabilen sitokinlerin salınımının PON 1 tarafından önlediği düşünülmektedir (16, 44).

Bu enzimler dışında APAP toksisitesinde rol alan önemli diğer bazı enzimler de vardır. Bunlar arasında Glutasyon (GSH), tüm memeli hücrelerinde milimolar konsantrasyonlarda bulunur ve aminoasit transportu, proteinlerin sulfidril gruplarının redükte kalmasını sürdürme ve okside edici moleküllere ve elektrofilik ksenobiyotiklere karşı koruma gibi çeşitli fonksiyonları yerine getirmektedir. Glutamik asid, sistein ve glisin aminoasidinden oluşmuş bir tripeptittir. Redükte ve okside olmak üzere iki formu

vardır. Glutasyon redüktaz okside glutasyonun redüksiyonunu sağlar (104). GSH enzimatik olmayan antioksidan sisteminin önemli bir parçasıdır. Azalmış hücrel GSH düzeyleri ve GSH sentez kapasitesi gibi durumlarda hücreler radyasyona ve bazı ilaçlara duyarlı hale gelir. APAP'ın yeterli derecede yüksek dozlarında oksidatif stresin bir mediatörü olarak NAPQI'nın, GSH düzeylerinde azalmaya ve bu azalmaya bağlı olarak lipid peroksidasyonunda artışa yol açtığı bilinmektedir. Bu toksik metabolit kritik hücrel proteinlere bağlanarak hepatik nekroza yol açar (103). Glutasyon peroksidaz (GSH-Px, GPx), hidroperoksitlerin ve serbest hidrojen peroksitin suya indirgenmesinden sorumlu olan enzimdir. Sitozolde bulunurlar. 4 adet selenyum (Se) içerir. Tetramerik yapıdadır. Bu enzim ailesinin ana rolü, organizmayı oksidatif hasardan korumaktır (82, 114, 155).

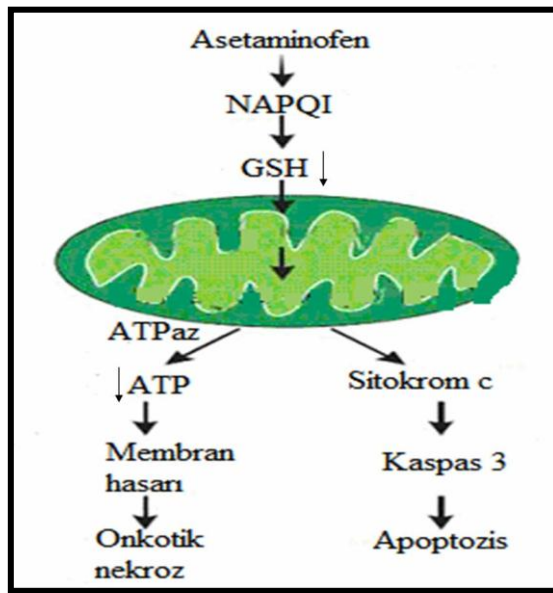
Glutasyon yetersizliği APAP kaynaklı renal toksisitede önemli bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum **hepatorenal sendrom** olarak adlandırılmaktadır (43, 115, 118). APAP hem böbrek hem de karaciğerde metabolize olurken, nefrotoksisitenin böbrekte glutasyon kaynağına bağlı olarak oluştuğu, hepatotoksisiteden bağımsız geliştiği bildirilmiştir (24, 128, 129,134).

2.6. Apoptoz ve Nekroz

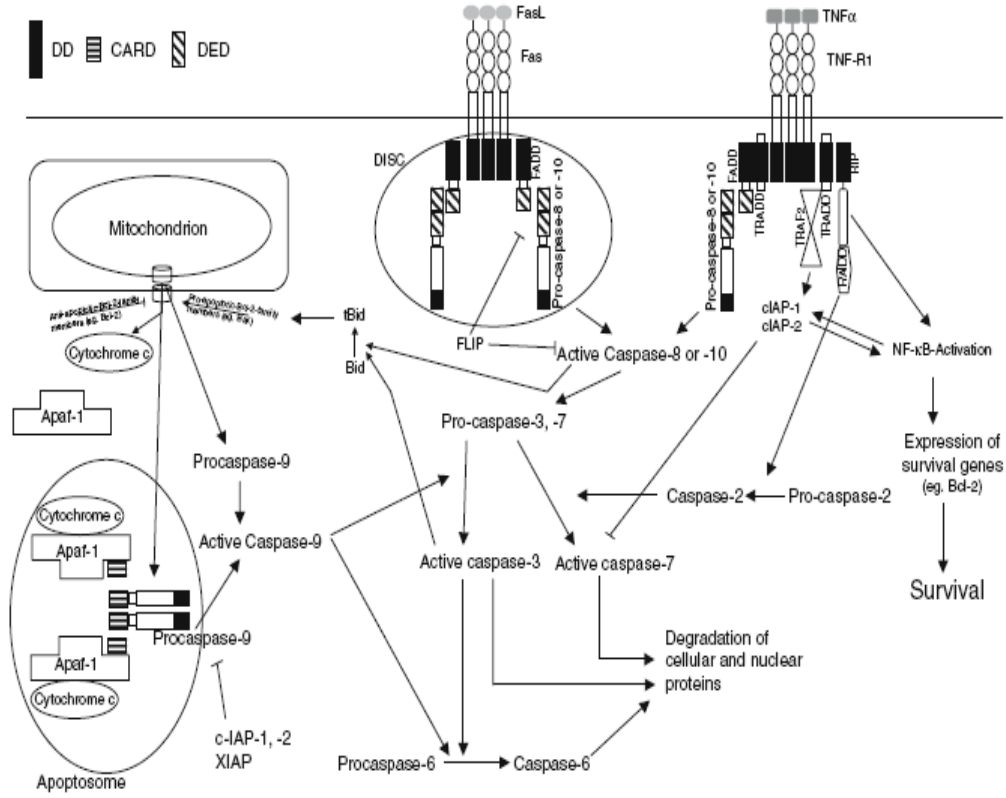
19. yüzyılın sonunda gündeme gelen programlı hücre ölümü kavramı 1965'de böceklerin başkalaşımında belirtilmiş, 1971 yılında Wylie, Kerr ve Currie programlı hücre ölümü morfolojisini tanımlamış ve "yaprak dökümü" anlamına gelen "apoptoz" terimini ilk kez kullanmışlardır (175).

Embriyogenezis, immünolojik tepkimeler, iç ortam dengesinin düzenlenmesi ve farklılaşmış hücrelerin yaşam sürelerinin sonlanması gibi birçok normal fizyolojik süreçte izlenebilen apoptozis aynı zamanda iyonize radyasyon, inflamatuvar ve bağışıklık sistemini düzenleyici sitokinler, oksidatif stres, redoks potansiyelindeki değişiklikler, büyüme faktörleri, DNA hasarı ve mekanik stres gibi çevresel uyaranlarca düzenlenir (102).

Tanımlandığı günlerden bu yana geçen yaklaşık 40 yıl içinde apoptozun tüm çok hücreli canlılarda önemli ölçüde korunan ve hem temel adımlar hem de uygulayıcı proteinlerdeki özdeş yapılar açısından birbirine benzeyen genetik bir yolla belirlendiği saptanmıştır. Apoptoz temel olarak iki yolla başlatılır: 1) Hücre dışından tetiklenen, pozitif (TNF α varlığı) ya da negatif (büyüme faktörü yokluğu) ekstrinsek yol 2) Hücre içinde DNA hasarı, endoplazmik retikulum stresi ya da mitokondriyondan tetiklenen intrinsek yol. Mitokondri aracılığıyla düzenlenen hücre içi yol, aslında hücre dışı ve hücre içi etkenlerin ortaklaştığı bir mekanizmayı oluşturur. İster hücre içi ister hücre dışı mekanizmayla başlamış olsun, apoptotik süreç kaspaslar adı verilen proteolitik enzimler tarafından gerçekleştirilir. Kaspaslar (caspase = cysteine- dependent aspartate specific proteases), bugüne dek insanda 14 farklı türü tanımlanan, sitoplazmada inaktif proenzimler halinde bulunan, aktif katalitik bölgesinde sistein içeren ve substratlarını aspartat içeren özgül bir bölgeden kesen proteaz enzimlerdir (175). Kaspaslar birbirlerini aktifleştirerek proteolitik bir tepkime dizisi başlatırlar. Bu gen ailesinin 2, 8, 9, 10 numaralı üyeleri başlatıcı; 3, 6, 7 numaralı üyeleri efektör kaspas (apoptozu yürütenler) ve 1, 4, 5, 11, 12, 14 numaralı üyeleri ise sitokin aktivasyonu yapan kaspaslar olarak bilinir. Başlatıcı kaspas apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspasa iletirler. Efektör kaspas ise hedefledikleri proteinlerin kesilmesi aracılığıyla çoğu geri dönüşsüz olan süreçleri başlatırlar (5, 42, 184).



Şekil 9: Parasetamol kaynaklı hücre ölümü yolları mekanizması



Şekil 10: Apoptosis yolları ve aşamaları

Apoptosisin hücre içi uyarımında stres uyarıcı bir sinyal içsel ya da mitokondriyal yolağı etkinleştirirken; hücre dışı uyarımında bir ligand dışsal ya da ölüm alması yolağını uyarır. Hücre içi yolakta Ca^{+2} , inorganik fosfat, ROS ve çeşitli oksidan kimyasalları gibi nedenlerden dolayı mitokondriyon dış zarında bulunan MPT (Mitochondrial permeability transition pore) porlarının geçirgenliğinde artış sonucu mitokondriyon zar potansiyeli bozulur. Bu durum dış zarda hızlı bir şişmeyi izleyerek 2 zar arasında bulunan çeşitli proteinlerin hücre sitoplazmasına çıkmasına yol açar. Bu kaçış MPT porlarının geçirgenliğinin bozulmasının yanı sıra dış zarın bozulmasıyla da oluşabilir. Mitokondriyonda bulunan ve solunum enzimi olan sitokrom c, sitoplazmada inaktif monomerler halinde bulunan Apaf-1 (Apoptotik proteaz aktive eden faktör) molekülüne bağlanarak apoptozom adı verilen yapı oluşur. Apoptozom, prokaspas 9'u aktifleştirmek üzere keser ve oluşan kaspas 9 diğer kaspasları proteolitik bir zincir halinde aktifleştirerek apoptozun gerçekleşmesini sağlar. Mitokondriyon zar

potansiyelinin bozulmasının ardından sağlıklı bir hücrenin çift zarlı mitokondriyonunda bulunmayan bir fosfolipit olan fosfatidilserin dış yaprağa geçer ve oksitlenir. Bu değişim apoptotik hücrelerin makrofajlar veya komşu hücreler tarafından fagosite edilmesi için bir sinyal oluşturur (102). Hücre dışı yolla ise Fas ve Tümör Nekroz Faktör Reseptör (TNFR) gibi almaçlar hücre dışından gelen ölüm sinyalini hücre içinde Kaspas-8'e aktarırlar. Kaspas şelalesinin herhangi bir üyesi bir kez etkinleştikten sonra diğer prokaspası etkinleştirerek proteoliz silsilesinin şiddetlenmesine neden olur. Kaspaslar hücredeki yapısal ve işlevsel temel molekülleri (DNA, Laminler gibi) keserek hücrenin kendisini hızla yıkmasına ve makrofajlarca sindirilmesine yol açan bir dizi olayı başlatırlar. Hücre, yıkım yolunda bir kez kritik noktaya ulaştıktan sonra bundan geri dönüş yapamaz (5, 42, 184).

Hücre zarının ya da hücrelerdeki metabolik süreçlerin çok hızlı ve ağır biçimde hasar gördüğü ve hızla bozulan zar geçirgenliğinin hücre şişmesi ve zarın patlayarak hücre içi maddelerin dışarı saçılmasıyla sonuçlanan bir diğer hücre ölüm tipi nekrozdur. Mitokondriyon zar yapısının bozulmasıyla ATP seviyesi düşer ve onkotik nekroz gelişir. Nekroza giden hücrelerde şişme ve sitoplazmada eozinofilik granüllerde artış meydana gelmektedir. Ribozomların kaybına bağlı olarak bazofilik özellik azalır. Sitoplazmadaki vakuollerde artış ve mitokondride şişme gözlenir. Nekrozun dokularda farklı çeşitleri görülebilmektedir. **Pıhtılaşan nekroz**, hücrenin artan asiditesine bağlı olarak yapısal ve enzim proteinlerinin denatürasyonu ile gerçekleşir. Hücreler ana hatlarını nispeten korurlar. Asidik sitoplazma eozinofilik hale gelir. **Sıvılaşan nekroz** ölü hücrelerin enzimatik parçalanması sonucunda meydana gelir. Dokular parçalanan, akışkan hücrelerden ibarettir. **Kazeöz nekroz**, nekrotik alanda peynire benzeyen oluşumlarla karakterizedir. Pıhtılaşan nekroza farklı olarak doku yapısı tamamen bozulur. **Yağlı nekroz**, yağlı dokularda enzimlerin lipolitik etkilerinin sonucunda ortaya çıkar. Pankreatik hasar nedeniyle aktif pankreatik enzimlerin dokulara salınımı sonucunda yağ hücrelerinin membranları zarar görür. Hücreler yağ hücreleri tarafından salınan serbest yağ asitlerine uzun süre maruz kaldıklarında Na^+ , K^+ ve Ca^{+2} ile bağlanarak sabunlaşır (5, 42).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmamızda 2-3 aylık, 25-35 gr ağırlığında, toplam 28 adet matür dişi Swiss albino türü fare kullanıldı. Fareler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıbbi Cerrahi Araştırma Merkezi (TICAM) tarafından sağlandı. Hayvanlara yapılacak uygulamalar için ESOĞÜ etik kurulundan 26.10.2011 tarihinde 232 dosya numaralı etik kurul onayı alındı.

Fareler deney süresince 12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısısı $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ve nemi $\% 55\pm 5$ olarak ayarlanmış ortamda yaşatıldı. Hayvanlar deneye başlamadan 2 hafta önce polikarbon şeffaf kafeslere konularak ortam koşullarına adaptasyonları sağlandı. Yiyecek ve su ihtiyaçları sınırsız ve günlük olarak sağlandı ve kontrol edildi. Sağlık durumları günlük olarak izlendi. Deneyin başında ve sonunda vücut ağırlıkları tartıldı.

3.1. Kimyasal Maddeler ve Uygulamaları

Deneyde kimyasal maddeler olarak Parasetamol (APAP), Silymarin ve izotonik sodyum klorür solüsyonu ($\% 0.9$) kullanıldı. Gruplara 100 mg/kg Silymarin 0.8 ml izotonik sodyum klorür (SF) içinde çözdürülerek 7 gün boyunca gastrik gavaj (p.o) aracılığı ile verildi. APAP ise tek doz, gastrik gavaj yolu (p.o) ile 500 mg/kg olacak şekilde verildi. Gastrik gavaj hergün aynı saatte (09:00-10:00 arasında) yapıldı.

3.2. Deney Grupları

Araştırmamızda fareler rastgele seçilerek her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 grup oluşturuldu.

Grup 1: Kontrol Grubu (n=7) : Bu gruptaki hayvanlara sadece izotonik sodyum klorür (% 0.9) solüsyonu (Eczacıbaşı-Baxter H.Ü. San. Ve Tic. A.Ş. , Türkiye) 0.8 ml p.o. olarak verildi.

Grup 2: Parasetamol Grubu (n=7) : Bu gruptaki hayvanlara tek doz 500 mg/kg Parasetamol (Parol, Atabay ilaç fabrikası A.Ş., Türkiye) 0.8 ml SF içerisinde çözülerek p.o. olarak verildi (56).

Grup 3: Silymarin Grubu (SL grubu), (n=7) : Bu gruptaki hayvanlara 100 mg/kg Silymarin (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA), SF içinde çözdürülerek 0.8 ml p.o. 7 gün boyunca olarak verildi (72).

Grup 4: Parasetamol (APAP) + Silymarin (SL) Grubu (APAP + SL), (n= 7): Bu gruptaki hayvanlara 500 mg/ kg APAP 0.8 ml SF içerisinde çözülerek p.o. olarak verildi. Parasetamol uygulamasından 1 saat sonra 7 gün boyunca 100 mg/kg SL 0.8 ml SF içerisinde çözülerek p.o. olarak verildi.

3.3 Karaciğer ve Böbrek Örneklerinin Değerlendirilmesi

Deney süresi sona erdiğinde farelere anestezi (Ketamine 50 mg/kg, i.p.) uygulandı ve servikal dislokasyon ile yaşamlarına son verildi. Farelerin karaciğer ve böbrekleri alınıp 48 saat süreyle % 10'luk formaldehit içine koyuldu. Fiksasyon işleminden sonra alınan dokulara uygun takip işlemi yapılarak parafin bloklar hazırlandı.

Parafin blokları hazırlanan dokuların her birinden 5µm kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitlerin genel yapı ve özelliklerini incelemek amacıyla H-E boyaması, apoptozu incelemek için terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick and labelling (TUNEL) boyaması uygulandı.

3.3.1. Karaciğer ve Böbrek için uygulanan doku takibi

- % 10'luk formaldehit solüsyonunda : 48 saat
- 70°'lik alkol : 1 saat
- 80°'lik alkol : 1 saat
- 90°'lik alkol : 1 saat
- 96°'lik alkol I : 30 dakika
- 96°'lik alkol II : 30 dakika
- Ksilol I : 15 dakika
- Ksilol II : 15 dakika
- Parafin I : 45 dakika
- Parafin II : 1 saat
- Parafin III : 1 saat

3.3.2. Hematoksilen-Eozin Yöntemi

- Ksilol I : 20 dakika
- Ksilol II : 20 dakika
- 96°'lik alkol I : 5 dakika
- 96°'lik alkol II : 5 dakika
- 90°'lik alkol : 5 dakika
- 80°'lik alkol : 5 dakika
- 70°'lik alkol : 5 dakika
- Distile su : 5 dakika
- Hematoksilin : 2 dakika
- Yıkama (akar suda) : 5 dakika
- Eozin : 5 dakika
- 70°'lik alkol : 3 dakika
- 80°'lik alkol : 3 dakika
- 90°'lik alkol : 3 dakika

- 96°lik alkol I : 3 dakika
- 96°lik alkol II : 3 dakika
- Ksilol I : 20 dakika
- Ksilol II : 20 dakika

3.3.3 TUNEL Yöntemi

Hücrelerde DNA parçalanması ve apoptotik hücre ölümünün belirlenebilmesi amacıyla in situ apoptozis belirleme kiti (Apoptag Plus Peroxıdase In Situ Apoptozis Detection Kit, Lot: PSO1514711, Chemicon) kullanıldı.

Yöntem:

- Ksilol I : 5 dakika
- Ksilol II : 5 dakika
- Ksilol III : 5 dakika
- 100°lik alkol I : 3 dakika
- 100°lik alkol II : 3 dakika
- 95°lik alkol : 3 dakika
- 70°lik alkol : 3 dakika
- Fosfat buffer solüsyonu (PBS) : 5 dakika
- Proteinaz K solüsyonunda : 15 dakika
- Distile su I : 2 dakika
- Distile su II : 2 dakika
- % 3'lük hidrojen peroksit : 5 dakika
- PBS : 5-10 dakika çalkalama
- Eguilibration buffer : 5 dakika
- TdT enzimi 37°C'de nemli ortamda : 1 saat
- Working Stop/ Wash buffer I : 15 saniye çalkala
- Working Stop/ Wash buffer II : 10 dakika

- PBS I : 1 dakika
- PBS II : 1 dakika
- PBS III : 1 dakika
- Anti- digoxigenin peroksidaz damlatılır üzerlerine plastik coverslip ile kapatılır
nemli ortamda : 30 dakika
- PBS I : 2 dakika
- PBS II : 2 dakika
- PBS III : 2 dakika
- PBS IV : 2 dakika
- DAB solüsyonu : 10 dakika
- Distile su I : 1 dakika
- Distile su II : 1 dakika
- Distile su III : 5 dakika
- Metil green : 15 dakika
- Distile su I : 10 saniye
- Distile su II : 10 saniye
- Distile su III : 10 saniye
- Bütanol : 10 saniye
- Ksilol I : 2 dakika
- Ksilol II : 2 dakika
- Ksilol III : 5 dakika

3.4. Biyokimya Analizi

Biyokimyasal analiz için AST, ALT, Kan Üre azotu (BUN) ve Kreatinin düzeyleri Roche modular cihazında enzimatik kolorimetrik yöntemle ölçüldüler.

3.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi Windows için SPSS 18.0 paket programında yapıldı. Sürekli ölçümlü değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Normalite testinin sonuçlarına göre parametrik veya non parametrik testler uygulandı.

Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı düzeyleri iki yönlü tekrarlı ölçümler (tek faktör tekrarlı) varyans analizi ile karşılaştırıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Holm-Sidak testi kullanıldı.

Kan plazması içerisindeki AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeyleri var olabilecek farkın önemliliği açısından tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile karşılaştırıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Tukey testi kullanıldı.

Histolojik skorlamalar ise Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Tukey testi kullanıldı.

Tüm analizlerde $p < 0,05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. İstatistiksel Bulgular

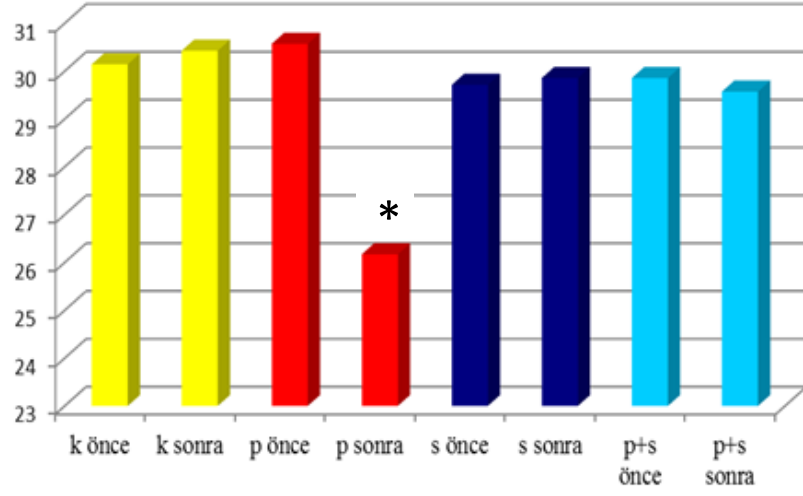
4.1.1 Vücut ağırlıkları

Deneklerin deney başındaki ağırlıkları ile deney sonundaki ağırlıkları karşılaştırıldığında; deney başında kontrol grubu ile Parasetamol, Silymarin, Parasetamol+Silymarin grupları arasında önemli düzeyde fark saptanmadı ($P>0,05$) (Tablo-1, Şekil 11). Ancak deney sonunda Parasetamol grubunu diğer tüm gruplarla karşılaştırdığımızda vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptandı ($P<0,05$) (Tablo-1, Şekil 11).

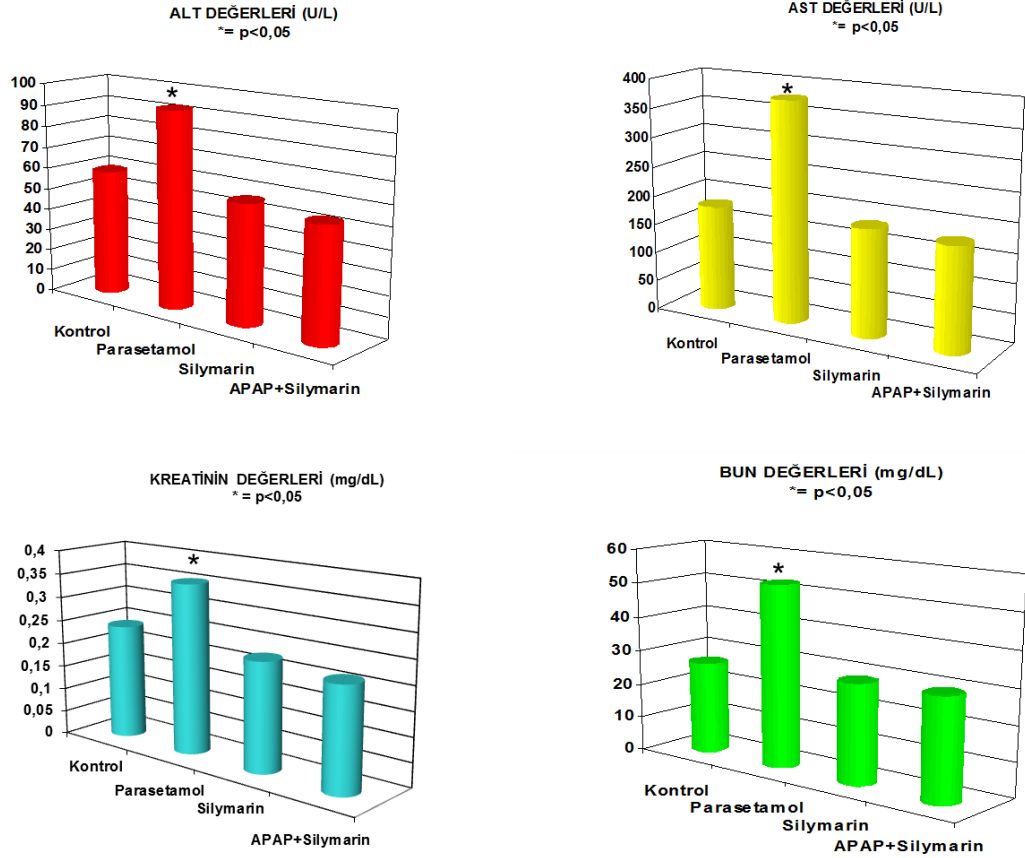
Tablo-1: Gruplara göre deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları (g) ($p<0.05=*$) (NS= Not significant; Belirgin değil)

Deney Öncesi ve Sonrası Vücut Ağırlıkları			
Gruplar	Ortalamaların Farkı	p	Önemlilik
Kontrol	0,28571	0,717	NS
Parasetamol	4,4	0	*
Silymarin	0,14285	0,747	NS
Parasetamol+Silymarin	0,28571	0,553	NS

Vücut Ağırlıkları (g)
*= $p<0,05$



Şekil 11: Farelerin deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması



Şekil 12: Deney sonucunda gruplar arası biyokimya parametrelerinin karşılaştırılması (*= $p<0,05$)

4.1.2. Biyokimyasal Analiz

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda kontrol grubu ile Parasetamol grubu karşılaştırıldığında ALT, AST, Kreatinin ve BUN değerleri anlamlı düzeyde yükselirken (*= $p<0,05$); Parasetamol+ Silymarin- kontrol, Parasetamol+Silymarin-Silymarin ve Silymarin- kontrol karşılaştırmalarında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 12).

4.1.3. Karaciğere ait histolojik skora analizi

Karaciğer dokularının HE boyamasıyla yaptığımız ışık mikroskopik incelemesinde sinüzoidal ve merkezi venül dilatasyonu, konjesyonu, hepatositlerde gözlenen hidropik dejenerasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, nekrotik odak bulguları ve apoptotik hücreler dikkate alınarak inceleme yapıldı. Her bir histolojik bulgu şiddet ve yaygınlığına göre 0-3 arasında (hasar yok 0, düşük hasar 1, orta derecede hasar 2, şiddetli hasar 3) skorlandı.

Hidropik dejenerasyon, merkezi venül dilatasyonu, mononükleer hücre infiltrasyonu, sinüzoidal dilatasyon, vasküler konjesyon, hücre nekrozu ve apoptozisi açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında Parasetamol – kontrol, Parasetamol – Silymarin, Parasetamol- Parasetamol+Silymarin karşılaştırmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın Parasetamol+Silymarin ile kontrol, Parasetamol+ Silymarin ile Silymarin ve Silymarin- kontrol karşılaştırmalarında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo-3, Şekil 13).

4.1.4. Böbreğe ait histolojik skora analizi

Böbrek dokularının HE boyamasıyla yaptığımız ışık mikroskopik incelemesinde vasküler yapılarda hafif dilatasyon, Bowman boşluğunun genişlemesi, tübüler kast, tübüler hasar, infiltrasyon ve apoptotik hücreler dikkate alınarak inceleme yapıldı. Her

bir histolojik bulgu şiddet ve yaygınlığına göre 0-3 arasında (hasar yok 0, düşük hasar 1, orta derecede hasar 2, şiddetli hasar 3) skorlandı.

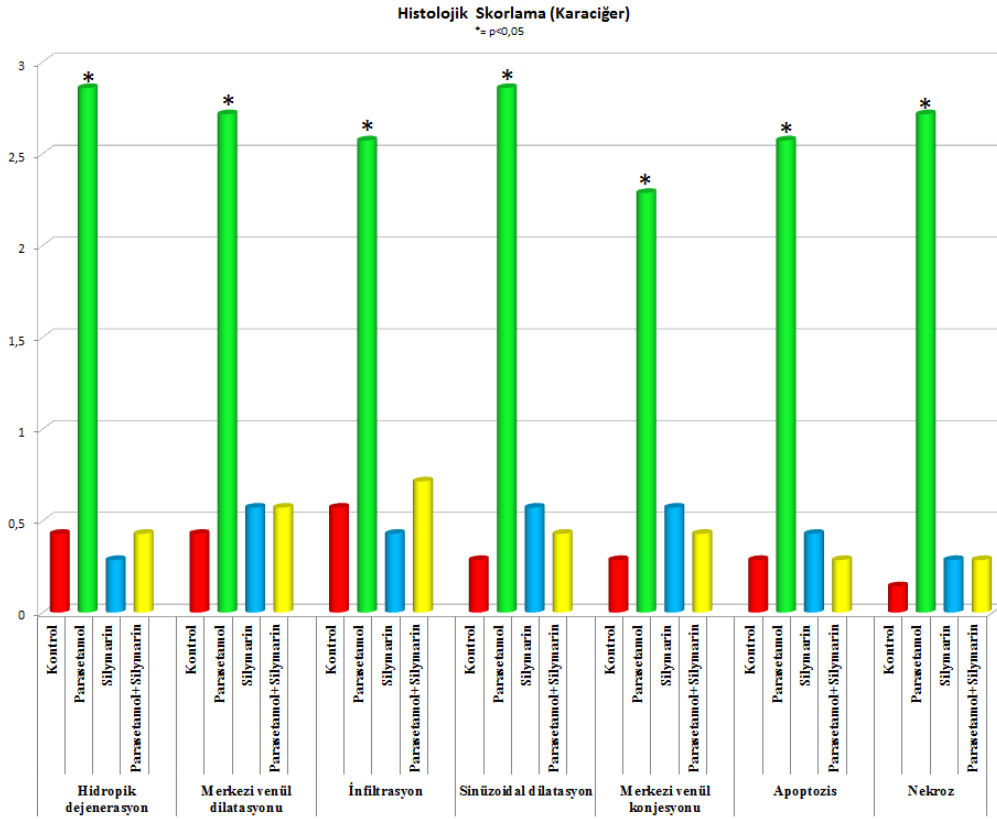
Mononükleer hücre infiltrasyonu, Bowman boşluğunun genişlemesi, tübüler kast, tübüler hasar, vasküler yapılarda dilatasyon ve tübüler apoptozis açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında Parasetamol–kontrol, Parasetamol–Silymarin, Parasetamol ile Parasetamol+Silymarin karşılaştırmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın Parasetamol+Silymarin ile kontrol, Parasetamol+Silymarin ile Silymarin ve Silymarin-kontrol karşılaştırmalarında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo-4, Şekil 14).

Tablo-2: Karaciğer histolojik skorlama tablosu

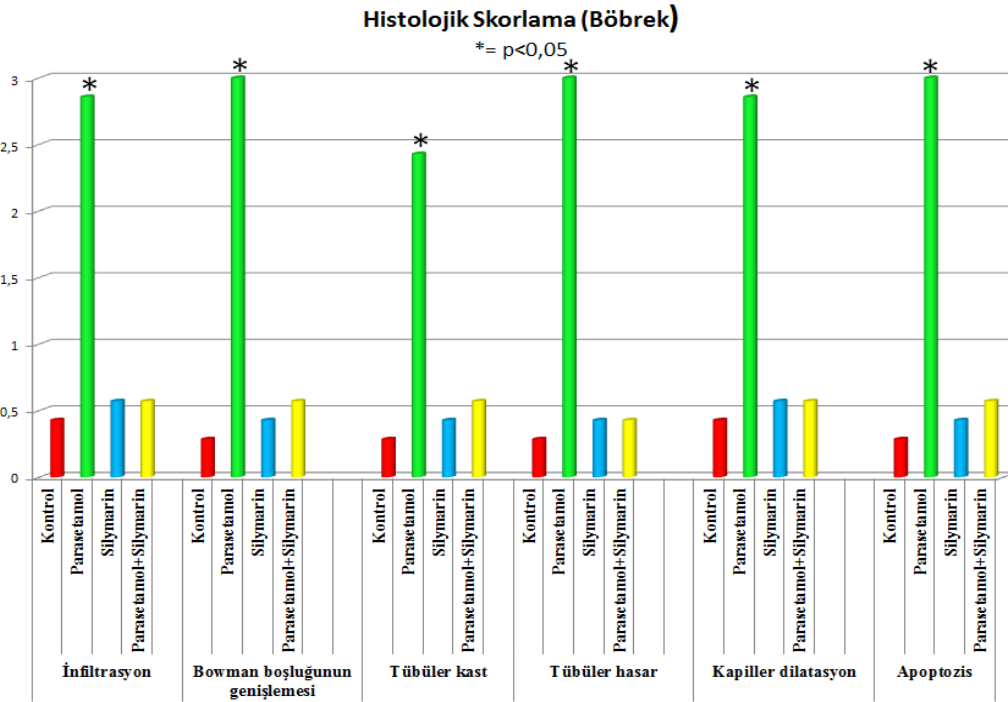
Karaciğer Histolojik skorlama			
	25%	Medyan	75%
Hidropik dejenerasyon			
<i>Kontrol</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol</i>	3	3	3
<i>Silymarin</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	0	0,5
Merkezi Venül Dilatasyonu			
<i>Kontrol</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol</i>	2,5	3	3
<i>Silymarin</i>	0	0	1
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	0	0,5
Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu			
<i>Kontrol</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol</i>	2	3	3
<i>Silymarin</i>	0	0	1
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	0	0,5
Sinüzoidal Dilatasyon			
<i>Kontrol</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol</i>	3	3	3
<i>Silymarin</i>	0	0	0
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	0	0,5
Vasküler Konjesyon			
<i>Kontrol</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol</i>	2	2	2,5
<i>Silymarin</i>	0	1	1
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	0	1
Apoptozis			
<i>Kontrol</i>	0	0	0
<i>Parasetamol</i>	2,5	3	3
<i>Silymarin</i>	0	0	0
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	0	0
Nekroz			
<i>Kontrol</i>	0	0	1
<i>Parasetamol</i>	2	3	3
<i>Silymarin</i>	0	0	0
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	0	1

Tablo-3: Böbrek histolojik skorlama tablosu

Böbrek Histolojik skorlama			
	25%	Medyan	75%
Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu			
<i>Kontrol</i>	0	0	1
<i>Parasetamol</i>	3	3	3
<i>Silymarin</i>	0	1	1
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	1	1
Bowman boşluğu genişlemesi			
<i>Kontrol</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol</i>	3	3	3
<i>Silymarin</i>	0	0	1
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	1	1
Tübüler kast			
<i>Kontrol</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol</i>	2	2	3
<i>Silymarin</i>	0	0	1
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	1	1
Tübüler hasar			
<i>Kontrol</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol</i>	3	3	3
<i>Silymarin</i>	0	0	1
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	0	1
Vasküler Dilatasyon			
<i>Kontrol</i>	0	0	1
<i>Parasetamol</i>	3	3	3
<i>Silymarin</i>	0	1	1
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	1	1
Apoptozis			
<i>Kontrol</i>	0	0	0,5
<i>Parasetamol</i>	3	3	3
<i>Silymarin</i>	0	0	1
<i>Parasetamol+silymarin</i>	0	1	1



Şekil 13: Karaciğere ait histolojik skarlama



Şekil 14: Böbreğe ait histolojik skarlama

4.2. Histolojik Bulgular

4.2.1. Karaciğer dokusuna ait ışık mikroskopik bulgular

Kontrol grubundaki (0.8 cc SF, p.o.) farelerin karaciğerleri incelendiğinde klasik karaciğer lobülünün ortasında vena sentralis, vena sentralisten ışımsal biçimde periferde doğru uzanan hepatosit kordonları (Remark kordonları) ve bu kordonların arasında ince boşluklar halinde sıralanan sinüzoidler izlendi. Sinüzoidlerde endotel hücrelerinin nükleusları yassı ve koyu boyanmış olarak gözlemlendi. Hücre sınırları belirgin olarak görülebilmektedir. Ökromatik çekirdekleri yuvarlak şekilli ve sınırları belirgindir (Şekil 15 a-b).

Parasetamol (500mg/kg, p.o.) verilen farelerin karaciğerlerinin histolojik incelemesinde sinüzoidlerde ve özellikle v. sentralislerde dilatasyon ve konjesyon görüldü (Şekil 17 a-b).

Yine aynı gruptaki deneklerin hepatositlerinde hidropik dejenerasyon ve hücre sınırlarının kaybolduğu izlenirken, Remark kordonlarının yapısında da düzensizlikler olduğunu belirledik. Hasarların genellikle vena sentralis'e yakın bölgede, 3. zonda lokalize olduğunu gözledik. Parasetamol'ün etkisiyle özellikle v. sentralis etrafında daha sık rastlanan ve lobül genelinde de belirlediğimiz piknotik çekirdekli ve eozinofilik sitoplazmalı hücrelerden oluşan nekrotik odaklar ve aynı zamanda mononükleer hücre infiltrasyonu bu gruba özgü ortaya çıkan bulgulardır. Nekroza gitmiş hücreler bu grup karaciğerlerinde yaygın halde olmayıp odaksal şekildedir (Şekil 17 a-d).

Karaciğer hasarlarında sıkça görülen lipid birikimi Parasetamol grubunda bir fare dışında önemsiz sayılabilecek düzeyde görülmesi bu değişikliğin o fareye özgü bir durum olduğunu düşündürdü (Şekil 17-b).

Silymarin (100 mg/kg, p.o.) uygulanan fare karaciğerlerinin HE boyamasıyla yaptığımız mikroskopik incelememizde bazı farelerde minimal mononükleer hücre infiltrasyonuna rastladık. Dokudaki hepatosit hücre sınırlarının belirgin, sitoplazma, çekirdek yapıları ve sinüzoidleri normal yapıda izlerken karaciğere özgün ışınal yapının da iyi korunduğunu belirledik (Şekil 19).

Parasetamol (500mg/kg, p.o.)+Silymarin (100 mg/kg, p.o.) uygulanan farelerde ise Remark kordonları büyük oranda düzenli görünümde, hepatosit nükleusları eşit çapta ve belirgin nükleoluslara sahipti. Hepatositlerin vasküler yüzünde, diğer gruplara kıyasla, sinüzoid lümenlerinde zaman zaman hafif bir dilatasyon gözlemlendi. Parasetamol grubunda görülen hasarların çoğu Parasetamol'un Silymarin ile birlikte verilmesinden sonra büyük oranda azalmış olduğu görüldü. Özellikle hepatositlerdeki yaygın hidropik dejenerasyon bu grupta izlenmedi (Şekil 21 a-d).

4.2.2. Böbrek dokusuna ait ışık mikroskopik bulgular

Kontrol grubundaki farelerin böbrekleri incelendiğinde korteks ve medulladan oluşan 2 bölgesi, kortekste pariyetal ve visseral yapraklardan oluşan Bowman Kapsülü içerisinde glomerüllerden oluşan böbrek cisimciğinin yanı sıra proksimal ve distal tübüllerin yerleşimi görülmektedir. Böbrek kesitlerinde tüm korteks yapılarının ve medullada ise Henle Kulpu'nun ve toplama kanallarının normal histolojik yapıda oldukları gözlemlendi (Şekil 23 a-b).

Parasetamol (500 mg/kg, p.o.) uygulanan farelerin böbrekleri incelendiğinde ise proksimal tübülde hasar ve kast oluşumu gözlenirken Bowman aralığında genişleme ve intersitisyel alanda mononükleer hücre infiltrasyonu belirlendi. Glomerül kapillerinde ve intersitisyel alandaki vasküler yapılarda hafif dilatasyon gözlenirken medulla bölgesinde herhangi bir bozukluk izlenmedi (Şekil 25 a-f).

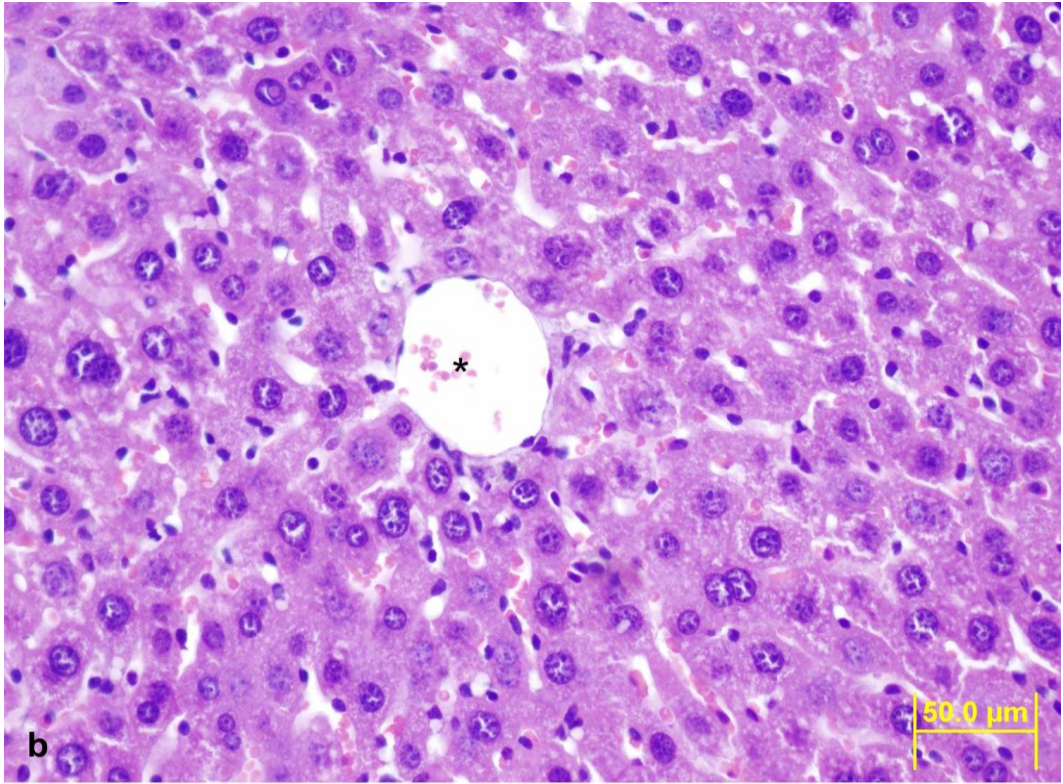
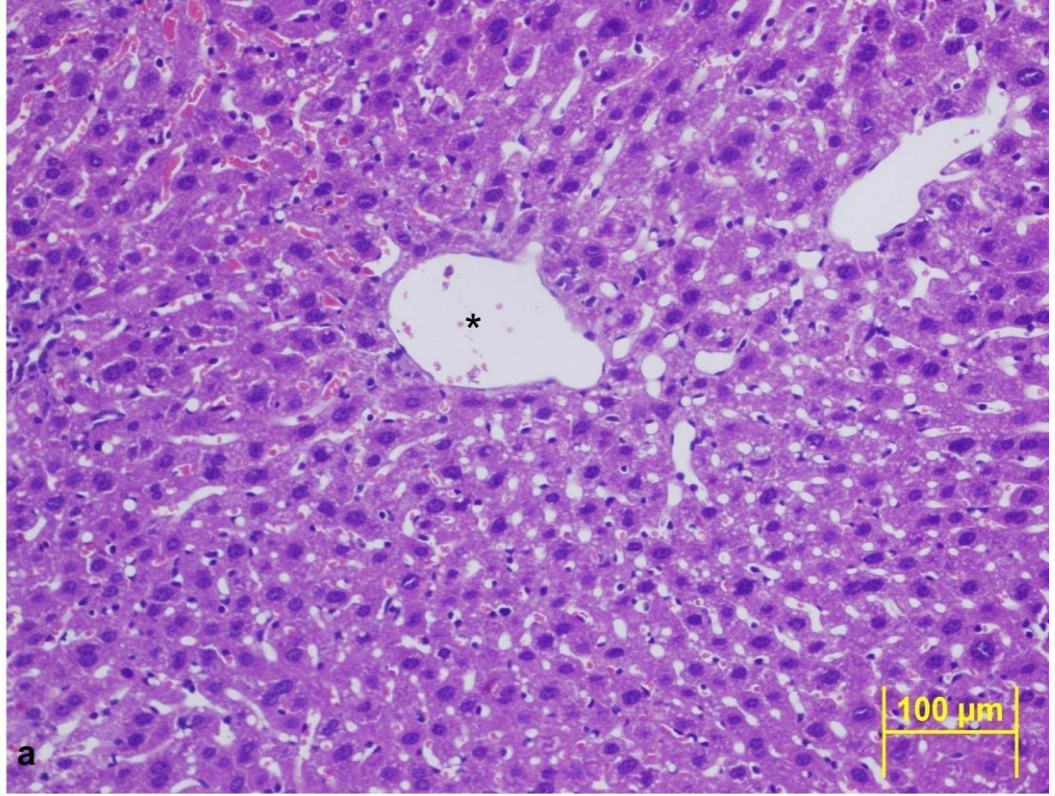
Silymarin (100 mg/kg, p.o.) uygulanan farelerin böbrekleri incelendiğinde ise böbreğin genel olarak normal histolojik yapısını koruduğu izlendi (Şekil 27 a-b).

Parasetamol (500mg/kg, p.o.) + Silymarin (100 mg/kg, p.o.) uygulanan farelerin böbreklerinde Silymarin verilen grupta olduğu gibi glomerül kapillerinde hafif dilatasyon gözlene de dokudaki diğer yapıların normal histolojik yapıda olduğu belirlendi (Şekil 29 a-d).

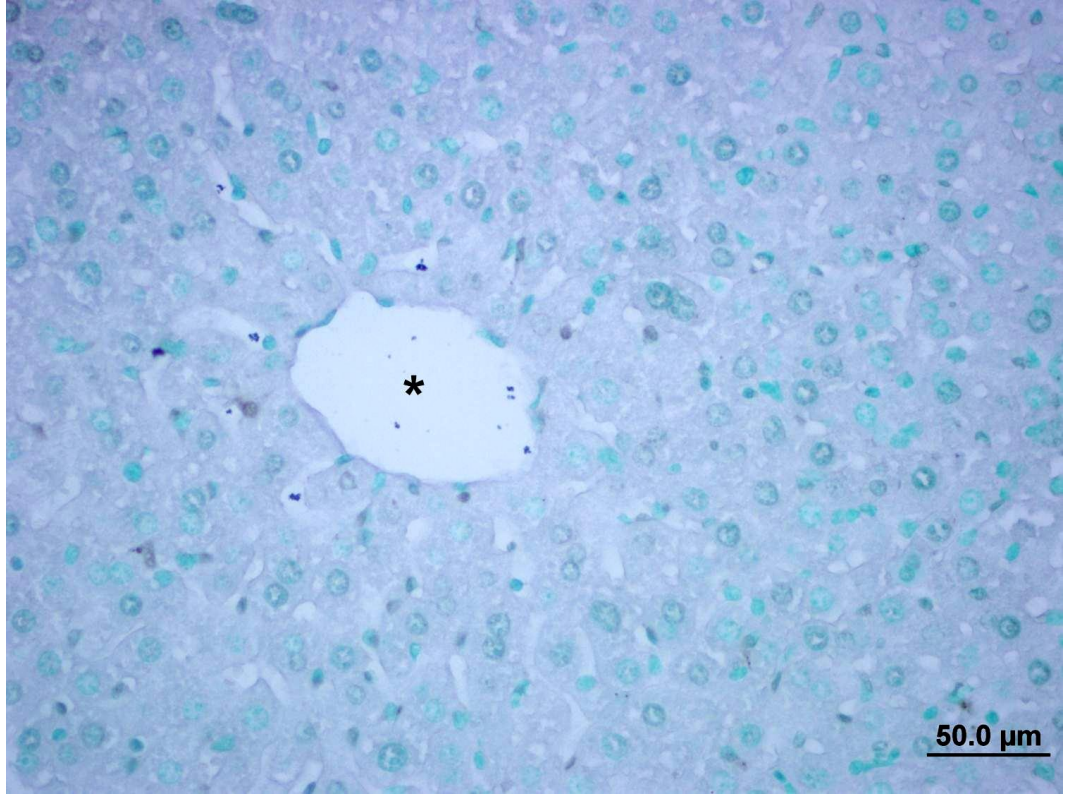
4.3. TUNEL Bulguları

Apoptotik hücrelerde oluşan DNA kırıklarının belirlenmesinde uygulanan TUNEL yöntemi ile kontrol grubu karaciğerlerinde negatif reaksiyon görüldü (Şekil 16). Aynı yöntemi Parasetamol grubuna uyguladığımızda ise apoptotik hücrelerin pozitif boyanarak özellikle vena sentralis etrafında lokalize oldukları görüldü. TUNEL reaksiyonu Parasetamol verilen tüm deneklerin karaciğerlerinde pozitif sonuç verdi (Şekil 18). Silymarin verilen fare karaciğerlerinde negatif TUNEL reaksiyonu görüldü (Şekil 20). Parasetamol+Silymarin grubunda ise kimi hücrelerde apoptozis belirlense de Silymarin'in apoptozisi büyük oranda engellediği belirlendi (Şekil 22).

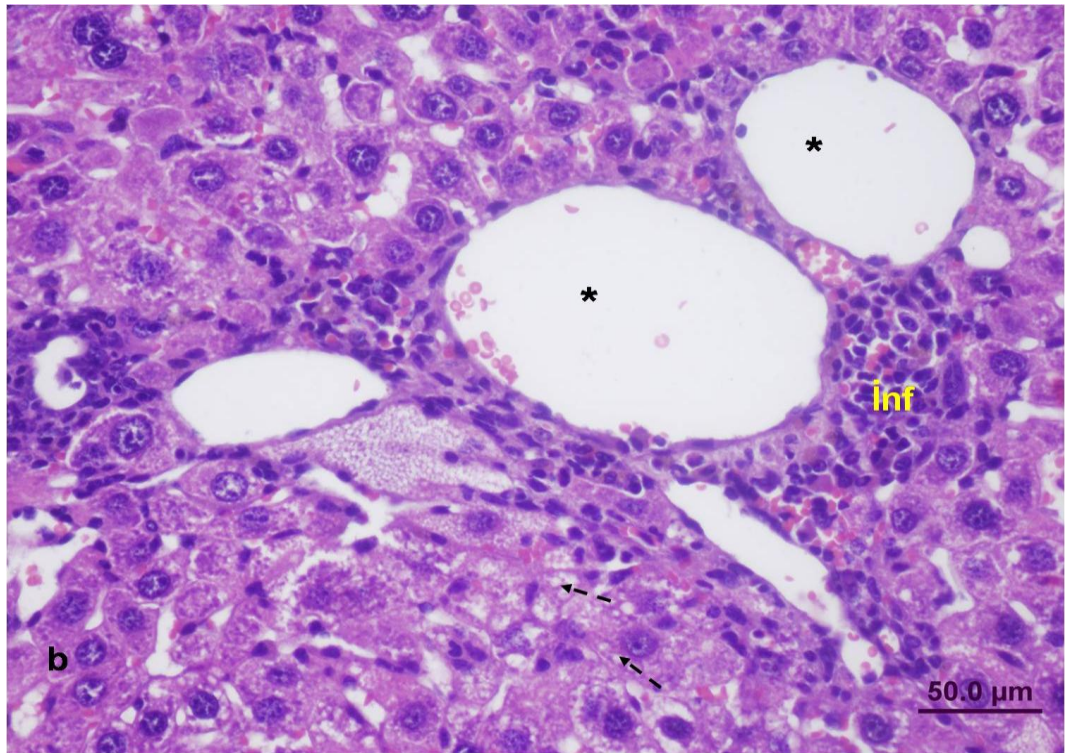
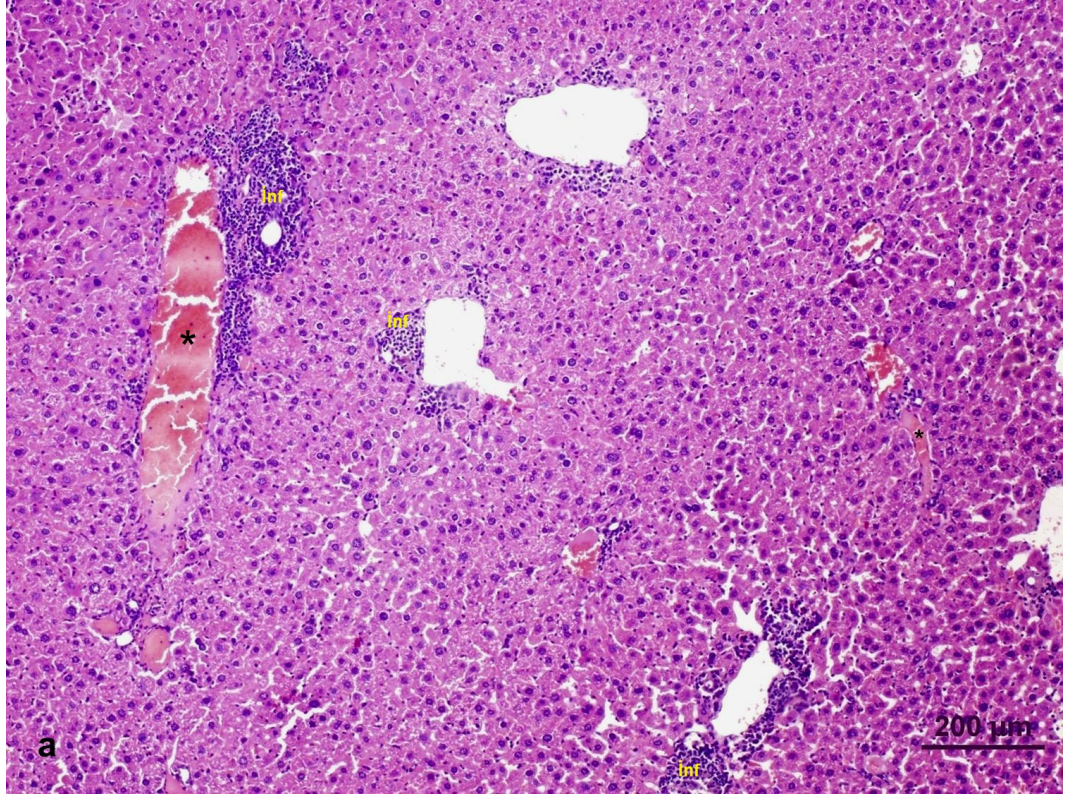
Böbrek kontrol grubunda yapılan TUNEL uygulamasında apoptotik hücrelere rastlanmazken (Şekil 23) Parasetamol grubunda kimi tübüllerde apoptotik hücreler gözlemlendi (Şekil 26 a-b). Silymarin uygulanan fare böbrek dokularında negatif TUNEL reaksiyonu gözlenirken (Şekil 28), Parasetamol+Silymarin grubunda kimi tübül hücrelerinde apoptotik yapılar belirlense de Silymarin'in böbrek dokusunda apoptozisi büyük oranda önlediği belirlendi (Şekil 30).



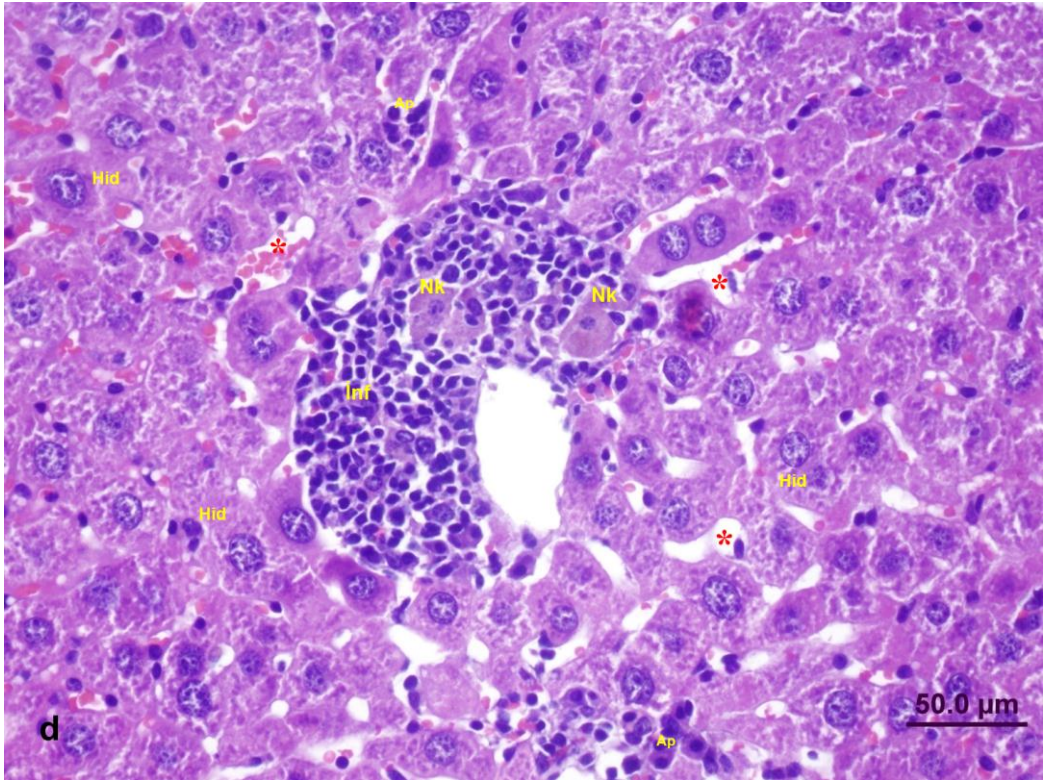
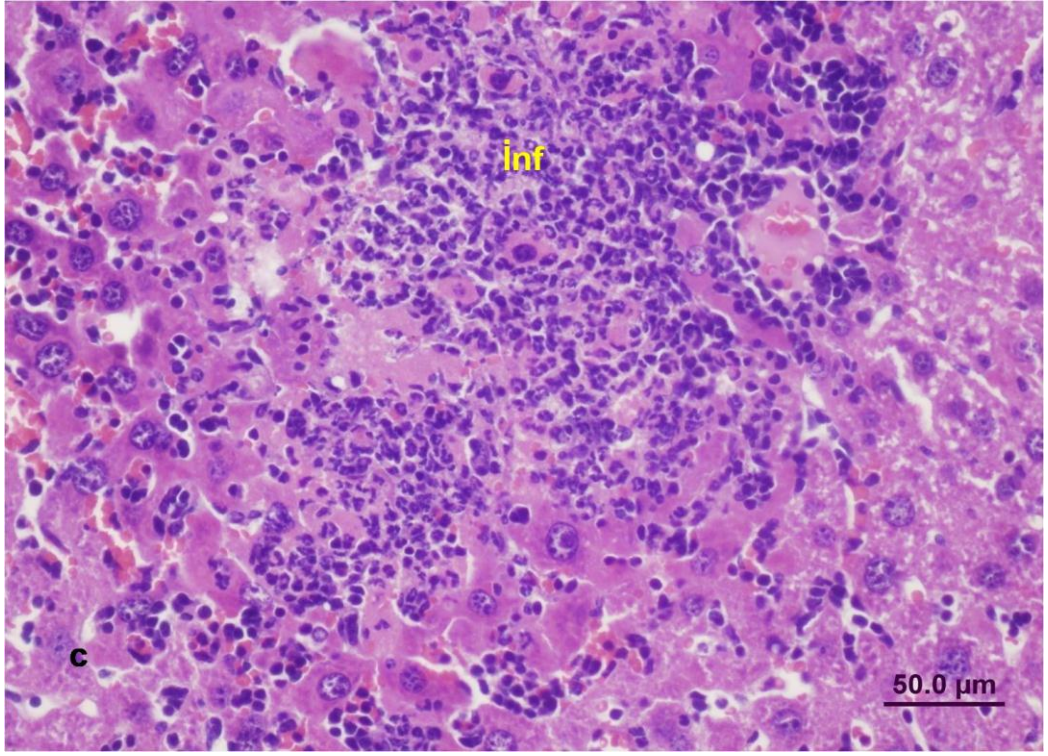
Şekil 15: Kontrol grubu (HE): 0.8 cc SF uygulanmış fare karaciğerlerinin ışık mikroskopik görüntüsü, v.sentralis (*) a, b (bar:100 µm), (bar:50 µm)



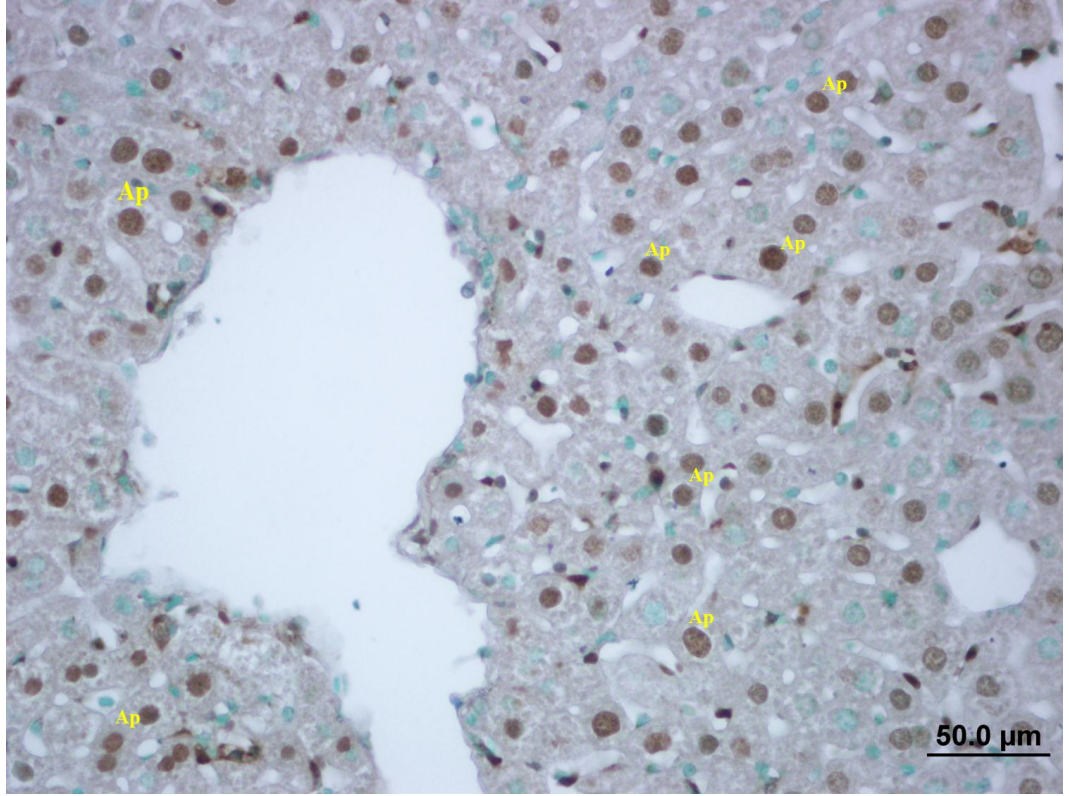
Şekil 16: Kontrol grubu (TUNEL boyaması): 0.8 cc SF uygulanmış fare karaciğerlerinde TUNEL negatif reaksiyon vermiş normal karaciğer hücreleri, v.sentralis (*) (bar:50 µm).



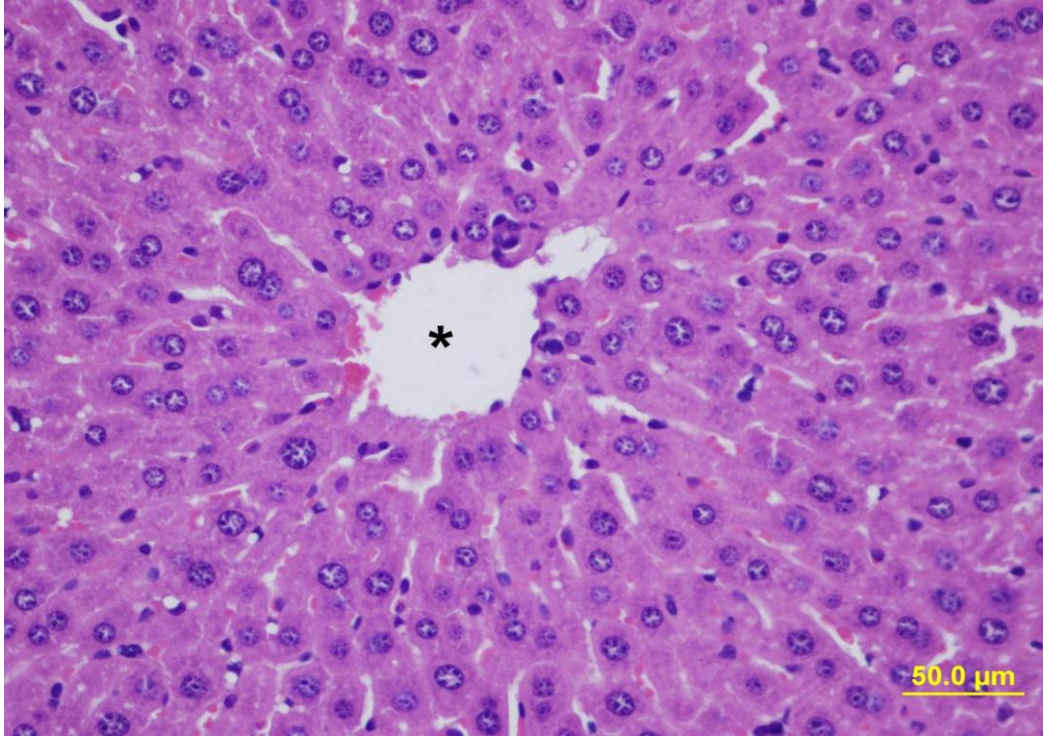
Şekil 17: Parasetamol grubu (HE): 500 mg/kg Parasetamol verilmiş fare karaciğerlerinin ışık mikroskopik görüntüsü. a,b: Dilatasyon ve konjesyon gelişmiş vasküler yapı (*), mononükleer hücre infiltrasyon bölgeleri (inf) (bar: 200µm), lipid vakuolizasyonu (- - - ►) (bar: 50µm).



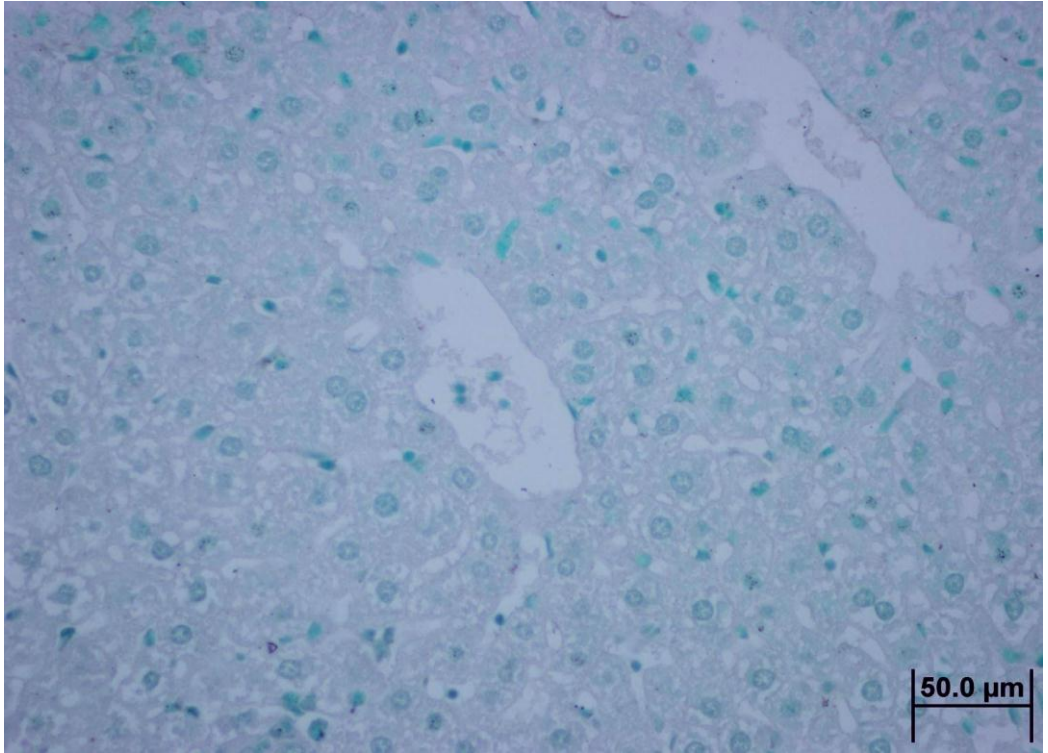
Şekil 17: Parasetamol grubu (HE): 500 mg/kg Parasetamol verilmiş fare karaciğerlerinin ışık mikroskopik görüntüsü. c,d: Mononükleer hücre infiltrasyonu (inf), nekrotik hücre (nh), hidropik dejenerasyona uğramış hepatositler (hid), sinüzoidal dilatasyon (*) (bar: 50µm).



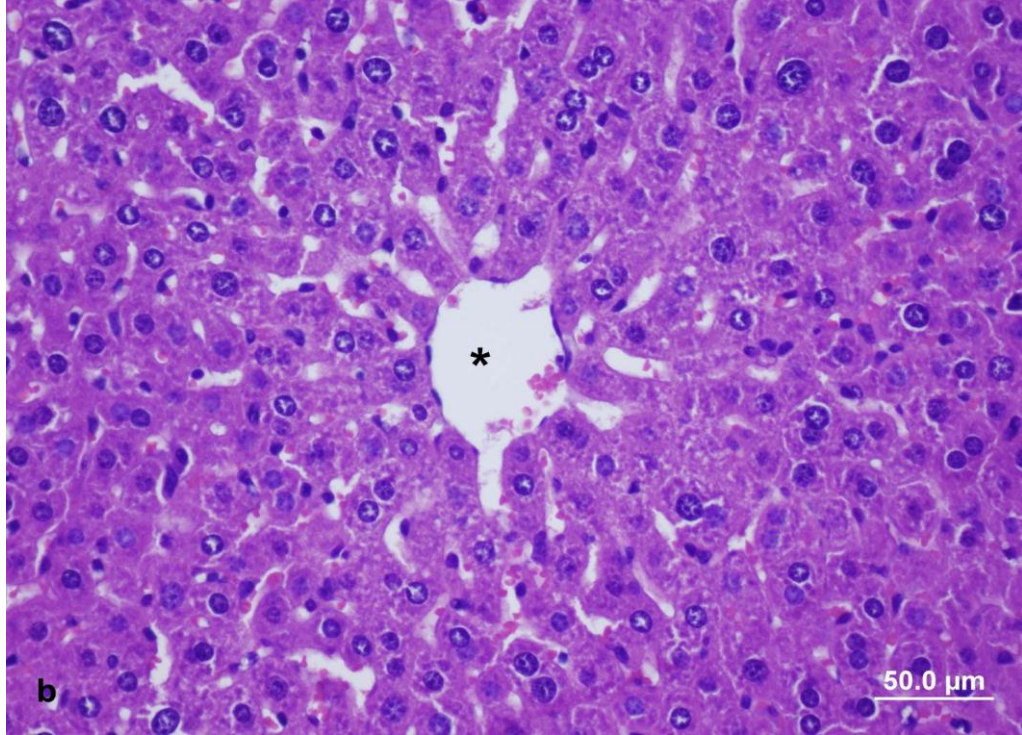
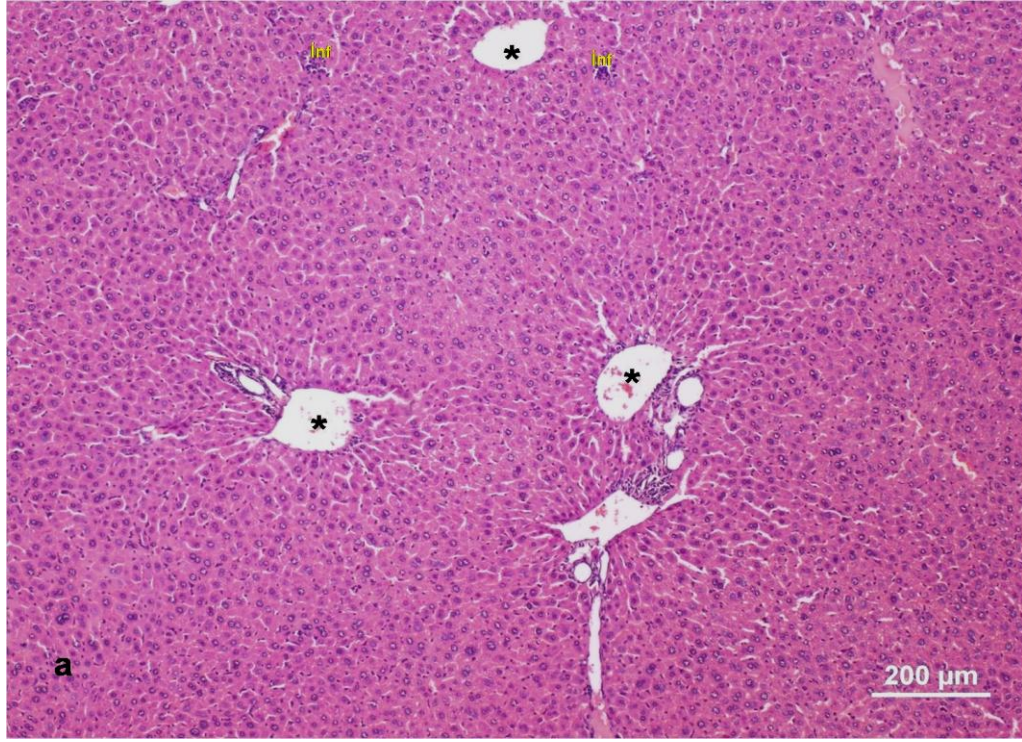
Şekil 18: Parasetamol grubu (TUNEL boyaması): 500 mg/kg Parasetamol verilmiş fare karaciğerlerinde apoptotik hücreler (Ap) (bar:50 µm).



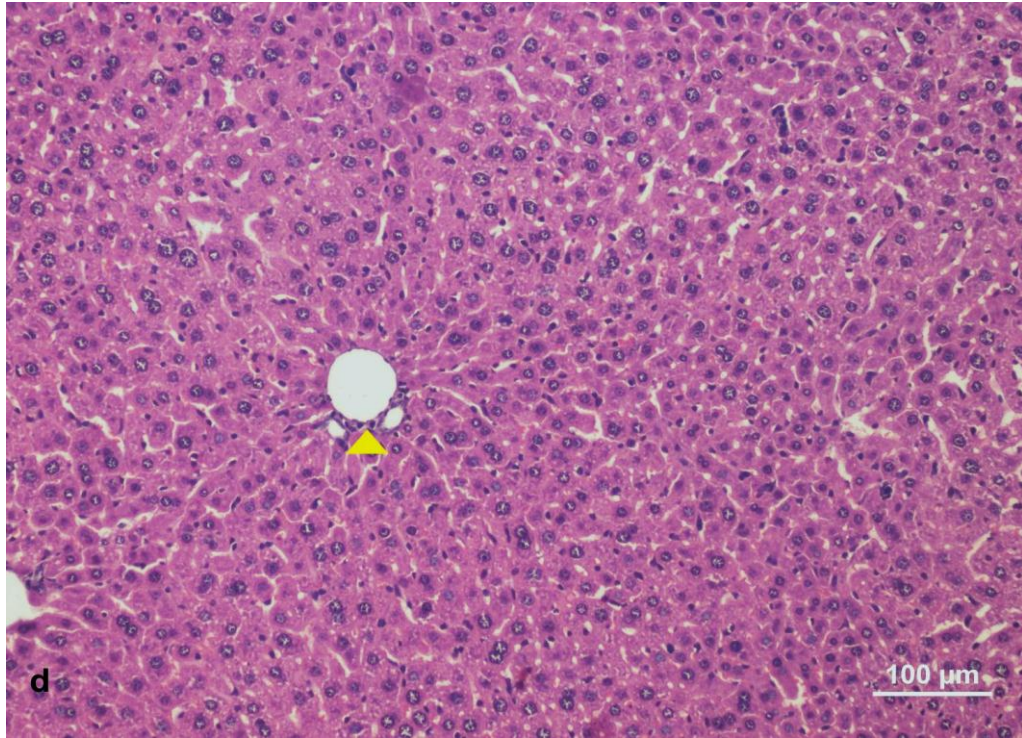
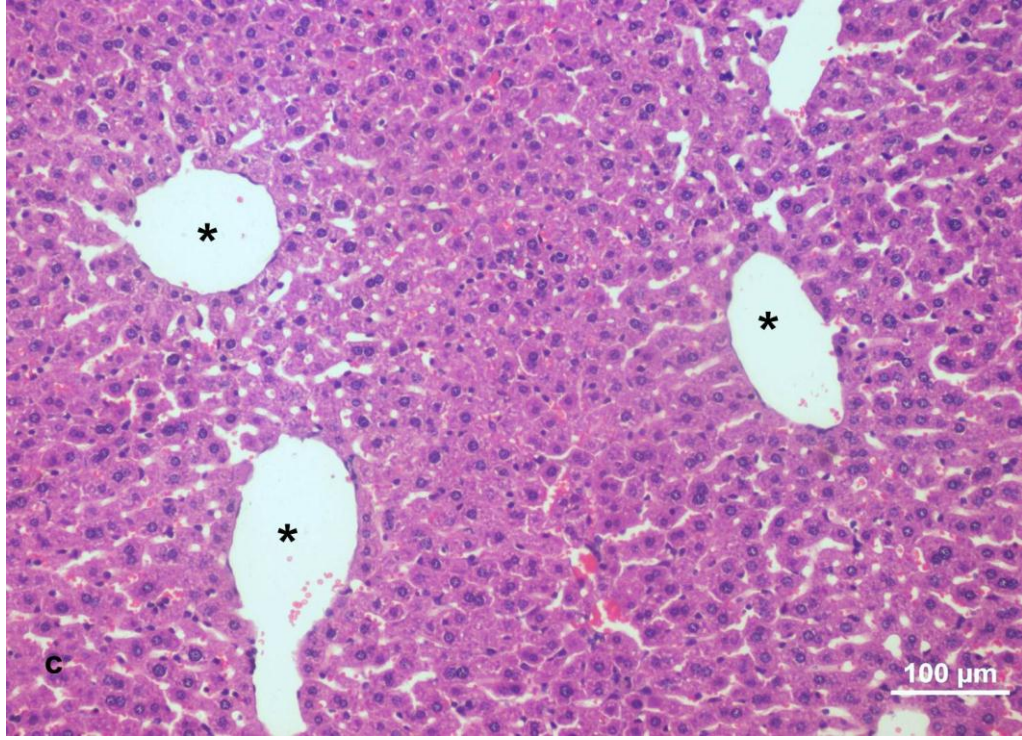
Şekil 19: Silymarin grubu (HE): 100 mg/kg Silymarin verilmiş fare karaciğerlerinin ışık mikroskopik görüntüsü, v. sentralis (*) (bar:50 µm).



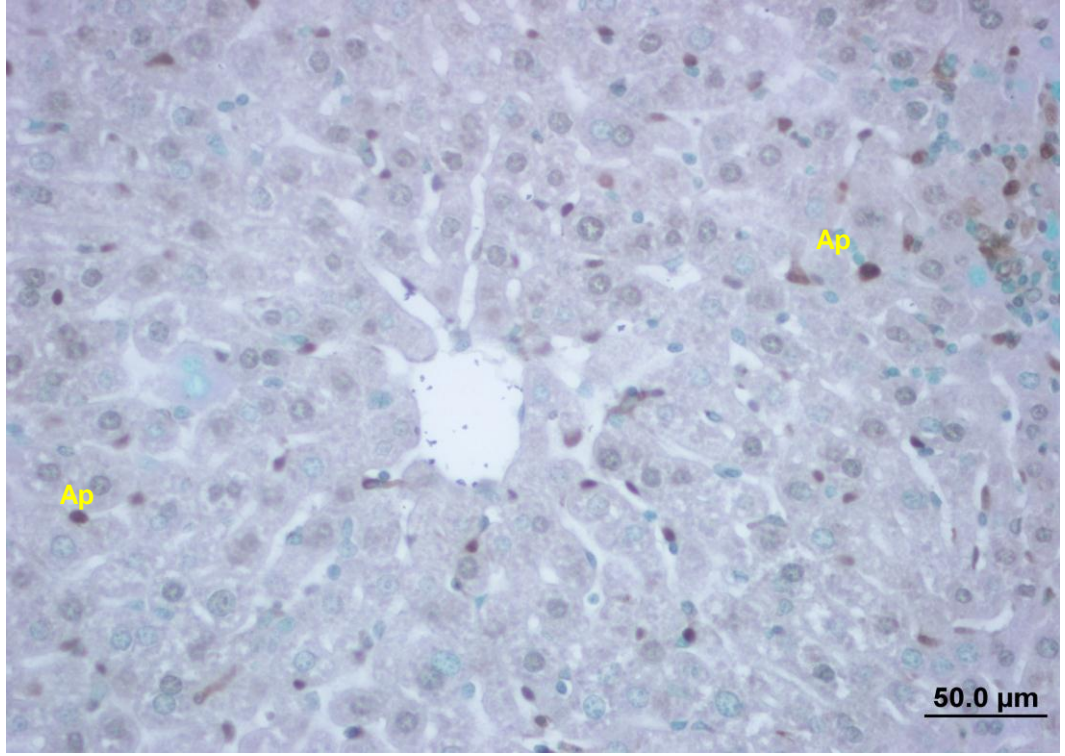
Şekil 20: Silymarin grubu (TUNEL boyaması): 100 mg/kg Silymarin uygulanmış fare karaciğerlerinde negatif boyanma gösteren hücreler (bar:50 µm).



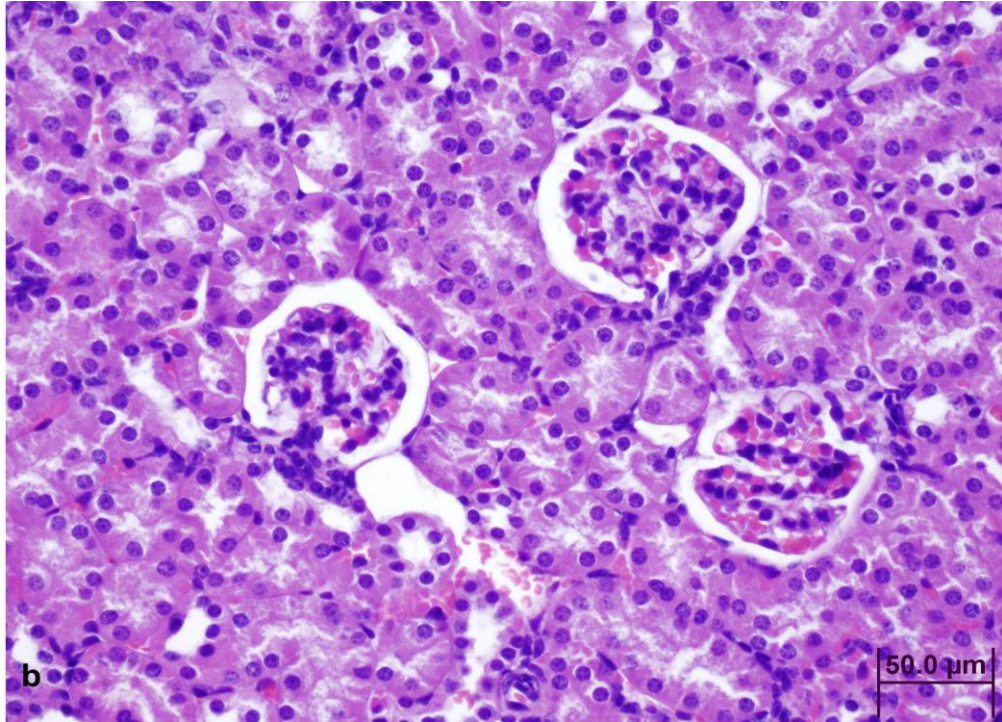
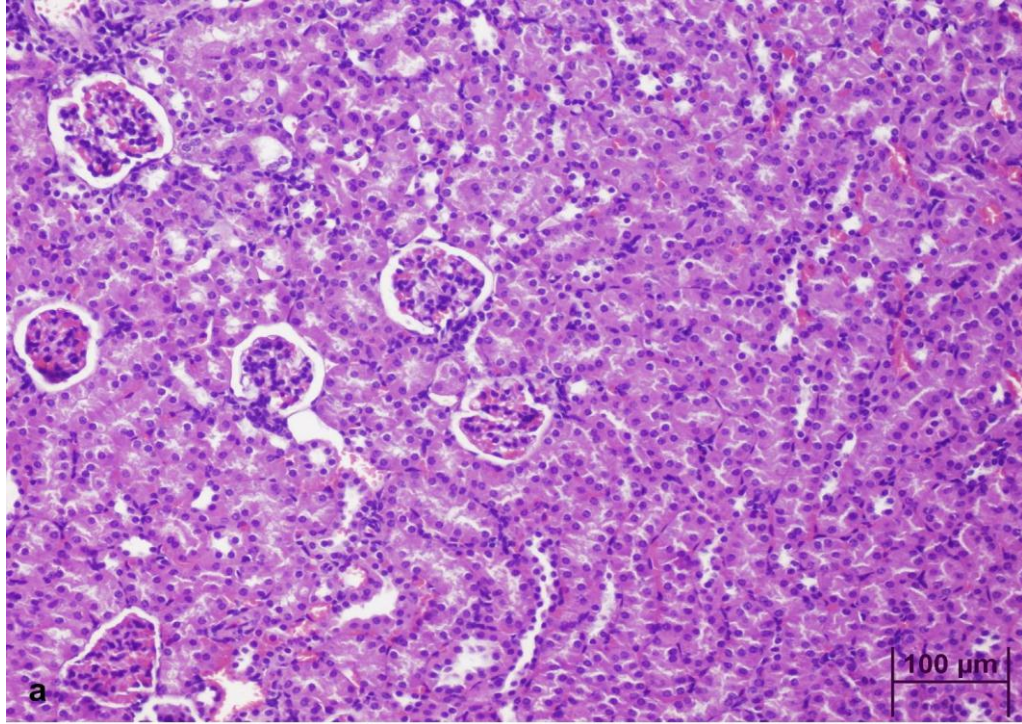
Şekil 21: Parasetamol+Silymarin grubu (HE): 500 mg/kg Parasetamol ve 100 mg/kg Silymarin verilmiş fare karaciğerlerinin ışık mikroskopik görüntüsü. a, b: Minimal düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu (inf), normal görünümlü v. sentralis (*) (200 µm), (bar:50 µm).



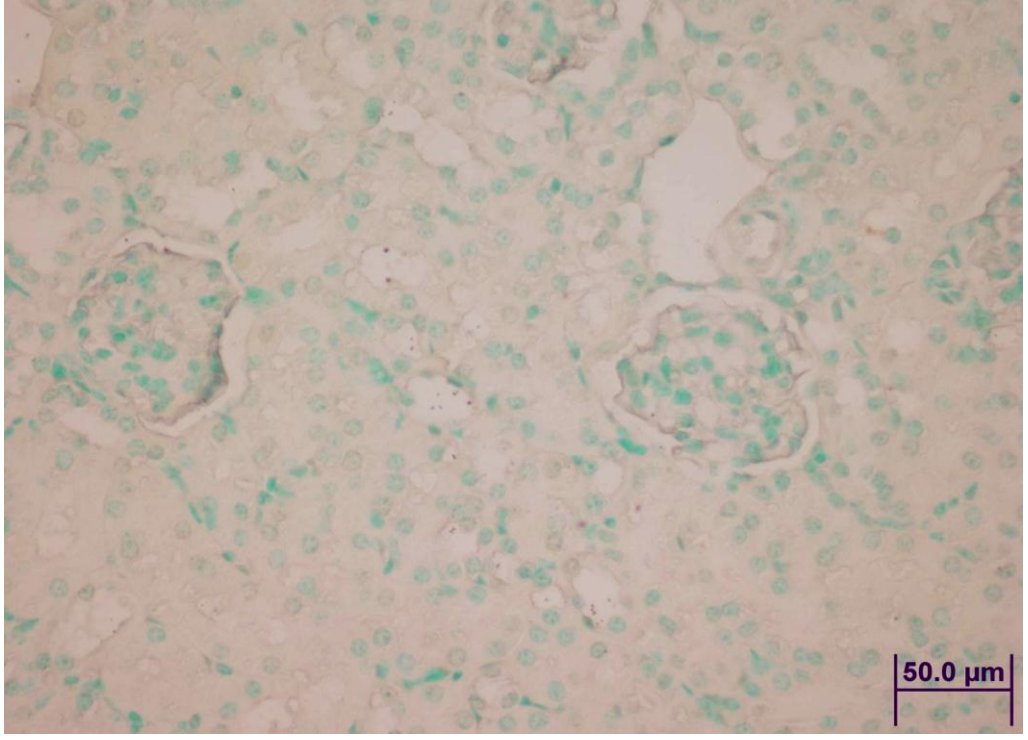
Şekil 21: Parasetamol+Silymarin grubu (HE): 500 mg/kg Parasetamol ve 100 mg/kg Silymarin verilmiş fare karaciğerlerinin ışık mikroskopik görüntüsü. c, d: V. Sentralis (*), normal yapıdaki portal triad (▲)(bar: 100 µm).



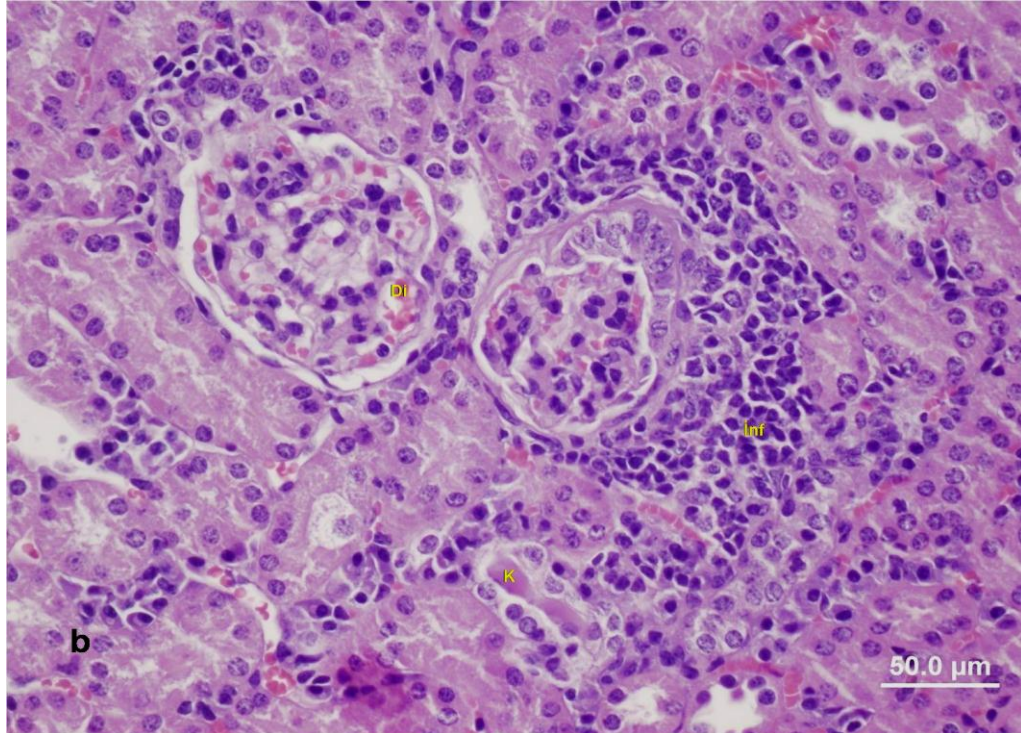
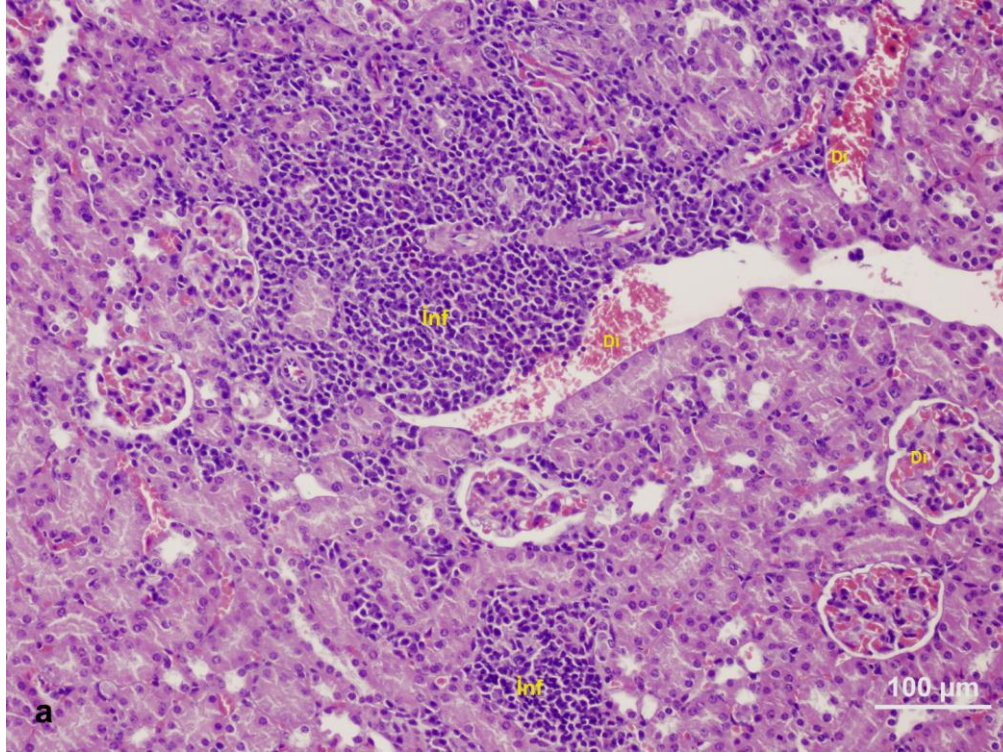
Şekil 22: Parasetamol+Silymarin grubu (TUNEL boyaması): 500 mg/kg Parasetamol ve 100 mg/kg Silymarin verilmiş fare karaciğerlerinde minimal sayıda apoptotik karaciğer hücreleri (Ap) (bar:50 µm).



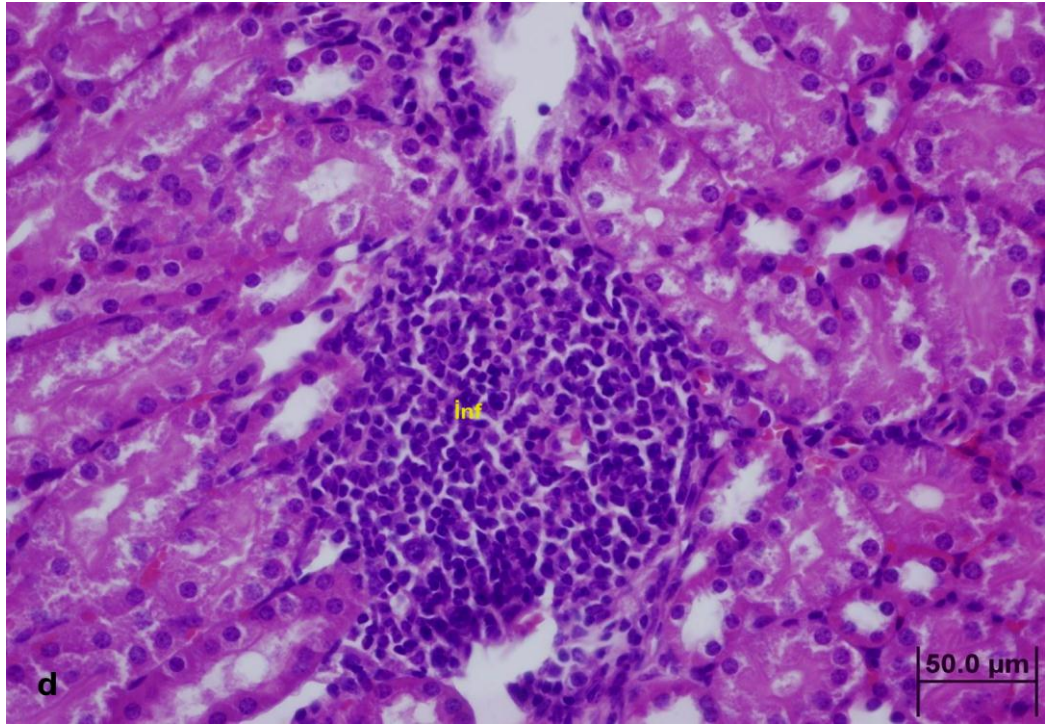
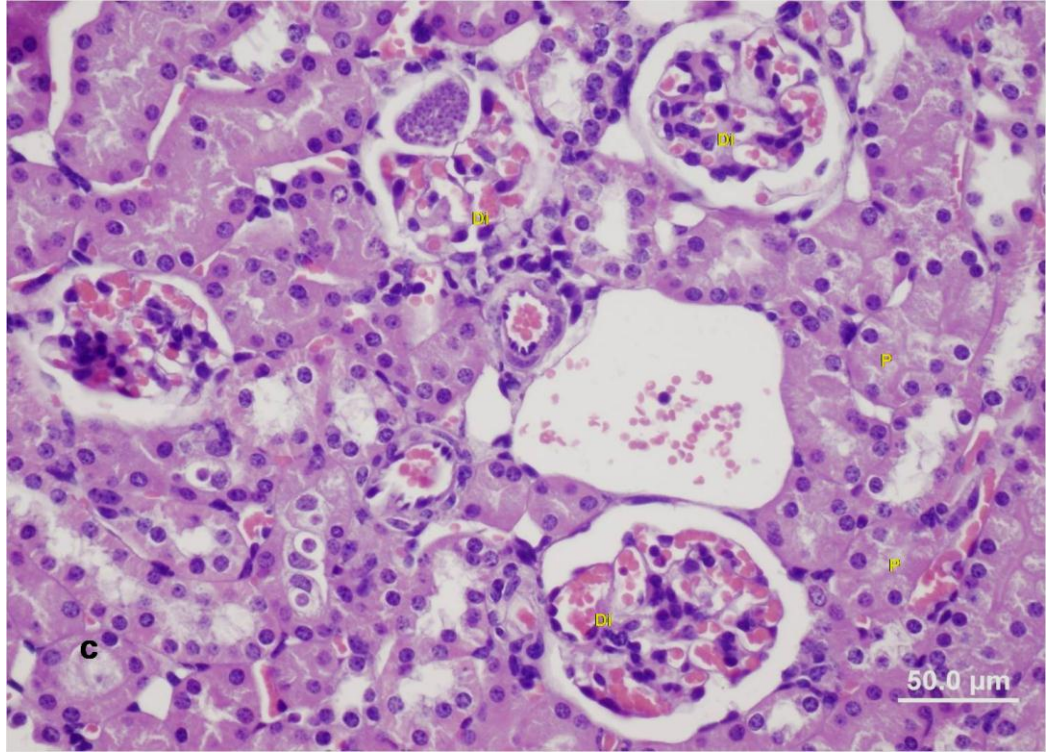
Şekil 23: Kontrol grubu (HE): 0.8 cc SF uygulanmış fare böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. a, b: Böbreğin genel görüntüsü. (bar: 100 µm) (bar: 50 µm) .



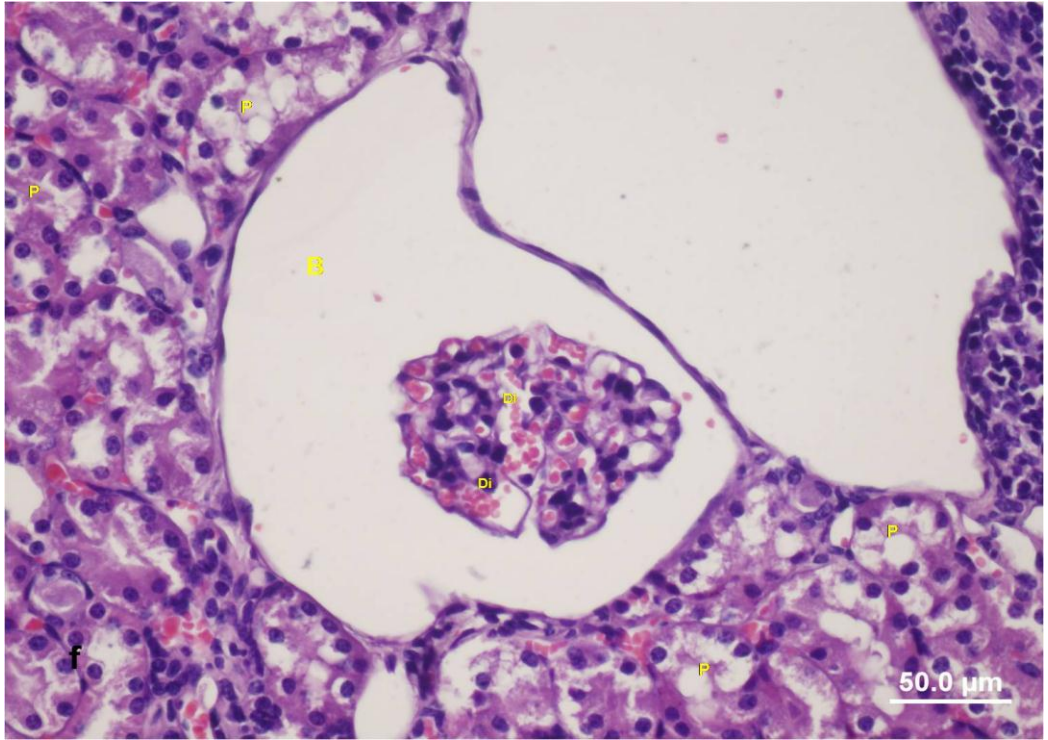
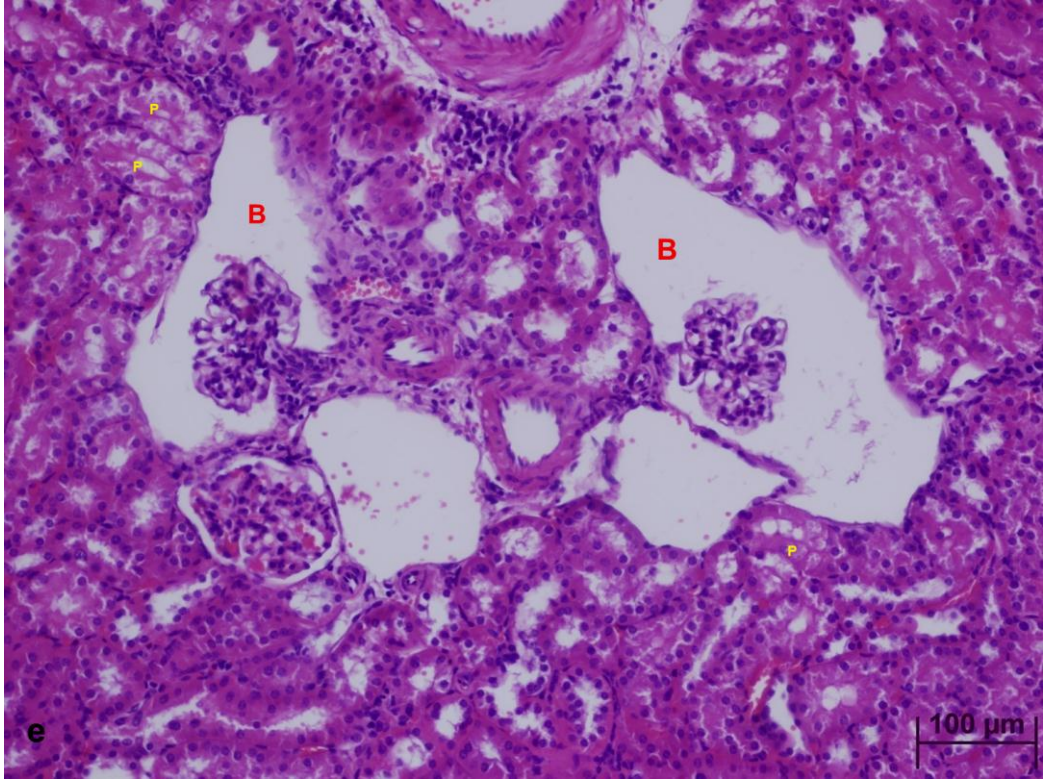
Şekil 24: Kontrol grubu (TUNEL boyaması): 0.8 cc SF uygulanmış fare böbreklerinde negatif reaksiyon (bar:50 µm).



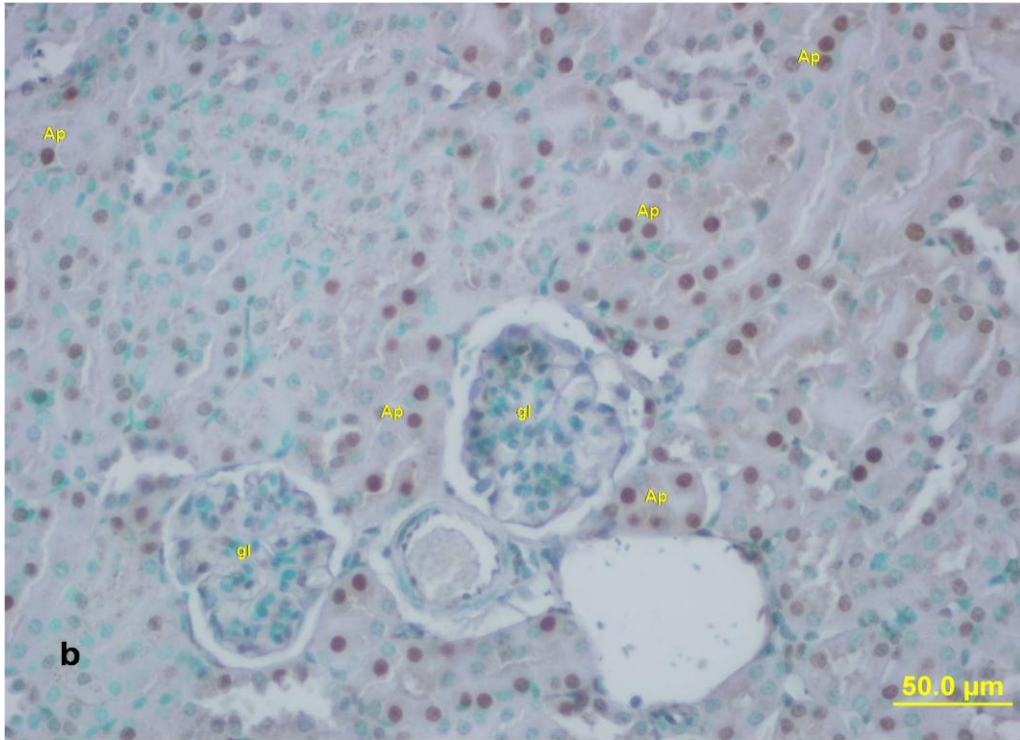
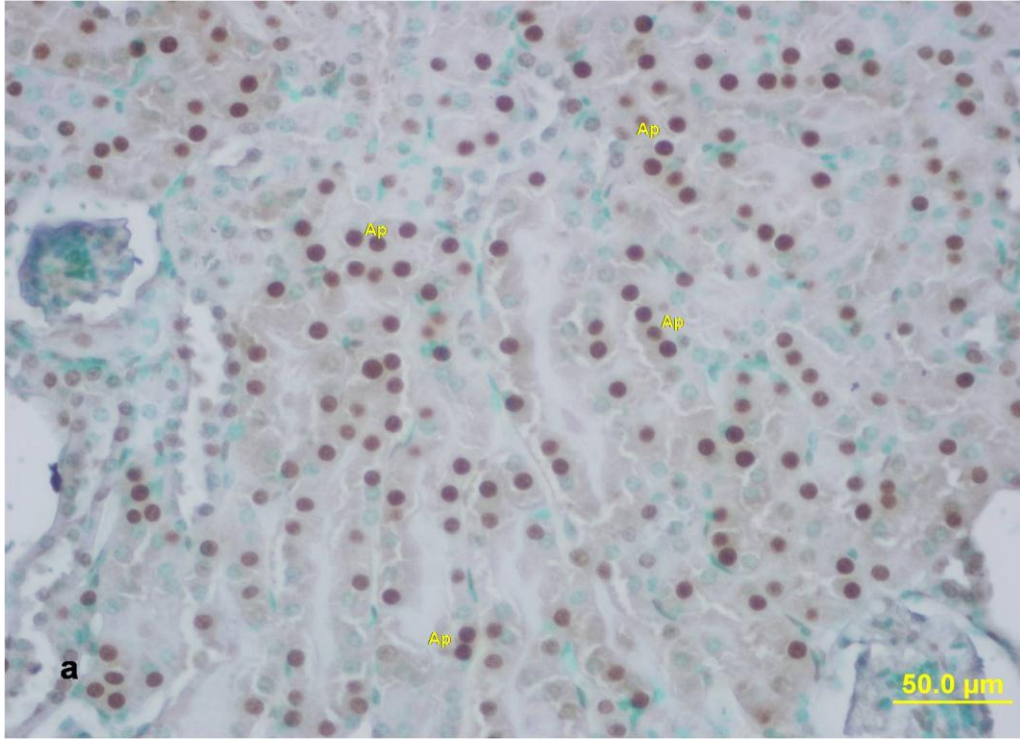
Şekil 25: Parasetamol grubu (HE): 500 mg/kg Parasetamol verilmiş fare böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. a,b: Glomerül kapillerinde ve diğer vasküler yapılarda hafif şiddette dilatasyon (Di), mononükleer hücre infiltrasyonu (inf), tübüler kast (K) (bar: 100 µm), (bar: 50 µm).



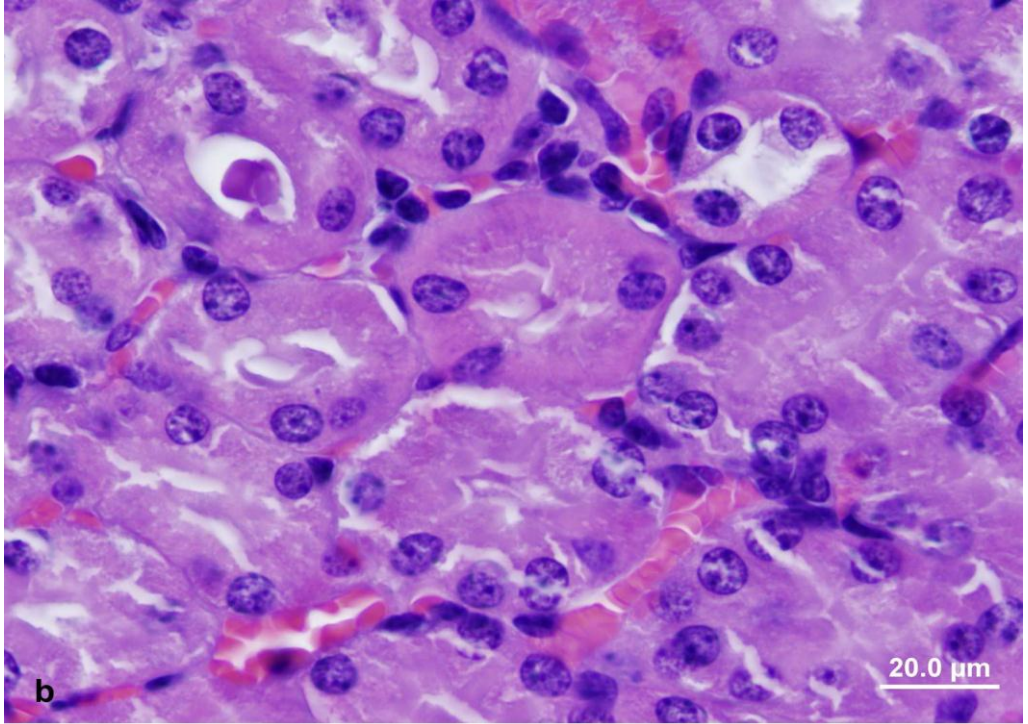
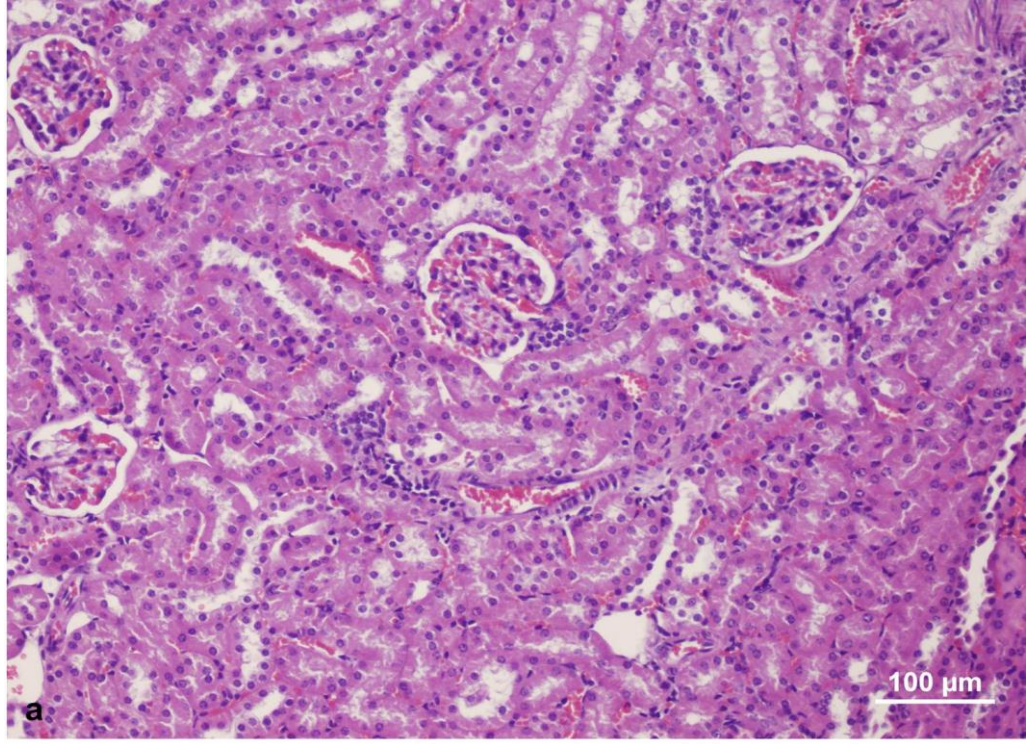
Şekil 25: Parasetamol grubu (HE): 500 mg/kg Parasetamol verilmiş fare böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. c, d: Glomerül kapillerinde hafif dilatasyon (Di), mononükleer hücre infiltrasyonu (inf), proksimal tübüllerde hasara bağlı soluk boyanma (p) gözlenmekte (bar: 50 µm).



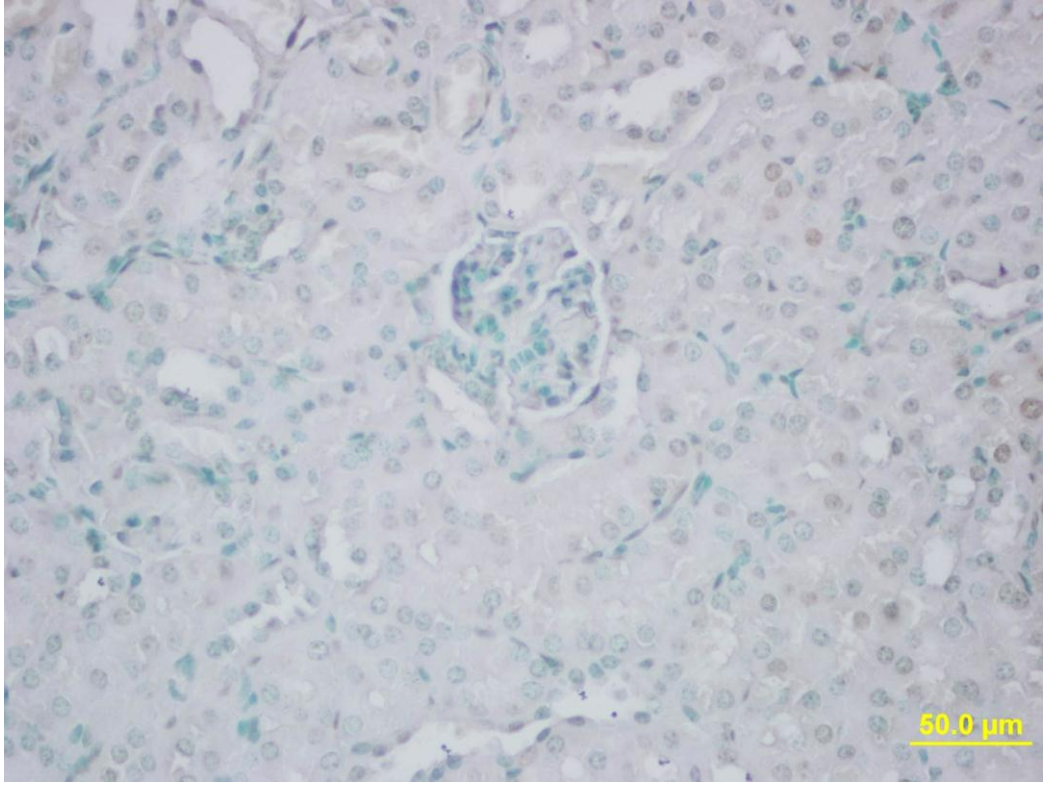
Şekil 25: Parasetamol grubu (HE): 500 mg/kg Parasetamol verilmiş fare böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. e, f: Glomerül kapillerinde hafif dilatasyon (Di), proksimal tübüllerde hasar (p), Bowman boşluğunda genişleme (B) bulguları gözlenmekte (bar: 100 µm) (bar: 50 µm).



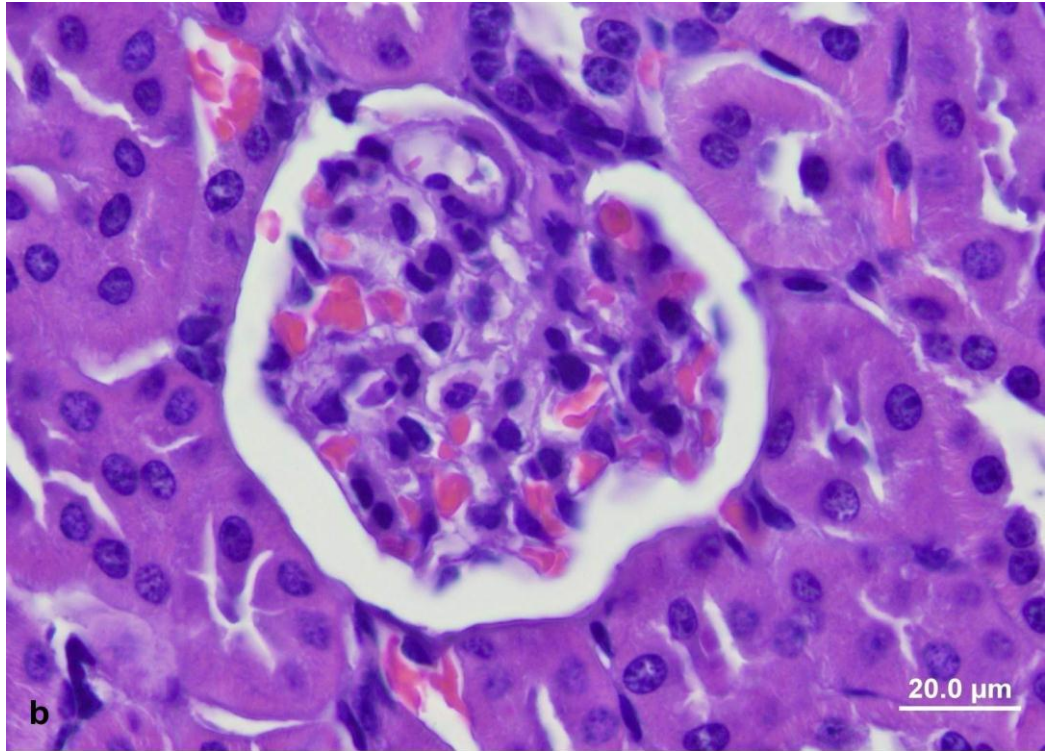
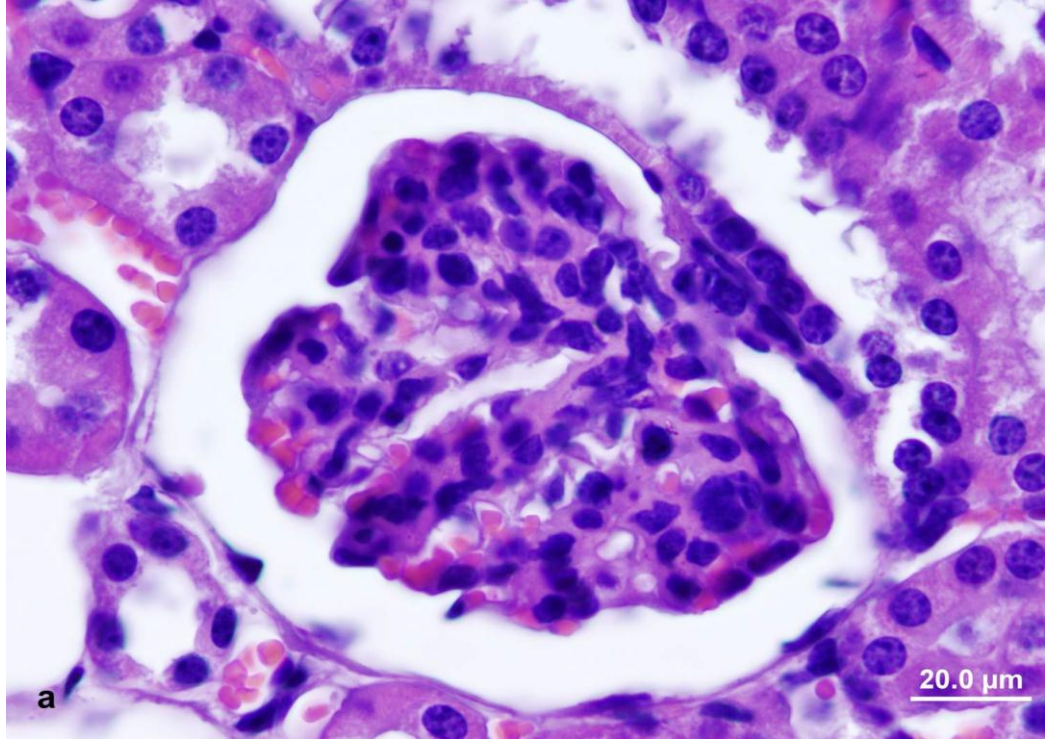
Şekil 26: Parasetamol grubu (TUNEL boyaması): 500 mg/kg Parasetamol verilmiş fare böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. a, b: Pozitif TUNEL reaksiyon gösteren apoptotik böbrek tübül hücreleri (Ap) (bar:50 µm).



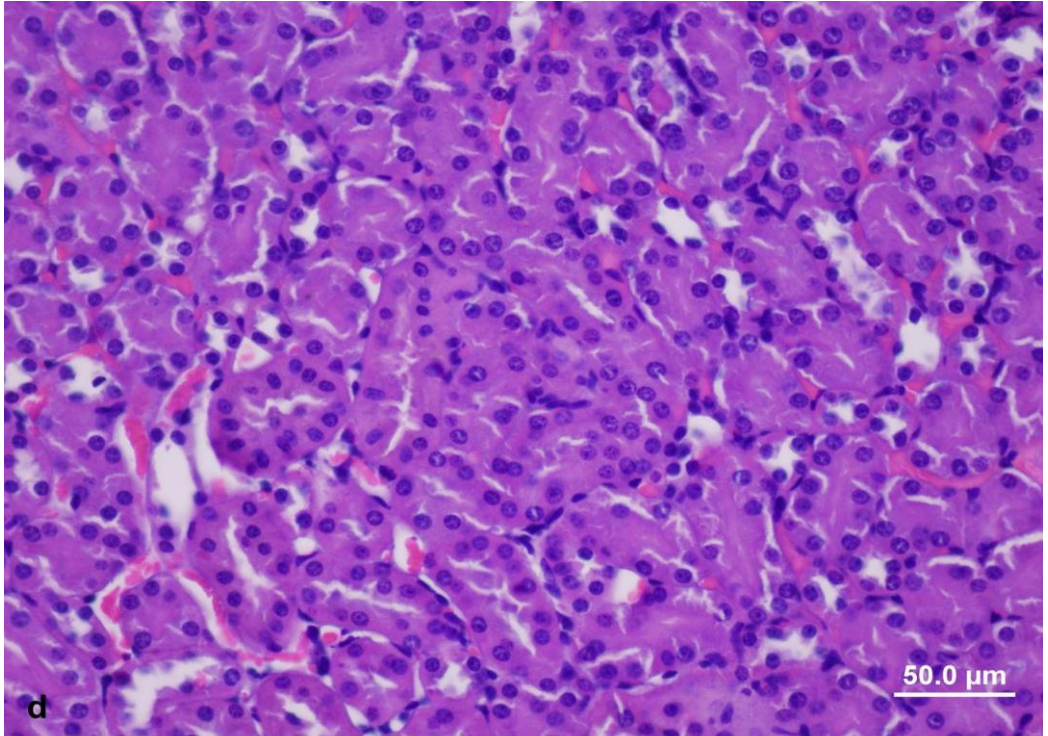
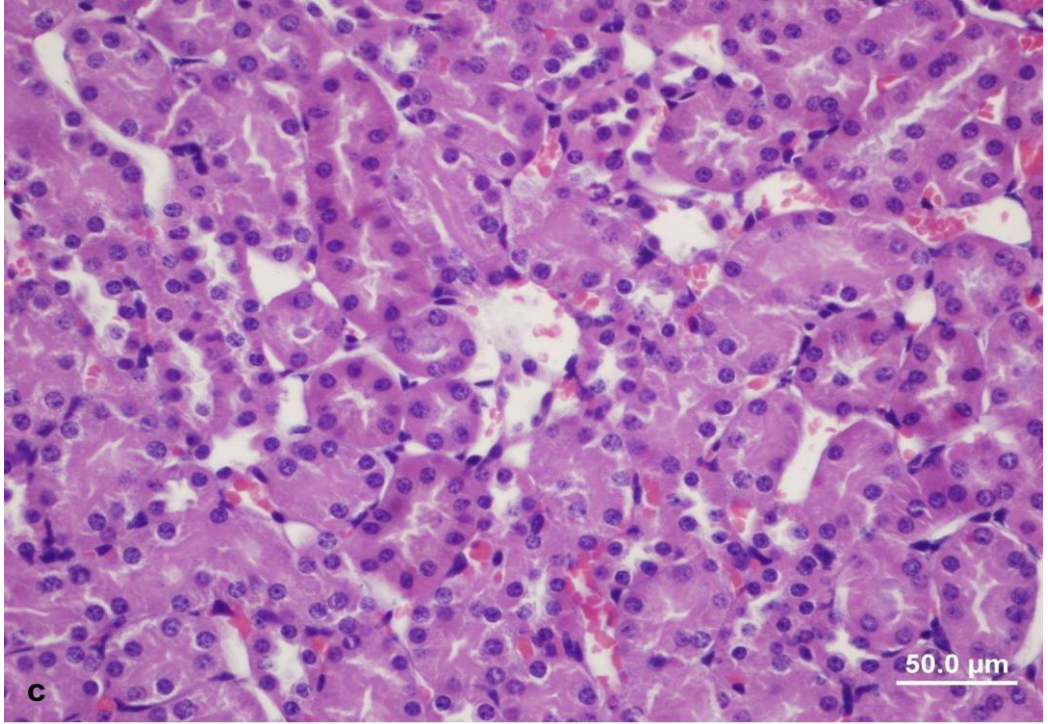
Şekil 27: Silymarin grubu (HE): 100 mg/kg Silymarin verilmiş fare böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. a,b. (bar: 100 µm) (bar: 20 µm).



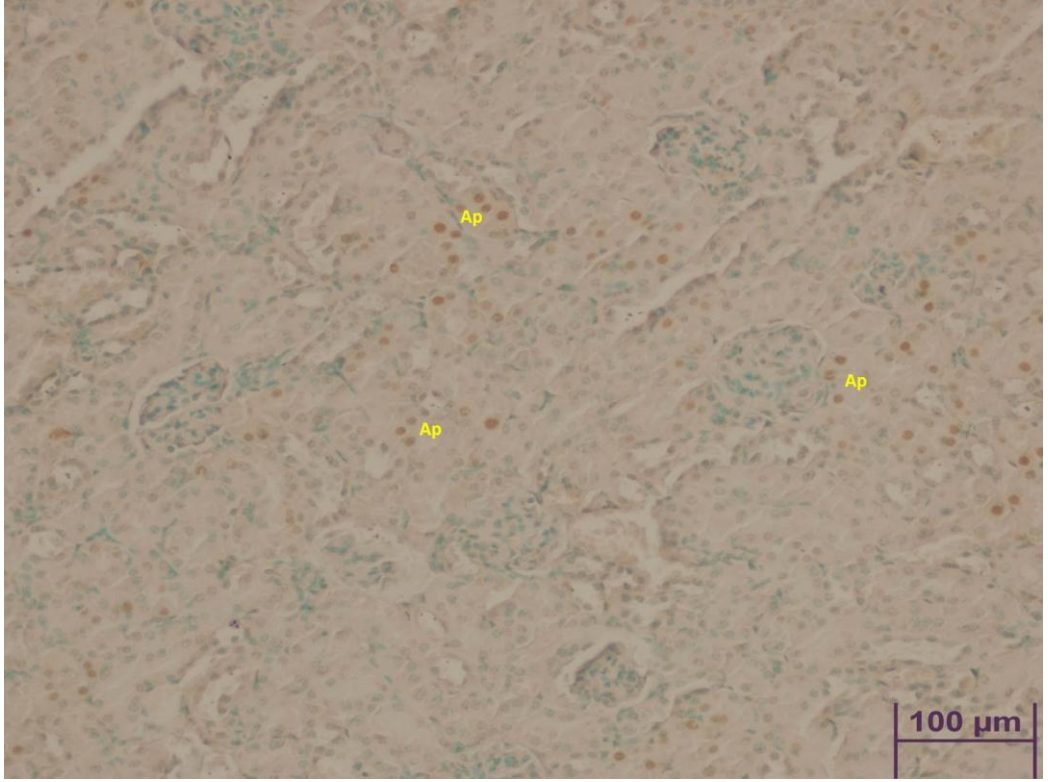
Şekil 28: Silymarin grubu (TUNEL boyaması): 100 mg/kg Silymarin uygulanmış fare böbreklerinde negatif reaksiyon (bar:50 µm).



Şekil 29: Parasetemol+Silymarin grubu (HE): 0.8 cc SF uygulanmış fare böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. a, b (bar: 20 µm).



Şekil 29: Parasetamol+Silymarin grubu (HE): 0.8 cc SF uygulanmış fare böbreklerinin ışık mikroskopik görüntüsü. c, d (bar: 100 µm) (bar: 50 µm)



Şekil 30: Parasetamol+Silymarin grubu (TUNEL boyaması): 0.8 cc SF uygulanmış fare böbreklerinde minimal düzeyde TUNEL pozitif reaksiyon göstermiş apoptotik hücre (Ap) dışında çoğunlukla negatif reaksiyon vermiş böbrek dokusu (bar:100 µm).

5. TARTIŞMA

Parasetamol (Asetaminofen, *N*-acetyl-*p*-aminophenol, APAP), terapötik dozlarda kullanılmak koşuluyla güvenilir bir antipiretik ve analjezik ajandır. Kullanım alanı oldukça geniştir ancak reçetesiz satılmasından dolayı doz aşımının görüldüğü ilaçların başında gelmektedir. APAP kullanımında önerilen günlük maksimum doz insan için 3-4 gr'dır. Doz aşımında ise ciddi hasarlar görülebilmektedir. Tek doz 10-15 gr APAP alımı nefrotoksisiteye, karaciğerde nekroza, 20 gr ve üzeri dozlar ise asidoz, kanama ve koma gibi ciddi tablolara ve hatta ölüme neden olabilmektedir. APAP hasarlarının oluşumunu başlatan en önemli faktörlerden birisi oksidatif strese bağlı ortaya çıkan hasarlardır (9, 22, 45, 47, 49, 71, 81, 111, 123, 182,186).

APAP zehirlenmesi 3 aşamada gelişmektedir. İlk aşama ilaç alımından 12-24 saat sonra gerçekleşmeye başlamaktadır. Kişide mide bulantısı ve kusma belirtileri gözlenir. İkinci aşama boyunca, 24-48 saatleri arasında, kişi kendisini genellikle daha iyi hisseder. Üçüncü aşamada, 48-72 saat sonra, kandaki karaciğer enzimlerinden özellikle ALT ve AST yükselmekte, SOD, GSH ve katalaz seviyeleri ise düşmektedir. Bu nedenle APAP'ın karaciğerde oluşturduğu hasarda ALT ve AST analizi, böbrekte BUN, kreatinin ve proteinüri gibi parametreler kullanılmaktadır (189).

Normal dozlarda alınan APAP, glukronik asite bağlanıp herhangi bir toksisite oluşturmadan safra ile atılır. Ancak APAP'ın yüksek dozda alınması durumunda glukronik asitin detoksifikasyonu yetersiz kalmakta ve bu durumda sitokrom p450'nin devreye girmesiyle APAP'ın reaktif metaboliti, NAPQI (N-acetyl-*p*-benzoquinone imine), oluşmaktadır. Oluşan bu NAPQI glutatyona bağlanarak glutatyon seviyesini düşürmekte, mitokondriyon membranı da dahil olmak üzere birçok hücrel proteinlere bağlanması sonucu mitokondriyonlarda fonksiyon bozukluğuna, ROS'un indüklenmesine ve nekrotik hücre ölümüne neden olmaktadır (6, 14, 30, 35, 86,133, 160).

APAP toksisitesi nedeniyle hastaneye başvuran hastaların tedavisinde bu maddenin spesifik antidotu olan NAC (N-asetilsistein) kullanılmaktadır. NAC deney hayvanlarında da benzer etkiyi gösterdiğinden bizim çalışmamızda ayrıca bir APAP+NAC grubu oluşturulmamıştır (52, 156, 171).

Günümüzde üretilen modern farmasötik ilaçların %25'i bitkisel kaynaklıdır. Dolayısıyla çeşitli nedenlerle oluşan hasarların iyileştirilmesinde söz ettiğimiz bitkisel ajanların önemi oldukça fazladır. Bilindiği gibi tıbbi bitkilerin canlı sistemler üzerinde sedatif, analjezik, antipiretik, kardiyoprotektif, antibakteriyel ve antiviral gibi birçok etkisi bulunmaktadır (144).

APAP ile deneysel olarak oluşturulan hasarların önlenmesinde NAC dışında çeşitli antioksidan ajanlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında melatonin, vitamin E, Flumazenil, *Bauhinia racemosa*, *Vernonia amygdalina*, *Wedelia paludosa*, *Rauwolfia serpentina*, *Tamarindus indica*, *Kohautia grandiflora* gibi çok çeşitli bitkiler gösterilebilir. Aynı şekilde böbrek dokusunu APAP toksisitesinden önlemede vitamin C, Zencefil (Hint Safranı-Zingiberaceae familyasından CURCUMA LONGA L.,) gibi çeşitli ajanlar kullanılmaktadır (25, 27, 45, 56, 68, 69, 85, 130, 150, 177).

Bizim çalışmamızda kullandığımız antioksidan madde olan Silymarin ($C_{25}H_{22}O_{10}$), *Silybum marianum* (milk thistle, deve diken) adlı yenilebilir bir bitkiden elde edilen polifenolik bir flavonoid olup çeşitli karaciğer rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılan bitkisel bir maddedir (2, 138). Bu çalışmamızda, APAP'ın neden olduğu karaciğer ve böbrek hasarında Silymarin'in etkileri ışık mikroskopik ve biyokimyasal düzeyde incelenmiştir. Bu amaçla yapılan mikroskopik değerlendirmemizde H&E boyamasını, apoptozisin belirlenmesinde spesifik ve güvenilir bir yöntem olan TUNEL metodunu uyguladık. APAP ile oluşturulan karaciğer hasarında biyokimyasal belirteç olarak ALT ve AST parametrelerine, böbrek hasarı için BUN ve Kreatinin değerlerine bakıldı.

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz APAP'ın karaciğer ve böbrek dokusunda oluşturduğu değişiklikler arasındaki bağlantıya ilişkin olarak yapmış olduğumuz literatür araştırmasında, Mason ve arkadaşları 300 mg/kg, Sabina ve arkadaşları 900 mg/kg, Abraham 1 gr/kg APAP'ı periton içine (i.p.); Rajkapoor ve arkadaşları sıçanlara 3 günde bir 10 gün boyunca 750 mg/kg APAP'ı gastrik sonda yoluyla; Yue-Ying ve arkadaşları ise farelere tek doz 350 mg/kg APAP'ı subkutan yolla farklı dozlarda, farklı tür hayvanlarda, farklı uygulama yollarıyla verilerek yapılmış çalışmaların olduğunu görmekteyiz (3, 7, 45, 74,158).

APAP uyguladığımız farelerin 1 hafta süre içerisinde karaciğer ve böbreklerinde nasıl bir hasar oluştuğunu ve bir diğer grupta APAP uygulamasından 1 saat sonra ve 7 gün boyunca verilen Silymarin'in bu dokularda nasıl bir etki oluşturduğunun incelendiği çalışmamızda, APAP intoksikasyonlarının genellikle ilacın oral alımı sonrası görüldüğünden deney protokolümüzü ülkemizde tablet formunda satışa sunulan 500 mg APAP içeren (Parol, Atabay) tabletleri 0.8 mL SF içinde çözerek oral yolla verilecek şekilde düzenledik (36, 105).

Silymarin ile yapılan deneysel çalışmalarda 16, 25, 100 mg/kg gibi çok farklı dozlar kullanılmaktadır. Ancak en çok tercih edilen doz 100 mg/kg'dır. Bundan dolayı bizde deneyimizde 100 mg/kg dozunu uyguladık ancak yapılmış olanlardan farklı olarak deney süresini 7 gün olarak belirledik (2, 124, 140, 147, 158, 165).

Toksikolojik çalışmalarda ışık-elektron mikroskopik değerlendirmelerin yanı sıra özellikle karaciğer ve böbrek fonksiyon testlerinin önemi çoktur. APAP çalışmalarında da özellikle üzerinde en çok durulan biyokimya parametreleri AST, ALT'nin yanı sıra SOD, GSH, Katalaz, NO, Kreatinin ve paraoksonaz düzeyleridir (4, 42, 80, 113, 185).

Karaciğer enzimleri karaciğer hücreleri (*hepatositler*) tarafından üretilerek depo edilir ve karaciğerde herhangi bir hasarın olması durumunda yine bu hücrelerden kana salınan bu enzimler aminotransferazlar olarak isimlendirilmektedir. Bunlara örnek

olarak Aspartat aminotransferaz (AST – SGOT) ve alanin aminotransferaz'ı (ALT – SGPT) verebiliriz (19, 80).

Memelilerde sitoplazma, mitokondri ve ekstrasellüler matrikste yer alan Super oksit dismutaz (SOD) ise süper oksit anyonlarını temizleyerek bu radikaller tarafından oluşturulan toksik etkiyi azaltan enzimatik bir antioksidandır (29, 107).

Katalaz (CAT) da enzimatik bir antioksidan olup karaciğerde yüksek aktivite göstermektedir. Hidrojen peroksidi ayrıştırarak hücreyi yüksek reaktif hidroksil radikallerden korumaktadır (62, 107).

Glutasyon (GSH), karaciğerde en çok bulunan tripeptitlerdendir. Hidrojen peroksit ve superoksit radikalleri gibi serbest radikalleri kaldırmaktadır. Ayrıca GSH, glutasyon peroksidaz (GPx) için bir substrattır. APAP uygulanmış sıçanlarda artan lipit peroksidasyon, azalan GSH seviyesiyle bağlantılıdır (82, 103, 104, 114, 153).

Nitrik oksit (NO) düz kas, endotel hücresi ve diğer birçok memeli hücresinde L-arjinin aminoasidinin guanido nitrojeninin nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla oksitlenmesi sonucu sentez edilir. NO'nun lipit peroksidasyonunun kontrolünde dolayısıyla APAP toksisitesi mekanizmasında rol oynadığı görülmektedir. Nitekim APAP uygulaması sonrasında, uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enziminin etkinliğinde ve serum nitrik oksit seviyelerinde artış meydana geldiği çeşitli çalışmalarda gözlenmiştir (58, 70, 77).

Böbrek fonksiyonlarının ölçülmesinde kullanılan BUN ve kreatinin düzeyleri, ilaçların toksik etkileri, böbrek hastalıkları gibi durumlarda teşhis amaçlı kullanılan parametrelerdendir (190).

Karaciğer ve böbrek yetmezliğinde gelişen septik şokun çeşitli semptomlarının ve hatta ölüme yol açabilen sitokinlerin salınımının, üç Paraoksonaz (PON) türünden biri olan PON 1 tarafından önlendiği düşünülmektedir. Ayrıca Tip 1 Diabetes mellitus ve

kronik renal yetmezliği olan hastalarda PON 1 aktivitelerinin düştüğü bildirilmektedir (16, 119, 146).

Karaciğerde ve böbrekte toksik etki yapan ilaçların kullanımında (izoniyazid, ketokanazol gibi), akut viral hepatitte (Hepatit A ve Hepatit B), kardiyovasküler kollaps durumlarında (ki bu durumda karaciğere gelen kan akımı azalacak ve karaciğer hücrelerinin beslenmesi bozulacaktır) yaygın hepatik nekroza ve böbrek yetmezliğine kadar giden bir dizi olguda karaciğer ve böbrek hücreleri hasar görmekte, kandaki AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeylerinin artmasına neden olmaktadır (80).

Yaptığımız literatür taramasında APAP ile doz ve süreye bağlı olarak ALT-AST düzeylerinin incelendiği çalışmalar ön plandadır. Govind ve arkadaşlarının çalışmasında köpeklere intragastrik yolla 250 mg/kg APAP uygulanmasından 48 saat sonra alınan kanlarda, Yuan ve arkadaşlarının 300 mg/kg APAP uyguladıktan 24 saat sonra alınan kan örneklerinde, Sabina ve arkadaşlarının 900 mg/kg APAP verdikleri farelerin 24 saat sonraki kan ölçümlerinde ve Hemabaraty ve arkadaşlarının sıçanlara 3 g/kg APAP uyguladıkları çalışmalarında ALT ve AST değerlerinde belirgin bir artış gözlemlenmiştir (63, 75, 158, 193).

Bizim çalışmamızda da 500 mg/kg APAP verilen farelerin ALT, AST değerlerinde belirgin bir yükselme olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Ayrıca APAP uygulanmasından sonra 1 hafta geçmesine rağmen ALT ve AST düzeyleri kontrole göre hala yüksek olup istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Bu değerlerimize bakarak APAP'ın oluşturduğu toksisitenin 1 hafta sonra hala devam ettiğini, bir anlamda organizmanın toksik ajanlara karşı gösterdiği özellikle vücudun kendine ait doğal antioksidan savunma sistemlerinin henüz yeterli etkiyi gösteremediğini düşündürmekteydi.

APAP grubunda ortaya çıkan hasarlar mikroskopik olarak incelendiğinde ise karaciğer hücrelerinde şişme, membranlarında bozukluk ve sitoplazmalarındaki eozinofilik granüllerin artışıyla karakterize nekrotik hücreler, nekrotik hücrelerin ortaya

çıkmasının bir sonucu olan mononükleer hücre infiltrasyonu, karaciğere özgü kordon yapısındaki bozulmanın yanı sıra, v. sentralislerde ve sinüzoidlerde gerçekleşen dilatasyon en belirgin değişikliklerdir.

APAP ile ilgili oluşan hasarı önlemeye yönelik birçok farklı çalışma yapılmaktadır. Payasi ve arkadaşlarının APAP'ın dişi ve erkek sıçanlarda farklı dozlarda (16.6 mg/kg, 33.6 mg/kg, 66.6 mg/kg) 28 gün boyunca etkisini inceledikleri çalışmalarında farklı cinsiyetteki deneklerin arasında histolojik ve biyokimyasal değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamamışlardır (148).

Muthulingam ve arkadaşları 3 g/kg APAP verdikleri sıçanlara 250 ve 500 mg/kg *Indigofera tinctoria* (IT) uygulamışlar ve kontrol grubuyla kıyaslandığında APAP grubundaki deneklerin vücut ağırlıkları azalırken, karaciğer ağırlıklarının arttığını görmüşlerdir. APAP + 250 mg/kg IT ve APAP + 500 mg/kg IT gruplarındaki hayvanlarda ise vücut ağırlıkları artarken, karaciğer ağırlıkları azalmıştır. Çalışmalarında histolojik değişimler incelendiğinde APAP grubundaki deneklerde vakuolizasyon, nekroz, sinüzoidal dilatasyon ve hidropik dejenerasyonun sonucu hücre sınırlarının kaybolduğu gözlenirken; 250 ve 500 mg/kg IT uygulanan gruplardaki deneklerde çok daha az oranda santral venin etrafında vakuolizasyon ve nekroz gözlenmiştir. Sadece 500 mg/kg IT uygulanan gruplarda ise karaciğer histolojik yapısının kontrol grubuna benzer şekilde olduğu görülmüştür (139).

Garba ve arkadaşlarının oral yolla uyguladıkları 300 mg/kg *Kohautia grandiflora* (KG) ekstreğinin 500 mg/kg APAP ile indüklenmiş hepatotoksisite üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmalarında, KG uygulanan gruplardaki hayvanların ağırlığında bir değişim gözlenmezken APAP + KG grubundaki deneklerde kilo kaybı görülmüştür. KG'nin karaciğer koruyucu etkisinin, APAP toksisitesine karşın mikrozomal enzimlerden kaynaklanan serbest radikalleri süpürücü özelliğinin olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür (56).

Olaleye ve arkadaşlarının *Alchornea cordifolia* (AC) (200-500 mg/kg)'nın, E vitamininin (100 mg/kg) ve zerdeçalın (100 mg/kg) APAP (2 g/kg) toksisitesi üzerindeki koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmalarında yalnızca APAP uygulanan grupta infiltrasyon, nekrotik odaklar, kordon yapısında bozulmalar gözlenirken, APAP + 200 mg/kg AC uygulanan grupta bir miktar infiltrasyon ve vakuol oluşumu gözlenmiş, diğer tüm grupların histolojik açıdan kontrol grubuna benzediği görülmüştür (144).

Anbarasu ve arkadaşları 3 günde bir 750 mg/kg APAP'ın yanı sıra antioksidan olarak *Pisonia aculeata*'yı farklı dozlarda (250 mg/kg ve 500 mg/kg) 21 gün uyguladıkları çalışmalarında benzer histolojik bozukluklar görmüşlerdir (7).

Kaynaklardaki verilere dayanarak, APAP'ın 750 mg/kg, 1, 2 ve 3 g/kg dozlarının uygulamasında benzer hasarların oluştuğu ancak şiddetlerinin farklı olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda 500 mg/kg APAP uyguladığımız farelerin karaciğer dokularındaki özellikle damar dilatasyonu, hücre infiltrasyonu ve nekrozu kaynaklarla uyumlu en tipik hasarlar olarak değerlendirdik.

Apoptozis, APAP toksisitesine bağlı DNA fragmentasyonundan sonra ortaya çıkan bir diğer bozukluktur. APAP ile yapılan çalışmalarda hücrede endoplazmik retikulumun yanı sıra mitokondriyonun etkilendiği görülmektedir. APAP veya benzeri toksik maddeler organizmada oksidatif strese neden olmaktadır. Parasetamol metabolizmasında görülen NAPQI mitokondriyonların membranlarının da dahil olduğu hücresel proteinlere bağlandığından mitokondriyonlarda fonksiyon bozukluğuna, ROS'un indüklenmesine ve sonunda da nekrotik hücre ölümüne kadar giden tablolar oluşmaktadır (67, 87, 97).

Hücre ölümü genellikle nekroz ve apoptozis olarak 2 tipte görülmektedir. Onkotik nekrozis, hücre yüzey membranının hasarlanması sonucunda oluşan hücre ölümüdür. Nekroz oluşumundan sonra, hücre içeriği ekstrasellüler matrikse bırakılmakta ve bu

durum hepatic makrofajlar ve dolaşımdaki lökositlerin neden olduğu güçlü bir inflamatuvar yanıtı indüklemektedir. Apoptozis, hücre yüzeyindeki hasardan ziyade çekirdek fragmentasyonu ve kromatin yoğunlaşmasıyla karakterizedir. Nekrozun aksine apoptozis, inflamatuvar yanıtı ve hücre içeriğinin ekstrasellüler boşluğa sızmasını azaltır ve inflamasyon gözlenmez. Bizim çalışmamızda da APAP uyguladığımız grup karaciğerlerinde nekrotik odaklarla birlikte gördüğümüz hücre infiltrasyonu bunu doğrular nitelikteydi (102).

Marotta ve arkadaşlarının APAP'ın toksik (1.5 g/kg) ve sub-toksik (150 mg/kg) dozlarına karşı DTS'nin (150 mg/kg) koruyucu etkisini inceledikleri çalışmalarında APAP uygulanan gruplarda kalsiyum miktarının (Ca^{+2}) ve buna bağlı olarak DNA fragmentasyonunun kontrol grubuna göre artmış olduğunu gözlemişlerdir. DNA fragmentasyonu DTS uygulanan gruplarda ise belirgin olarak azalmıştır (126).

Waters ve arkadaşlarının APAP toksisitesinde potansiyel koruyucu olarak rol oynayan bir aminoasit olan Taurin ile yaptıkları çalışmalarında, 800 mg/kg APAP verilen sıçanlarda ALT, AST seviyelerinde artışın yanı sıra DNA fragmentasyonu ve nekroz tespit etmişlerdir. Taurin APAP'tan 12 saat önce, APAP'la birlikte, APAP'tan 1 ve 2 saat sonra uyguladıklarında ise histolojik hasarın önemli derecede azaldığını, ALT-AST değerlerinin de kontrol grubuna yakın hale geldiğini belirlemişler ve Taurin'in APAP hepatotoksitesinde profilaktik ve terapötik etkisi olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Marotta ve Waters'ın yaptıkları çalışmalarda APAP uygulaması ile oluşan apoptozis, artan DNA fragmentasyonunun yanı sıra nükleus büzüşmesi ile karakterizedir. Apoptozisin oluşum basamaklarında endoplazmik retikulumdan salınan Ca^{+2} 'un mitokondriyadaki düzeyinin arttığı ve bunun da mitokondriyal apoptotik yolu tetiklediği ileri sürülmektedir (122, 186).

Bizim yaptığımız çalışmada da 500 mg/kg APAP uygulaması sonucunda görülen nekrotik odaklar dışında özellikle v. sentralis'in etrafında TUNEL boyamasıyla gösterdiğimiz apoptotik hücrelerin varlığı, APAP'ın toksik etkisiyle gelişen DNA

fragmantasyonunu, dolayısıyla apoptozisi de indüklediğini, bir anlamda APAP'ın 2 farklı hücre ölümüne neden olabildiğini düşündürdü.

Polifenolik bir flavonoid olan ve yüksek bir antioksidan özelliğe sahip olan Silymarin, diğer flavonoidler gibi güçlü bir serbest radikal süpürücüsüdür. Detoksifikasyon sistemini indüklemesinin yanı sıra APAP toksisitesinin engellenmesinde rolü olan düşmüş glutatyon seviyesini artırır. Toksikiteyi önleyen bir diğer rolü ise sitokrom p450'yi inhibe etmesidir. Ayrıca yaptığımız literatür taramasında pek çok maddenin neden olduğu karaciğer toksisitesinde görülen apoptotik hücrelerin oluşumunun Silymarin ile engellendiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (54, 92, 108, 152, 162).

Madani ve arkadaşları bu amaçla yaptıkları çalışmada 50 mg/kg Thioasetamid'in karaciğerde oluşturduğu apoptozisin 25 mg/kg Silymarin ile azaldığını belirlemişlerdir (120).

Toksik ajan örneklerinden biri olan mikotoksin çeşidi Fumonisin B₁'in(FB₁), TNF- α gibi çeşitli sitokinleri eksprese ederek apoptotik süreci başlattığı görülmüştür. Silymarin ise TNF- α , interferon (IFN) γ , interleukin (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-8 gibi sitokinlerinin üretilmesinin yanı sıra kaspas ve nükleer faktör (NF- κ B) aktivitesini baskılayan bir etki yapmaktadır. Bu amaçla Fumonisin B₁ (2.25 mg/kg)'in karaciğerde oluşturduğu apoptozisin 750 mg/kg Silymarin ile engellenebildiği gösterilmiştir (73, 122).

Patel ve arkadaşları iyi bilinen bir kardiyotoksin olan Doksorubisin'in (Dox) (60 mg/kg) karaciğerde de toksik etki yarattığını belirtmişlerdir. Bunu önlemek amacıyla kullandıkları Silymarin (16 mg/kg) ise, Dox'un neden olduğu serbest radikal salınımı sonucu azalan oksidatif stres, Bd-xL gibi apoptotik sinyal proteinlerinin ekspresyonunu azaltmaktadır. Böylece Dox'un indüklediği apoptoz ve nekrozdan kaynaklanan hücre ölümünün Silymarin ile önlenebileceği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da 500

mg/kg APAP'ın hepatositlerde apoptozise neden olduğu ancak APAP+Silymarin grubunda apoptozisin büyük oranda engellendiği gözlenmiştir (147).

Yapılan kanser araştırmalarında, Silymarin'in sağlıklı hücelere göre kanser hüceleri üzerinde farklı etkileri olabileceği ve Silymarin'in kanserli hücelerde apoptozis oluşturduğu yönünde çalışmalar bulunmaktadır. Silymarin'in olası antikanser mekanizması; hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi, anjiyogenezisin azaltılması, hücre döngüsü düzenleyicilerinin blokajı ve hücre döngüsü inhibitörlerinin ekspresyonunun artırılmasının sonucu olarak apoptozisin gerçekteşmesi şeklinde sıralanabilmektedir (37, 94, 154).

Ramakrishnan ve arkadaşlarının, 50 µg/ml- 200 µg/ml arasında Silymarin uygulanmış HepG2 karaciğer kanseri hücre serilerinde yaptıkları çalışmalarında, uygulamadan 24 saat sonra floresan mikroskopunda uygulanan doza paralel olarak apoptotik hücelerin sayıca arttıkları görülmüştür. Bu çalışmada Silymarin, azalan DNA içeriği ve G₁ fazında bulunan apoptotik ölüm oranının artmasına neden olmuştur. Silymarin ayrıca mitokondriyal transmembran potansiyelini azaltmış, anti-apoptotik proteinlerin (Bcl-2 ve survivin) ve proliferasyonla ilişkili olan proteinlerin (β-katenin, siklin D1, c-Myc ve PCNA) azalmasına neden olmuştur. Verilere göre Silymarin, kültürdeki hepatik kanser hüceleri HepG2'lerin proliferasyonunu inhibe etmekte ve aynı zamanda apoptozisi indüklemektedir (154).

Parasetamol karaciğerde metabolize olduktan sonra böbrekler aracılığı ile atılmaktadır. Bu nedenle yüksek dozda uygulanan parasetamolün karaciğerin yanı sıra böbrekte de hasar oluşturduğu bilinmektedir. Çekmen ve arkadaşları bu amaçla 1000 mg/kg APAP vererek böbrek hasarı oluşturdukları deneylerinde 200 mg/kg zerdeçalın (CMN) etkilerini incelediklerinde BUN ve kreatinin değerlerinin APAP grubunda kontrole kıyasla yükselirken APAP+ CMN grubunda ise bu değerlerin kontrol grubundaki değerlere yaklaştığını gözlemişlerdir. APAP uygulanan grubun ışık mikroskopik incelemesinde tübül epitelinde dejenerasyon, vakualizasyon, hücre dökülmeleri (deskuamasyon) ve özellikle proksimal tübül hasarı izlenmiş, kortikal

intersitisyel damar konjesyonu sadece APAP grubunda görülmüştür. APAP + CMN grubunda ise hafif derecede tübüler dejenerasyon ve proksimal tübülde epitel vakuolizasyonu gözlenirse de, hücre dökülmeleri minimum derecede olup glomerüllerin yapısının kontrol grubuna benzer özellikte olduğu belirtilmiştir (27).

Lucas ve arkadaşlarının Riboz sisteminin (RibCys) böbrek hasarındaki koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmalarında, APAP uygulanan grupta koagulatif proksimal tübüler nekroz, karyoreksis ve piknotik çekirdek gibi oluşumlar gözlenirken, belirteç olarak kullanılan BUN değerinin kontrol grubuna kıyasla APAP grubunda arttığı görülmüştür. RibCys uygulanan gruplarda ise nekrotik bulgulara rastlanılmamıştır. Yapılan çalışmalarda hücre içi GSH miktarı ve kovalent bağlanma ile toksisite oluşumu arasında bir bağ olduğu ileri sürülmektedir. RibCys'nin GSH sentezini tetiklemesi ve APAP'ın toksik metaboliti olan NAPQI'nın GSH'a kovalent bağ ile bağlanarak NAPQI'nın böbrekte bulunan hücrel proteinlere bağlanmasını engellediğinden toksisiteyi önlediği belirtilmektedir (116).

Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu (oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve konjugasyon) böbrek proksimal tübüllerinde gerçekleşmektedir. Buna bağlı olarak proksimal tübül hücrelerinde oluşan bir hasarın kreatinin ve BUN seviyelerini değiştirebileceği bilinmektedir. Bizim çalışmamızda da APAP uyguladığımız grupta gelişen böbrek hasarı kaynaklara uyumlu olarak BUN ve Kreatinin seviyesini yükselttiğini, bunun yanı sıra Silymarin uygulamasının ise yükselen bu değerlerin kontrol grubuna yakın değerlere düşürdüğünü gördük.

Gebelerde APAP 'ın etkisini araştırmak amacıyla Ucheya ve arkadaşları tarafından düzenlenen çalışmada, 5 gebe sıçana günde 7.3 mg/kg APAP gestasyonun 10. ile 13. günleri arasında gavaj yolu ile uygulanmıştır. APAP uygulanan 5 sıçandan 2'si normal bir gebelik ve doğum yaşarken, diğer 3 sıçanda uzamış gebelik süresi ve gestasyonun sonunda kanama gözlenmiştir. Kanamadan 1 gün sonra da sıçanlar ölmüştür. Yaşayan gebe sıçanların böbrekleri incelendiğinde, glomerulus çapında azalma ve genişlemiş bowman boşluğu belirlenirken, gestasyon süresi 44. güne ulaşmış

sıçanlarda ise, gebelik sürecinde kanama, sayıca azalan glomerüller yanında tübüllerde vakuolizasyon, vasküler konjesyon, hemoraji ve tübüler nekroz gözlenmiştir. Çalışmamızda da APAP grubunda genişlemiş Bowman boşluğunun yanı sıra APAP grubundaki farelerin ağırlıklarının kontrole göre azalmış olduğunu ve APAP'ın gebe olmayan deneklerde de benzer hasar oluşturduğunu gördük (83).

APAP'ın erkek ve dişi cinslerde nasıl bir etki yaptığını görmek amacıyla Lamas ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, dişi ve erkek sıçanların bulunduğu farklı gruplara 500 mg/kg APAP, % 8'lik etanol ve % 1'lik aseton uygulamışlar, erkek sıçanlarda gözlenen nekrotik tübül sayısının dişi sıçanlara göre daha fazla ve erkek sıçan böbreklerinin toksisiteye karşı dişi sıçanlara göre daha duyarlı olduklarını göstermişlerdir (109).

Abraham'ın 1 gr/kg dozunda uygulanmış APAP'ın oluşturduğu böbrek toksisitesine farklı dozlarda (250 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg) ve farklı sürelerde (1,5 s, 6 s, 9 s, 16 s) uygulanan vitamin C'nin etkisinin araştırıldığı çalışmasında, APAP uygulanmış sıçanlarda intersitisyel konjesyon ve geniş proksimal tübüler nekroz alanları gözlenirken, APAP + Vitamin C uygulanan gruplardaki bazı deneklerde az da olsa nekrotik alanların görüldüğünü belirlemişlerdir. En iyi koruma APAP uygulanmasından 1.5 s sonra uygulanan vitamin C grubunda olup bu deneklerin % 60'ında nekrotik alan gözlenmemiştir. Çalışmadaki verilere göre APAP sonrası Vitamin C ne kadar geç verilirse koruma etkisi de o kadar az olmaktadır (3).

Böbrek dokusunda Silymarin'in etkilerinin araştırıldığı mikroskopik ve biyokimyasal analizleri içeren pek çok çalışma bulunmaktadır.

Sonnenbichler ve arkadaşlarının APAP, Cis-platin ve Vinkristin'in böbrek dokusu üzerindeki toksik etkisine karşın *Silybum marianum*'un koruyucu etkisini inceledikleri çalışmalarında APAP'ın böbrek hücrelerindeki protein sentezini inhibe ettiğini, *Silybum marianum*'un ise tam tersi olarak proliferasyon oranının ve protein sentezini arttırdığını belirlemişlerdir (176).

Gaedeke ve arkadaşlarının 5 mg/kg Cis-platin kullandıkları çalışmalarında, çekirdek kromatin yoğunlaşması ve yaygın tübüler nekroz gözlenirken, Cis-platin uygulamasından 1 saat önce 200 mg/kg uygulanan Silybin grubunda tübüler nekrozun oluşmadığını belirtmişlerdir (55).

Karimi ve arkadaşlarının histolojik değişikliklerin yanı sıra biyokimyasal analizlerin de incelendiği çalışmalarında, 3 mg/kg Cis-platin uygulanmış deneklerde BUN ile SCr (Serum kreatinin) değerlerinde yükselmenin yanı sıra tübülo- intersitisyel alanda hücre hasarları gözlemişlerdir. 50 mg/kg Silybum marianum'un veya onun 0.6 g/kg metanolik ekstreğinin Cis-platin uygulanmasından 2 saat önce verilen gruplarda biyokimyasal değerlerin ve nefrotoksisitenin tamamen önlendiği gözlenmiştir. Cis-platin uygulamasından 2 saat sonra 50 mg/kg Silybum marianum veya onun 0.6 g/kg metanolik ekstreği ise, SCr ve BUN artışını belirgin derecede önlemiş olmasına rağmen orta şiddetteki hücre hasarının devam ettiği görülmüştür (93).

Abdelmeguid ve arkadaşları 50 mg/kg Silymarin'i bir gruba 5 mg/kg Cis-platin uygulamasından 2 saat önce, diğer bir gruba ise Cis-platin uygulamasından 2 saat sonra vermişler ve Cis-platin uygulanan grubun vücut ağırlıkları düşerken, böbrek ağırlıklarının artmış olduğunu görmüşlerdir. Cis-platin uygulanan grupta glomerüler atrofi, tübüler hücre vakuolizasyonu gözlenirken, Silymarin'in uygulandığı her iki grupta ise böbrek ağırlıkları Cis-platin uygulanan gruba göre düşük bulunmuştur. Karimi ve arkadaşlarının bulgularına benzer bir şekilde Cis-platin toksisitesine karşın Silymarin uygulanan gruplarda toksisitenin engellendiği fakat Cis-platin'den 2 saat sonra Silymarin uygulanan gruplarda hafif şiddette böbrek hasarının devam ettiği gözlenmiştir (1).

El- Shitany ve arkadaşları ise sıçanlara 1 ay boyunca verilen 10 mg/kg Doksorubisin kaynaklı böbrek hasarına 1 hafta önceden başlayarak Doksorubisin ile beraber 50 mg/kg Silymarin vermişler ve Doksorubisin verilen grupta plazma kreatinin fosfokinaz (CPK), LDH (Laktat dehidrogenaz), kreatinin, üre konsantrasyonları artarken, glutatyon seviyesinin düştüğünü görmüşlerdir. Doksorubisin ile beraber

Silymarin uygulanan grupta ise CPK ve LDH seviyeleri düşmüş, GSH seviyesi ise artmıştır. Mikroskopik inceleme yapıldığında ise tübül konjesyon, tübül kast, intersitisyel hemoraji, vasküler tübül dejenerasyon, genişlemiş Bowman aralığı gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da 500 mg/kg APAP'ın böbrekte oluşturduğu vasküler dilatasyon, tübül hasar, Bowman boşluğunda genişleme gibi etkilerinin yanı sıra proksimal tübül lümeninde kast görülürken, APAP'tan 1 saat sonra verilen Silymarin'in kast oluşumunu engellediğini belirledik (46).

Silymarin'in bilinen belirgin bir yan etkisi yoktur. Çalışmamızda sadece Silymarin verilen gruptaki deneklerin böbrek yapıları ve biyokimya değerleri kontrol grubuna eşdeğer çıkmıştır. Ayrıca APAP uygulamasından 1 saat sonra verilen Silymarin hücre koruyucu etkisi nedeniyle, kreatinin ve BUN'un artışı belirgin derecede önlemiş olduğunu gördük.

Nefrotoksik ilaçlardan biri olan Cis-platin'in tübül hücreleri içerisine girmesiyle çekirdek ve mitokondriyal DNA hasarına ve dolayısıyla hücrede apoptozis, nekroz ve inflamatuvar sürecin stimüle edilmesine neden olmaktadır. Cis-platin etkisiyle oluşan hasarda ROS önemli bir rol oynamaktadır. Nefrotoksisitede etkili olan bir diğer temel inflamatuvar faktör de TNF- α 'dır ve üretimi ROS ve NF-kB 'ye bağımlıdır (124).

Silymarin'in apoptozisi engelleme özelliği karaciğerin yanı sıra böbrekte de etkilidir. Ninsontia ve arkadaşları, Cis-platin'in HK-2 proksimal tübül hücre hattında hücresel nekroz ve apoptozise neden olduğunu, Silymarin'in ise (100 μ M-200 μ M) dokuyu bu hasardan koruduğunu ileri sürmektedirler (143, 165).

APAP etkisiyle proksimal tübüllerde oluşan apoptozise Silymarin'in etkisinin incelediği çalışmamızda, 7 gün süreyle uygulanan 100 mg/kg Silymarin'in apoptozisi büyük oranda engellediğini gözlemledik.

Kaynaklarda APAP ile indüklenmiş hücre hasar mekanizmasının halen tartışmalı olduğunu görmekle birlikte, genellikle kabul gören görüş; dokudaki hasarın onkotik

nekroz ile geliştiği yönündedir. Ancak bir diğer görüşe göre APAP kaynaklı karaciğer yetmezliğinde hepatositlerin % 40 ve daha fazlasının apoptozise uğradığı belirlendiğinden, hasarda apoptozisin de aktif rol aldığı düşünülmektedir (15, 57). TUNEL boyaması toksisite çalışmalarında önemli metottur. Bildiğimiz gibi apoptotik hücreler ışık mikroskopta hücre büzülmesi, kromatin kondansasyonu ve apoptotik cisimcikler şeklinde olmaktadır. Ancak onkotik nekrozda ise hücrelerde eozinofilinin artması, hücre şişmesi, karaciğere özgü ışınsal yapının bozulması, lizis, karyolizis, karyoreksis şeklinde olmaktadır.

Parasetamol'ün hasar mekanizmaları için ise bazı teoriler ortaya atılmaktadır. Bunlar arasında en önde gelenlerden bir tanesi oksidatif stres teorisidir ki yüksek doz APAP alımında; NAPQI hücrelerde reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) oluşumuna, bu da lipid peroksidasyonuna neden olduğundan glutatyon eksikliğine, hepatositteki protein sentezinde bozulmaya ve sonuçta da hücre hasarına neden olmaktadır. Bir diğer teori ise kovalent bağlanma teorisi olup APAP'ın yüksek dozda alınması durumunda, karaciğerin detoksifikasyon sistemleri ve ortamdaki bağlayıcı glutatyon düzeyi yetersiz kaldığından, ortamdaki NAPQI hücrede deoksiribonükleik asit (DNA) ve protein thiol gruplarına kovalent bağlanmak suretiyle hepatositlerde hasar ve sonunda da nekroza giden bir tablo oluşmaktadır. Ancak karaciğerde görülen bu hasarda nekrozun dışında apoptozisin de etkin rol aldığı görülmektedir (57).

Apoptozisin ve nekrozisin birbirinden tam olarak bağımsız olduğu söylenemez. Çalışmalarda APAP'ın karaciğerde daha çok nekroz şeklinde hasara neden olduğu belirtilse de bu olayda apoptotik hücre ölümünün rol oynadığı gerçeğini yadsıyamaz. Mikroskopik incelemelerde nekrotik odakların apoptozise göre daha yoğun görülmesi apoptotik hücrelerin fagositoz yoluyla karaciğerden hızlıca elimine edilmesinden kaynaklanmaktadır (67, 87, 97, 102, 167).

Bizim çalışmamızda APAP etkisiyle karaciğerde oluşan hasar ile gelişen nekroz, apoptozis, infiltrasyon ve dilatasyon bulgularımızın kaynaklar ile de uyumlu olduğu görülmüştür. Yukarıda bahsedildiği gibi Parasetamol'ün etki mekanizmasında farklı

hipotezlerin olmasına karşın çalışmamızdaki verilere dayanarak APAP ile oluşan karaciğer hasarında nekrozun apoptotik hücre ölümüne göre daha ön planda olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kullandığımız APAP'ın oluşturduğu hasarı incelediğimiz ikinci doku böbrek dokusudur. Böbreğin APAP toksisitesine karşı çok hassas bir doku olduğunu gördük. Nitekim histolojik bulgularımızda ve biyokimyasal parametrelerde görmüş olduğumuz değerler bunu açıkça ortaya koymaktadır. Histolojik olarak mononükleer hücre infiltrasyonu, genişlemiş Bowman boşluğu ve proksimal tübülde hasar APAP grubunda gözlediğimiz belirgin değişikliklerdendir. Bunun yanı sıra biyokimyasal analizlerle elde edilen yüksek AST, ALT, BUN ve kreatinin seviyeleri çalışmamızın amacına ulaştığını göstermekteydi. Bu çalışmamızda kullandığımız Silymarin, APAP ile bozulan gerek mikroskobik yapı gerekse biyokimyasal tüm parametreleri büyük ölçüde kontrole yakın değerlere gelmesini sağlayabilmiştir. Tüm verilerimiz değerlendirildiğinde kaynaklarla da uyumlu olduğunu gördük.

APAP ile yapılan toksikolojik çalışmalarda kabul edilen genel görüş, hücrede bulunan ve doğal bir antioksidan olan glutatyonun toksik maddenin etkisinden dolayı aşırı azalmasına bağlı olarak hücrenin savunmasız kalması ve bunun sonunda da hasar oluşumunun tetiklendiği kabul edilmektedir (132).

Bilinen bir yan etkisi olmayan Silymarin, akut ve kronik viral hepatit, toksin/ilaç ile oluşturulmuş hepatit, siroz ve alkolik karaciğer hastalığının dahil olduğu birçok karaciğer hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu bitkinin hasar durumundaki ana etki mekanizmasının, karaciğer hücrelerinde hepatotoksinlerin bağlandığı reseptörleri inhibe etmesi, toksik etki nedeniyle düşmüş olan glutatyon seviyesini arttırması, herhangi bir toksik etkiyle artmış olan lipid peroksidasyon seviyesini düşürmesi, rRNA ve protein sentezini sitemüle etmesi, antioksidan özelliği ve dolayısıyla hepatosit rejenerasyonunun arttırması şeklindedir (152, 162, 166, 170, 172, 180, 183).

Bizim araştırmamızda elde edilen mikroskopik ve biyokimyasal sonuçlara göre Silymarin'in APAP'ın neden olduğu hepatotoksisiteye ve nefrotoksisiteye karşı koruyucu bir rol oynadığını ve yüksek doz Parasetamol nedeniyle oluşan zehirlenmelerde alternatif tedavi edici ajan olarak kullanılabilceğini düşünmekteyiz. Öncelikle insan sağlığı alanındaki ilaçların yanlış kullanımı sonucu ortaya çıkan ciddi komplikasyonların önlenebilmesi amacıyla gelecekte yapılacak olan ileri düzey in vitro ve in vivo çalışmalar ile Silymarin'in organizmadaki antioksidan moleküller, antioksidan enzimler gibi toksisiteyi engelleyici araştırmalara olumlu katkı sağlayacağı kanısındaız.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde özellikle Asya'dan Avrupa'ya kadar yayılım gösteren ve özellikle hepatoprotektif etkisi bilinen *Silybum marianum*, serbest radikalleri süpürme, protein sentezini arttırma, hücre içerisindeki glutatyon miktarını arttırma, lipid peroksidasyonu önleme, çekirdek ekspresyonunu düzenleme gibi özelliklerinden dolayı alternatif tıpta çok kullanılmaktadır.

Parasetamol (Asetaminofen, N-asetil-*p*-aminofenol; APAP) ağrı kesici (analjezik) ve ateş düşürücü (antipiretik) etkiye sahip bir ilaçtır. APAP'ın kimyasal adı N-(4-hidroksifenilasetamid) ve moleküler formülü C₈H₉NO₂'dir. Terapötik dozlarda kullanıldığında güvenilir bir ilaç olduğu bilinse de yüksek dozda hepatotoksisiteye ve böbrek hasarına neden olmaktadır.

Bu çalışmada yüksek dozda uygulanmış Parasetamol'ün neden olduğu hepatotoksisiteye ve böbrek toksisitesine karşın Silymarin'in etkisi araştırılmıştır.

Deney süreci sonucunda yapılan istatistiksel analizlere göre;

- Deney hayvanlarının deney başlangıcında ve deney sonunda ölçülen vücut ağırlıklarıyla ilgili olarak Parasetamol grubuna ait farelerin deney sonunda vücut ağırlıklarında deney öncesine göre azalma görüldü. Dolayısıyla toksik dozda uygulanan Parasetamol'ün vücut ağırlığında önemli bir azalmaya sebep olduğu tespit edildi. Parasetamol+Silymarin grubunda ise deney sonunda vücut ağırlığının kontrol grubuna yakın bir değerde olması nedeniyle Silymarin'in Parasetamol'ün neden olduğu ağırlık kaybını önlediği görüldü.

- Kontrol grubu ve Silymarin grubu arasında yapılan karşılaştırmalarda, kontrol grubuna ait farelerin vücut ağırlıkları ile Silymarin deney grubunu oluşturan farelerin deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Kontrol grubuna ait farelerin vücut ağırlıkları ile Parasetamol deney grubunu oluşturan farelerin vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. Ayrıca

kontrol grubu ve Parasetamol+Silymarin deney grubunu oluşturan farelerin vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.

- Kontrol grubunun Kreatinin, BUN, AST ve ALT düzeyleri; Silymarin ve Parasetamol+Silymarin uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ayrıca Parasetamol+Silymarin ve Silymarin uygulanan gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Ancak Parasetamol grubu ile kontrol, Silymarin, Parasetamol+Silymarin grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü.

- Histolojik olarak grupların birbirleri arasında yapılan değerlendirilmesinde ise, Silymarin deney grubuna ait karaciğer ve böbrek dokularının kontrol grubu ile benzer histolojik yapıda olduğu görüldü.

- Parasetamol grubuna ait deneklerin karaciğerlerini incelediğimizde hepatosilerde gözlenen hidropik dejenerasyon sonucunda Remark kordon yapısının bozulduğu, mononükleer hücre infiltrasyonu, v. sentralis ve sinüzodilerde dilatasyon, özellikle portal alan 3. zonda TUNEL yöntemi ile belirlenmiş apoptotik hücrelerin yanı sıra nekrotik hücreler gözlenmiştir.

- Parasetamol grubuna ait deneklerin böbrekleri incelendiğinde proksimal tübül hücrelerinde hasar ve TUNEL yöntemi ile belirlenmiş apoptotik hücreler, Bowman boşluğunda genişleme, mononükleer hücre infiltrasyonu, glomerül kapillerinde hafif şiddette dilatasyon izlenmiştir.

- Parasetamol+Silymarin grubuna ait deneklerin karaciğerlerinde Remark kordon yapısının korunduğu, nekrotik, apoptotik hücre sayısının ve vasküler yapılarda oluşan dilatasyonun büyük oranda önlenildiği belirlenmiştir.

- Parasetamol+Silymarin grubuna ait deneklerin böbreklerinde normal glomerül kapiller yumağı, Bowman boşluğu ve tübül hücreleri izlenmiştir.

- Parasetamol'ün toksisitesi sonucunda oluşan nekrotik ve apoptotik hücrelerin hangi yolla oluştuğı; Silymarin'in toksisiteye karşı koruyucu mekanizması henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Bu nedenle yüksek doz parasetamol zehirlenmesine karşı Silymarin'in klinikte de antidot olarak kullanılabilirliğinin ileri düzeydeki çalışmalarla mümkün olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Abdelmeguid, N.E., Chmaisse, H.N. and Zeinab, N.S.A., 2010, Protective Effect of Silymarin on Cisplatin-induced Nephrotoxicity in Rats, *Pakistan Journal of Nutrition*, 9, 7, 624-636 p.
2. Abenavoli, L., Capasso, R., Milic, N. and Capasso, F., 2010, Review: Milk thistle in liver diseases: Past, present, future, *Phytotherapy Research*, 24, 10, 1423–1432 p.
3. Abraham, P., 2004, Increased plasma biotinidase activity in rats with paracetamol induced acute liver injury, *Clinica Chimica Acta*, 349, 61-65 p.
4. Adıgüzel, K., 2008, Akut parasetamol uygulamasının tavşan karaciğer dokusu üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 47 s., (yayımlanmış)
5. Alberts, B., Jonhson., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., 2002, Hücrenin Moleküler Biyolojisi, (Buyru, N., Dalay, N., Özgüç, M. Çev Edit) 4. Baskı. Garland Science Taylor and Francis Group, USA.
6. Allen, A.L., 2003The diagnosis of acetaminophen toxicosis in a cat, *Can Vet J*, 44, 6, 509–510 p.
7. Anbarasu, C., Raj Kapoor, B. and Kalpana, J., 2011, Protective effect of *Pisonia aculeata* on paracetamol induced hepatotoxicity in rats, *Test Journal*, 1, 3, 167–172 p.
8. Aniya, Y., Yokamakura, T., Yonamine, M., Nagamine, T., Nakanishi, H., 1998, Protective effect of the mold *monascus anka* against acetaminophen-induced liver toxicity in rats, *Jpn J Pharmacol*, 78, 79-82 p.
9. Anundi, I., Lahteenmaki, T., Rundgren, M., Moldeus, P., Lindros, K.O., 1993, Zonation of acetaminophen metabolism and cytochrome P450 2E1-mediated toxicity studied in isolated periportal and perivenous hepatocytes, *Biochem Pharmacol*, 45, 6, 1251-1259 p.
10. Arıncı, K. ve Elhan, A., 2001, *Anatomi 1. Cilt*, Güneş Kitapevi, Ankara, 390 s.
11. Atalık, K.E. ve Doğan, N., 1997, Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri, *Genel Tıp Dergisi*, 7(3):167-9.
12. Atamer, Y., Koçyiğit, Y., Atamer, A., Mete, N., Canoruç, N., 2000, Significance of lipid peroxides, glutathione and antiperoxidative enzymes in ethanol and acetaminophen toxicity in the rat, *Türk J Gastroenterol*, 11, 1, 54-60 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

13. Baeg, N.J., Bodenheimer, H.C. Jr, Burchard, K., 1988, Long-term sequelae of acetaminophen-associated fulminant hepatic failure: Relevance of early histology. *Am. J. Gastroenterol*, 83, 569–571 p.
14. Baer-Dubowska W., Szafer H, Krajczakuzniak V., 1998, Inhibition of murine hepatic cytochrome P450 activities by natural and synthetic phenolic compounds *Xenobiotica*, 28, 735–743 p.
15. Bartolone, J.B., Birge, R.B., Sparks, K., Cohen, S.D., Khairallah, E.A., 1988, İmmünochemical analysis of acetaminophen covalent binding to proteins. Partial characterization of the major acetaminophen-binding liver proteins, *Biochem Pharmacol*, 37, 4763-4774 p.
16. Başkol, G. ve Köse, K., 2004, Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi, *Erciyes Tıp Dergisi*, 26, 2, 75-80 p.
17. Bayramoğlu, G., 2007, Sıçanlarda siklofosfamid ile oluşturulmuş oksidatif strese karşı silimarinin olası koruyucu etkileri, *Doktora Tezi, ESOGÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü*, 6-7 s. (yayımlanmış)
18. Beales, D., Hue, D.P., McLean, A.E., 1985, Lipid peroxidation, protein synthesis and protection by calcium EDTA in paracetamol injury to isolated hepatocytes, *Biochen Pharm*, 34, 1, 19-23 p.
19. Bedirli, A., Sozüer, E.M., Muhtaroğlu, S., Alper, M., 2000, The role of oxygen free radicals and nitric oxide in organ injury following hemorrhagic shock and reinfusion, *Int J Surg Investig*, 2, 4, 275-284 p.
20. Bisset, N., 1994, *Herbal Drugs and Pharmaceuticals*, CRC Press: London, 121-123 p.
21. Blumenthal, M., Busse, W., 1998, *The complete german commission E monographs: Therapeutic guide to herbal medicines*, American botanical council and integrative medicine communications, Austin, TX, 685– 698 p.
22. Bond, G.R., Requa, R.K., Krenzelok, E.P., 1993, Influence of time until emesis on efficacy of decontamination using acetaminophen as a marker in a pediatric population, *Ann Emerg Med*, 22, 1403- 1407 p.
23. Botting, R.M., 2000, Mechanism of action of acetaminophen: Is there a cyclooxygenase-3?, *Clin Infect Dis*, 31, 202-210 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

24. Boutis, K., Shannon, M., 2001, Nephrotoxicity after acute severe acetaminophen poisoning in adolescents, *J Toxicol Clin Toxicol*, 39, 5, 441-445 p.
25. Bozođluer, E., 2009, Ratlarda oluşturulan parasetamol hepatotoksitesisi üzerine Flumazenil'in terapotik etkinliğinin araştırılması, Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakóltesi, 64 s. (yayımlanmış)
26. Campose R., Garrido A., Guerra R. at Velenzuela.A., 1989, Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver, *Plant Med*, 55, 417-419 p.
27. Cekmen, M., Ilbey, Y.O., Ozbek, E., Simsek, A., Somay, A., Ersoz, C., 2009, Curcumin prevents oxidative renal damage induced by acetaminophen in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1480-1484 p.
28. Chlopóvkova A, Psotova J, Miketova P, Šimánek V., 2004, Chemoprotective effect of plant phenolics against anthracycline-induced toxicity on rat cardiomyocytes. Part I. Silymarin and its flavonolignans. *Phytother Res*, 18:107-110 p.
29. Chularojmontri, L., Wattanapitayakul, S., Herunsalee, K., 2005, Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus Urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity, *Biol. Pharm. Bull*, 28, 1165-1171 p.
30. Cohen, S.D., Hoivik, D.J. and Khairallah, E.A., 1998, Acetaminophen-induced hepatotoxicity in: *Toxicology of the Liver*, Philadelphia: Taylor & Francis, 159-186 p.
31. Cohen, S.D., Khairallah, E.A., 1997, Selective protein arylation and acetaminophen-induced hepatotoxicity, *Drug Metab Rev*, 29, 59– 577 p.
32. Corcoran, G.B., Racz. W.J., Smith, C.V., Mitchell, J., 1985, Effects of N-acetylcysteine on acetaminophen covalent binding and hepatic necrosis in mice, *J Pharmacol Exp Ther*, 232, 864-872 p.
33. Cortas N.K., Wakid N.W., 1990, Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method, *Clin Chem*, Aug, 36(8 Pt 1), 1440- 1443 p.
34. Çavuşoğlu, S., 2000, Paraquat'ın Nefrotoksik etkisine asetaminofenin katkısının sıçanlarda enzimüri ile izlenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 136 s. (yayımlanmış)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

35. Dahlin, D.C., Miwa, G.T., Lu, A.Y., Nelson, S.D., 1984, N-acetyl-p-benzoquinone imine: A cytochrome P-450-mediated oxidation product of acetaminophen, Proc Natl Acad Sci USA, 81, 1327-1331 p.
36. Dargan, P.I., Jones, A.L., 2003, Management of paracetamol poisoning, Trends Pharmacol Sci, 24, 54-57 p.
37. Davis-Searles PR, Nakanishi Y, Kim NC, Graf TN, Oberlies NH, Wani MC, Wall ME, Agarwal R, Kroll DJ., 2005, Milk thistle and prostate cancer: differential effects of pure flavonolignans from *Silybum marianum* on antiproliferative end points in human prostate carcinoma cells. Cancer Res., 15, 65, 10, 4448- 44457 p.
38. De Groot, H., Rauen, U., 1998, Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effect of flavonoids, Fundam. Clin. Pharmacol., 12, 3, 249-255 p.
39. Deák, G., Müzes, G., Láng, I., Niederland, V., Nékám, K., Gonzalez-Cabello, R., Gergely, P., Fehér, J., 1990, İmmünmodulator effect of silymarin therapy in chronic alcoholic liver diseases, Orv. Hetil, 131, 24, 1291-1292, 1295-1296 p.
40. Desplaces A, Choppin J, Vogel G., 1975, The effects of silymarin on experimental phalloidine poisoning. Arzneimittelforschung,25, 89-96 p.
41. Dixit, N., Baboota S., Kohli, K., Ahmad, S., Ali J., 2007, Silymarin: A review of pharmacological aspects and bioavailability enhancement approaches, Indian J. Pharmmacol, 39, 4, 172-179 p.
42. Donnely, P.J., Walker, R.M., Racz, W.J., 1994, Inhibition of mitochondrial respiration in vivo is an early event in acetaminophen-induced hepatotoxicity, Arch Toxicol, 68, 110-118 p.
43. Eckardt, K.U., Renal failure in liver disease, 1999, Intensive Care Med, 25, 1, 5-14 p.
44. Eckerson H.W., Romson, J., Wyte, C.M., La Du, B.N., 1983, Human serum paraoxanase polymorphsim: identification of phenotypes by their responses to salts, Am J Hum Genet, 35, 214-227 p.
45. El-Ridi M.R., Rahmy, T.R., 2000, Action of vitamin C against acetaminophen-induced hepatorenal toxicity in rats, J Toxicol-Toxin Reviews, 19, 3&4, 275-304 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

46. El-Shitany, N.A., El-Haggar, S., El-desoky, K., 2008, Silymarin prevents adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2422–2428 p.
47. Fairhurst, S., Barber, D.J., Clark, B., Horton, A.A., 1982, Studies on paracetamol-induced lipid peroxidation, *Toxicology*, 23, 2-3, 249-259 p.
48. Farber, J.L., Gerson, R.J., 1984, Mechanism of cell injury with hepatotoxic chemicals, *Pharmacol Rev*, 36, 2, 71-75 p.
49. Farrel S.E, 2002, Acetaminophen toxicity, *eMedicine Journal*, 3, 1.
50. Favari, L. and Perez-Alvarez, V., 1997, Comparative effects of colchicines and silymarin on carbon tetrachloride chronic liver damage in rats., *Arch Med Res*, 28, 11- 17 p.
51. Ferenci, P., Dragosics, B., Dittrich, H., Frank, H., Bendal, L., Lochs, H., 1989, Randomized controlled trials of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver, *J Hepatol*, 9, 105-113 p.
52. Flanagan, R.J., Meredith, 1991, T.J., Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology, *Am J Med*, 91, 131-139 p.
53. Flora, K., Huhn, M., Rosen, H., Benner, K., 1998, Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease, *Am J Gastroenterol*, 93, 139–143 p.
54. Fraschini, F., Demartini, G., and Esposti, D. 2002, Pharmacology of Silymarin, *Clin Drug Invest* 22,1, 51-65 p.
55. Gaedeke, J., Fels, L.M., Bokemeyer, C., Mengs, U., Stolte, H., Lentzen, H., 1996, Cisplatin nephrotoxicity and protection by silibinin, *Nephrol Dial Transplant*, 11, 55-62 p.
56. Garba, S.H., Sambo, N. and Bala, U., 2009, The effect of the aqueous extract of *Kohautia grandiflora* on paracetamol induced liver damage in albino rats, *Nigerian Journal of Physiological Sciences* 24, 1, 17 –23 p.
57. Gardner, C.R., Heck, D.E., Yang, C.S., Thomas, P.E., Zhang, X.J., DeGeorge, G.L., Laskin, J.D., Laskin, D.L., 1998, Role of nitric oxide in acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat, *Hepatology*, 27, 3, 748-754 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

58. Gardner, C.R., Laskin, J.D., Dambach, D.M., Sacco, M., Durham, S.K., Bruno, M.K., Cohen, S.D., Gordon, M.K., Gerecke, D.R., Zhou, P., Laskin, D.L., 2002, Reduced hepatotoxicity of acetaminophen in mice lacking inducible nitric oxide synthase: Potential role of tumor necrosis factor and interleukin-10, *Toxicol Appl Pharmacol*, 184, 27-36 p.
59. Gerson, R.J., Casini, A., Gilfor, D., Serroni, A., Farber, J.L., 1985, Oxygen-mediated cell injury in the killing of cultured hepatocytes by acetaminophen, *Biochem Biophys Res Commun*, 126, 3, 1129-1137 p.
60. Ghosh, A., Ghosh, T., Jain, S., 2010, Silymarin-A review on the pharmacodynamics and bioavailability enhancement approaches, *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2, 10, 348-355 p.
61. Goodman, L.S., 1980, *The Pharmacological basis of therapeutics*, 4. baskı, Macmillan publishing co., USA, 701-705 p.
62. Goth, L., 1991, A simple method for determination of serum katalase activity and revision of reference range, *Clinica Chimica Acta* 196, 143-152, p.
63. Govind, P., 2010, Protective action of livol against paracetamol induced hepatotoxicity, *International research journal of pharmacy*, 1, 1, 171-174 p.
64. Graham, G.G., Scott, K.F., Day R.O., 2005, Tolerability of Paracetamol., *Drug Safety*, 28, 3, 227-240 p.
65. Gruenwald, J., Brendler, T., Jaenicke, C., 1998, *PDR for Herbal Medicines*: Medical Economics Company, Inc: Montvale NJ, 1138-1141 p.
66. Grypioti, A.D., Theocharis, S.E., Papadimas, G.K., 2005, Platelet-activating factor (PAF) involvement in acetaminophen-induced liver toxicity and regeneration, *Arch Toxicol*, 79, 466-474 p.
67. Gujral, J.S., Knight, T.R., Farhood, A., 2002, Mode of cell death after acetaminophen overdose in mice: Apoptosis or oncotic necrosis?, *Toxicol. Sci.*, 67, 322-328 p.
68. Gupta, A.K., Chitme, H., Dass, S.K. and M., Neelam, 2010, Hepatoprotective activity of *Rauwolfia serpentina* Rhizome in paracetamol intoxicated rats, *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 5, 7, 431-437 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

69. Gupta, M., Mazumder, U. K., Kumar, T.S., Gomathi, P. and Kumar, R.S., 2004, Antioxidant and Hepatoprotective Effects of Bauhinia racemosa against Paracetamol and Carbon tetrachloride induced liver damage in rats, Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics, 3,12-20 p.
70. Harbrecht, B.G., Di Silvio, M., Chough, V., Kim, Y.M., Simmons, R.L., Billiar, T.R., 1997, Glutathione regulates nitric oxide synthase in cultured hepatocytes, Ann Surg January, 225, 1, 76–87 p.
71. Hartley, V., 2002, Paracetamol overdose., Emerg Nurse, 10, 17-24 p.
72. Hau D.K., Wong R.S., Cheng, G.Y., Wong, W., Tong, S., Chan, Kit, K., Leung, A.K., Zhu, G., Lai, P.B., Lau, F., Chui, C., Gambari, R., Fong, D.W., 2010, Novel Use of Silymarin as Delayed Therapy for Acetaminophen-Induced Acute Hepatic Injury, Forsch Komplementmed,17, 209–213 p.
73. He, Q., Kim, J. and Sharma, R.P., 2004, Silymarin Protects Against Liver Damage in BALB/c Mice Exposed to Fumonisin B1 Despite Increasing Accumulation of Free Sphingoid Bases, Toxicological Sciences, 80 , 2, 335-342 p.
74. He., Y., Zhang, B., Jia, F., 2011, Protective effects of 2,4-dihydroxybenzophenone against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice, 17, 21, 2663-2666 p.
75. Hemabarathy, B., Balkis, S., Feizal, V., 2009, Paracetamol hepatotoxicity in rats treated with crude extract of Alpinia galanga, Journal of Biological Sciences, 9, 1, 57-62 p.
76. Hernandez-Palazon, J., MD, PhD, Tortosa, J.A, MD, PhD, Martinez-Lage, J.F., MD, Perez-Flores, D., MD, PhD., 2001, Intravenous administration of propacetamol reduces morphine consumption after spinal fusion surgery, Anesth Analg, 92, 1473-1476 p.
77. Hinson, J.A., Pike, S.L., Pumford, N.R., Mayeux, P.R., 1998, Nitrotyrosine-protein adducts in hepatic centrilobular areas following toxic doses of acetaminophen in mice, Chem Res Toxicol, 11, 6, 604-607 p.
78. Hinson., J.A., Roberts D.W. at James L.P., 2010, Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis, Handb Exp Pharmacol., 196, 369–405 p.
79. Hodgson, P.D., Renton, K.W., 1995, The role of nitric oxide generation in interferon - evoked cytochrome P450 down-regulation, Int J İmmünopharmacol, 17, 995-1000 p.
80. <http://saglikdanisma.net/web/karaciger-enzimleri/>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

81. <http://www.lef.org/books-media/dispreport.html>. Acetaminophen Poisoning.
82. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf>
83. Igweh, J.C., Ucheya, R.H., 2006, Histological changes in kidney structure following a long – term administration of paracetamol (acetaminophen) in pregnant sprague dawley rats, Nigerian Journal of Physiological Sciences 2, 1-2, 77-81 p.
84. Ioannides, C., Steele, C.M., Parke, D.V., 1983, Species variation in the metabolic activation of paracetamol to toxic intermediates: Role of Cyt P450 and P448, Toxicol Lett, 16,2-1, 55-61 p.
85. Iwalokun, B.A., Efedede, B.U., Alabi-Sofunde, J.A., Oduala, T., Magbagbeola, O.A., Akinwande, A.I., 2006, Hepatoprotective and antioxidant activities of vernonia amygdalina on acetaminophen-induced hepatic damage in mice, J Med Food, 9, 524-530 p.
86. Jaeschke, H., 1990, Glutathione disulfide formation and oxidant stress during acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice in vivo: The protective effect of allopurinol, J Pharmacol Exp Ther, 255, 935-941 p.
87. Jaeschke, H., Lemasters, J.J., 2003, Apoptosis versus oncotic necrosis in hepatic ischemia/reperfusion injury, Gastroenterology , 125, 1246–1257 p.
88. James, L.P., Mayeux, P.R. and Hinson, J.A., 2003, Acetaminophen-induced hepatotoxicity, Drug metabolism and disposition, 31, 12, 1499-1506 p.
89. Jaya, D.S., Augstine, J., Menon, V.P., 1993, Role of lipid peroxides, glutathione and antiperoxidative enzymes in alcohol and drug toxicity, Indian J Exp Biol, 31, 453-459 p.
90. Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2006, Temel Histoloji, (Çev.: Aytakin, Y., Solakoğlu, S.,) 10. Baskıdan çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
91. Kangralkar, V.A., Patil, S.D., Bandivadekar, R.M., Nandagaon, V.S., Burli, S.C., 2010, Hepatoprotective activity of feronia elephantum fruit extract against paracetamol induced hepatic damage in wistar rats, International Journal of Pharmaceutical Applications, 1, 1, 46-49 p.
92. Karamolla, A., 1991, Akut viral hepatit vakalarında (legalon) Silymarin kullanımı, Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Hastanesi, 46 s. (yayımlanmış)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

93. Karimi, G., Ramezani, M. and Tahoonian, Z., 2005, Cisplatin nephrotoxicity and protection by Milk thistle extract in rats, *eCAM*, 2, 3, 383–386 p.
94. Katiyar, S.K., Korman, N.J., Mukhtar, H., 1997, Protective effects of silymarin against photocarcinogenesis in a mouse skin model, *J. Natl. Cancer Inst.*, 89, 556-566 p.
95. Katzung, B.G., *Temel ve Klinik Farmakoloji*, Cilt 2, 1995, (Çev.: Prof. Dr. Özüner, Z.), Barış Kitabevi, İstanbul.
96. Kayaalp, O., 2002, Non-steroid antiinflatuar ilaçlar rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, *Hacettepe Taş Kitapçılık*, Ankara, 973-974 s.
97. Kerr, J.F.R., Wyllie, A.H., Currie, A.R., 1972, Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics, *Br. J. Cancer*, 26, 4, 239-257 p.
98. Kierszenbaum, A.L., 2006, *Histoloji ve hücre biyolojisi*, (Çev.: Demir R.), Palme yayıncılık, Ankara, 459-467 s.
99. Kittisupamangkol, W., 2009, Liver Injury From Diclofenac or Acetaminophen?, *Am J Gastroenterol* (Epub ahead of print).
100. Kock, H. P., Bachner J. and Loffler, E., 1985, Silymarin: potent inhibitor of cyclic AMP Phosphodiesterase, *Methods Find Exp Clin pharmacol*, 7, 409-413 p.
101. Koçak, A., 2008, Değişik dozlardaki APAP'ın karaciğer nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimi üzerindeki etkisinin immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak değerlendirilmesi, *Doktora Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 77 s. (yayımlanmış)
102. Kon, K. , Ikejima, K., Okumura, K., Aoyama, T., Arai, K., Takei, Y., Lemasters, J.J. and Sato, N., 2007, Role of apoptosis in acetaminophen hepatotoxicity, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22, 1, 49-52 p.
103. Kondala, R.A., John, J.M., Leonard, A.H., 2007, N-Acetylcysteine a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency, *Current Opinion in Pharmacology*, 7, 355–359 p.
104. Konukoğlu, D., Akçay, T., 1995, Glutasyon metabolizması ve klinik önemi, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 15, 214-218 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

105. Kozer, E., Koren, G., 2001, Management of paracetamol overdose: current controversies, *Drug Saf*, 24, 503-512 p.
106. Kummer, V., Maskova, J., Zraly, Z., Neca, J., Machala, M., 2001 Estrogenic effects of Silymarin in ovariectomized rats, *Vet. Med. Czech.*, 46, 1, 17-23 p.
107. Küçük, E., 2009, Parasetamol toksisitesi ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda Caffeic Acid Phenethyl Ester'in Tedavi Edici Etkisi, *Tıpta Uzmanlık Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi*, 99 s. (yayımlanmış)
108. Kvasnincka, F., Biba, B., Sevcik, M., Oldrich, M., Kratka, J., 2003, Analysis of the active components of Silymarin, *Journal of Chromatography A*, 990, 239-245 p.
109. Llamas, J., Martinez, Ma, C., Jaramillo-Juárez, F., Muñoz-Femández, L., Bustos, L., Reyes, J.L., 1998, Increase in the renal damage induced by Paracetamol in rats exposed to ethanol translactationally, *Biol Neonate*, 74, 5, 385-392 p.
110. Laskin, J.D., Heck, D.E., Gardner, C.R., Laskin, D.L., 2001, Prooxidant and antioxidant functions of nitric oxide in liver toxicity, *Antioxid Redox Signal*, 3, 261-271 p.
111. Lauterburg, B.L., Corcoran, G.B., Mitchell, J.R., 1983, Mechanism of action of N-Acetylcysteine in the protection against the hepatotoxicity of acetaminophen in rats in vivo, *J Clin Invest*, 71, 4, 980-991 p.
112. Lettéron, P., Labbe, G., Degott, C., 1990, Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice, *Biochem Pharmacol* 39, 2027-2034 p.
113. Lim, A.Y.L., Segarra, I., Chakravarthi, S., Akram, S., Judson, J.P., 2010, Histopathology and biochemistry analysis of the interaction between sunitinib and paracetamol in mice, 10, 14.
114. Lima, E.S, Roland, I.A., Maroja, M.F., 2007, Vitamin A and lipid peroxidation in patients with different forms of leprosy, *Rev Inst. Med.*, 49, 211-214 p.
115. Loh, C.S., Ponampalam, R., 2006, Nephrotoxicity associated with acute paracetamol overdose: a case report and review of the literature, *Hong Kong Journal of Emergency Medicine*, 13, 105-110 p.
116. Lucas, A.M., Hennig, G., Dominick, P.K., Whiteley, H.E., Roberts, J.C. and Cohen, S.D., 2000, Ribose Cysteine protects against Acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity, *Toxicologic Pathology*, 28, 5, 697-704 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

117. Luper, S., 1998, A review of plants used in the treatment of liver disease: Part 1, *Alter Med Nev*, 3, 410-421 p.
118. Mach, M.A., Hermanns-Clausen, M., Koch, I., Hengstler, J.G., Lauterbach, M., Kaes, J., 2005, Experiences of a poison center network with renal insufficiency in acetaminophen overdose: an analysis of 17 cases, *Clin Toxicol (Phila)*, 43, 1, 31-37 p.
119. Mackness, M.I., Harty, D., Bhatnagar, D., 1991, Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus, *Atherosclerosis*, 86, 193-199 p.
120. Madani, H., Talebolhosseini, M., Asgary, S. and Naderi, G.H., 2008, Hepatoprotective activity of *Silybum marianum* and *Cichorium intybus* against Thioacetamide in Rat, *Pakistan Journal of Nutrition*, 7, 1, 172-176 p.
121. Magliulo, E., Carosi, P.G., Minoli L., 1973, Studies on the regenerative capacity of the liver in rats subjected to partial hepatectomy and treated with silymarin, *Arzneimittelforschung*, 23, 161- 167 p.
122. Manna, S.K., Mukhopadhyay, A., Van, N.T., 1999, Silymarin suppresses TNF-induced activation of NF- κ B, c-Jun N-terminal kinase and apoptosis, *J. Immunol* 163, 6800-6809.
123. Manov, I., Hirsh, M., Iancu, T.C., 2002, Acetaminophen hepatotoxicity and mechanisms of its protection by N-acetylcysteine: a study of Hep3B cells, *Exp Toxicol Pathol*, 53, 6, 489-500 p.
124. Mansour, H.H., Hafez, H.F. and Mohamed, F.N., 2006, Silymarin modulates cisplatin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats, *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 39, 6, 656-661 p.
125. Mark R.S., O'brien P.J., 2000, Fully-automated spectrophotometric method for measurement of antioxidant activity of catalase, *Clinical Biochemistry*, 33, 525-534 p.
126. Marotta, F., Yadav, H., Gumaste, U., Helmy, A., Jain, S., Minelli, E., 2009, Protective effect of a phytochemical on oxidative stress and DNA fragmentation against paracetamol-induced liver damage, *Annals of Hepatology*, 8, 1, 50-56 p.
127. Martindale The Extra Pharmacopoenia 189, 1613 s.
128. Masson, M.J., Collins, L.A., Carpenter, L.D., Graf, M.L., Ryan, P.M., Bourdi, M. and Pohl, L.R., 2010, Pathologic role of stressed-induced glucocorticoids in drug-induced liver injury in mice, *Biochem Biophys Res Commun*, 397, 3, 453-458 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

129. McMurtry, R.J., Snodgrass, W.R., Mitchell, J.R., 1978, Renal necrosis, glutathione depletion and covalent binding after acetaminophen, *Toxicol Appl Pharmacol*, 46, 1, 87-100 p.
130. Meotti, F.C., Rosa, J.M., Brocardo, S.P., Balz, D., Waltrick, A.P., Bagio, A., Goulart, E.C., Dafre, A.L., Rodrigues, A.L.S. and Santos, A.R.S., 2005, Protective effect of crude extract from *Wedelia paludosa* (Asteraceae) on the hepatotoxicity induced by paracetamol in mice, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58, 137-142 p.
131. Mira, L., Silva, M. at Manso, C.F., 1994, Scavenging of reactive oxygen species by silibinin Dihemisuccinate, *Biochem Pharmacol*, 48, 753-759 p.
132. Mirochnitchenko, O., Lefkowitz, M.W., Reuhl, K., Chen, L., Yang, C., Inouye, M., 1999, Acetaminophen toxicity. Opposite effects of two forms of glutathione peroxidase, *J Biol Chem*, 274, 15, 10349-10355 p.
133. Mitchell, J., Jollow, D., Potter, W., Gillette, J., Brodie, B., 1973, Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione., *J Pharmacol Exp Ther*, 187, 211-217 p.
134. Mitchell, J.R., McMurtry, R.J., Statham, C.N., Nelson, S.D., 1977, Molecular basis for several drug-induced nephropathies., *Am J Med*, 62, 4, 518-526 p.
135. Moncada, S., Higgs, A., 1991, The L-arginine-nitric oxide pathway., *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 17, 3, 1-9 p.
136. Moore, K.L., Persaud, T.V.N., Klinik yönleriyle insan embriyolojisi, 2009, (Çev: Dalçık, H., Yıldırım, M.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
137. Mourelle M, Muriel P, Favari L, Franco T., 1989, Prevention of carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis by silymarin, *Fundam Clin Pharmacol*, 3, 183-191 p.
138. Muriel, P., Mourelle, M., 1990, Prevention by silymarin of membrane alterations in acute carbon tetrachloride liver damage, *J Appl Toxicol*, 10, 275-279 p.
139. Muthulingam, M., Mohandoss, P., Indra, N., Sethupathy, S., 2010, Antihepatotoxic efficacy of *Indigofera tinctoria* (Linn.) on paracetamol induced liver damage in rats, *Int J Pharm Biomed Res*, 1, 1, 13-18 p.
140. Najafzadeh, H., Rezaie, A., Masoodi, A.M. and Mehrzadi, S., 2011, Comparison of the effect of vanadium and deferoxamine on acetaminophen toxicity in rats, *Indian J Pharmacol*, 43, 4, 429-432 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

141. Nazarerth, W.M.A., Sethi, J.K., McLeam, A.E., 1991, Effect of paracetamol on mitochondrial membrane function in rat liver slices, *Bichem Pharmacol*, 42, 4, 931-936 p.
142. Nelson, S.D., 1990, Molecular mechanisms of hepatotoxicity caused by acetaminophen, *Semin Liver Dis*, 10, 267-278 p.
143. Ninsontia, C., Pongjit, K., Chaotham, C., Chanvorachote, P., 2011, Silymarin selectively protects human renal cells from cisplatin-induced cell death, *Pharm Biol.*, 49, 10, 1082-1090 p.
144. Olaleye, M.T., Adegboye, O.O. and Akindahunsi, A.A., 2006, Alchornea cordifolia extract protects wistar albino rats against acetaminophen-induced liver damage, *African Journal of Biotechnology*, 5, 24, 2439-2445 p.
145. Ovale, W.K., Nahirney, P.C., Netter temel histoloji, 2009, (Çev: Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla, P.), Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
146. Paragh, G., Asztalos, L.K., Seres, I., 1999, Serum paraoxonase activity changes in uremic and kidney-transplanted patients, *Nephron*, 83, 126-131 p.
147. Patel, N., Joseph, C., Corcoran, G.B., Ray, S.D., 2010, Silymarin modulates doxorubicin-induced oxidative stress, Bcl-xL and p53 expression while preventing apoptotic and necrotic cell death in the liver, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 245, 143–152 p.
148. Payasi, A., Chaudhary, M., Singh, B.M., Gupta, A., Sehgal, R., 2010, Sub-Acute Toxicity Studies of Paracetamol Infusion in Albino Wistar Rats, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 2, 2, 142-145 p.
149. Pepping J. Milk thistle: *Silybum marianum*, 1999, *Am J Health Syst Pharm*, 56, 1195-1197 p.
150. Pimple, B.P., Kadam, P.V. , Badgujar, N.S., Bafna, A.R. , Patil, M.J. , 2007, Protective effect of Tamarindus indica linn against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats, *Indian Journal of Pharmaceutical sciences*, 69, 6, 827-831 p.
151. Potter, W.Z., Davis, D.C., Mitchell, J.R., Jollow, D.J., Gillette, J.R., Brodie, B.B., 1973, Acetaminophen-induced hepatic necrosis, III. Cytocrome P-450-mediated covalent binding in vitro, *J Pharmacol Exp Ther*, 187, 203-210 p.
152. Pradhan, S.C. and Girish, C., 2006, Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine, *Indian J Med Res*, 124, 491-504 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

153. Raj Kapoor, B., Venugopal, Y., Anbu, J., Harikrishnan, N., Gobinath, M. and Ravichandran, V., 2008, Protective effect of *Phyllanthus polyphyllus* on acetaminophen induced hepatotoxicity in rats, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 21, 1, 57-62 p.
154. Ramakrishnan, G., Lo Muzio, L., Elinos-Báez, C.M., Jagan, S., Augustine, T.A., Kamaraj, S., Anandakumar, P. and Devaki, T., 2009, Silymarin inhibited proliferation and induced apoptosis in hepatic cancer cells, *Cell Prolif.*, 42, 229-240 p.
155. Roberts, J.C., Francetic, D.J., 1991, Time course for the elevation of glutathione in numerous organs of L1210-bearing C1 DF mice given the L-cysteine prodrug, RibCys, *Toxicol Lett*, 59, 245-251 p.
156. Rolband, G.C., Marcuard, S.P., 1991, Cimetidine in the treatment of acetaminophen overdose, *J Clin Gastroenterol*, 13, 79-82 p.
157. Ross, I.A., 2004, Medicinal plants of the world. chemical constituents, traditional and modern medicinal uses, Humana Press, New Jersey.
158. Sabina, E.P., Pragasam, S.J., Kumar, S., Rasool, M., 2011, 6- Gingerol, an active ingredient of ginger, protects acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice, *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 9, 11, 1264-1269 p.
159. Sadler, T.W., *Langman Medikal Embriyoloji*, 2005, 9. baskı, 292- 293 p.
160. Sakaida, I., Kayano, K., Wasaki, S., Nagatomi, A., Matsumura, Y., Okita, K., 1995, Protection against acetaminophen-induced liver injury in vivo by an iron chelator, deferoxamine, *Scand J Gastroenterol*, 30, 61-67 p.
161. Saliou, C., Rihn, B., Cillard, J., 1998, Selective inhibition of NF-kB activation by the flavonoid hepatoprotector silymarin in HepG2. Evidence for different activating pathways, *FEBS Lett* 440, 8-12 p.
162. Saller, R., Meier, R., Brignoli, R., 2001, The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*, 61, 2035-2063 p.
163. Sancak, B., Cumhuri, M., *Fonksiyonel Anatomi Baş, boyun ve iç organlar*, 3. Baskı.
164. Sapmaz, M., 2004, Asetaminofen ile oluşturulan karaciğer hasarları üzerine (-)-epikateşin etkisinin ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 62 s. (yayımlanmış)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

165. Shahbazi, F., Dashti-Khavidaki, S., Khalili, H., Lessan-Pezeshki, M., 2012, Potential renoprotective Effects of Silymarin Against Nephrotoxic Drugs: A Review of Literature, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 15, 1, 112-123 p.
166. Shaker, E., Mahmoud, H., Mnaa, S., 2010, Silymarin, the antioxidant component and *Silybum marianum* extracts prevent liver damage, *Food and Chemical Toxicology* 48, 803–806 p.
167. Shinagawa, T., Yoshioka, K., Kakumu, S., 1991, Apoptosis in cultured rat hepatocytes: the effects of tumour necrosis factor- α and interferon- γ , *J Pathol*, 165, 247-253 p.
168. Shotorbani Azarmir, S., 2006, 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, 73 s. (yayımlanmış)
169. Siegers, C.P., Schütt, A., 1979, Dose-dependent biliary and renal excretion of paracetamol in the rat, *Pharmacology*, 18, 175-179 p.
170. Simanek, V., Walterova, D., Vicar, J., Urbanikova, J., Kren, V., Modrianski, M., Skottova, N., Ulrichova, J., 2001, "Silymarin", extract from the milk thistle (*Silybum marianum*) – medicine or a nutraceuticals?, *Ceska a Slovenska Farmacie* 50, 66–69, p.
171. Simmons, D.L., Botting, R.M., Hla, T., 2004, Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev*, 56, 3, 387-437 p.
172. Skottova, N., Kreeman, V., 1998, Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug, *Physiol. Res.*, 47, 1-7 p.
173. Slattery, J.T., Wilsom, J.M., Kalthorn, T.F., Nelson, S.D., 1987, Dose-dependent pharmacokinetics of acetaminophen: evidence of glutathione depletion in humans, *Clin Pharmacol Ther*, 41, 4, 413-418 p.
174. Smith, G.S., Nadig, D.E., Kokoska, E.R., Solomon, H., Tiniakos, D.G., Miller, T.A., 1998, Role of neutrophils in hepatotoxicity induced by oral acetaminophen administration in rats, *J Surg Res*, 80, 2, 252-258 p.
175. Solakoğlu, Z., 2009, Apoptoz varlığı ya da yokluğu bir hastalık nedeni, *Klinik Gelişim*, 22, 3, 20-25 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

176. Sonnenbichler, J., Zetl, I., 1986, Biochemical effects of the flavonolignane silibinin on RNA, protein and DNA synthesis in rat livers. In: V Cody, E. Middleton, J.B. Harborne, (eds), Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationship, Alan R Liss Inc., New York, 319-331 p.
177. Şener, G., Şehirli, A.Ö. and Dülger, G., 2003, Protective effects of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminophen toxicity in mice: a comparative study, 35, 61-68 p.
178. Şentürk, H., 2008, Renal iskemi-Reperfüzyonu Sırasında Sıçan Böbreğinde Oluşan Oksidatif Stres Hasarına Silimarin ve Likopen Etkisi, Doktora Tezi, ESOGÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, 93s.
179. Tarloff, J.B., Goldstein, R.S., Morgan, D.G. at Hook, J.B., 1989, Acetaminophen and p-aminophenol nephrotoxicity in aging male Sprague-Dawley and Fischer 344 rats, 12, 1, 78-91 p.
180. Thakur, S.K., 2002, Silymarin-A hepatoprotective agent, Gastroenterol Today, 6, 78-82 p.
181. Therapeutic products program (Health Canada) Drug product database. Available from: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpd-dgps/therapeut/htmleng/dpd.html>.
182. Tran, A., 2001, Protective effect of etiripentol on acetaminophen induced hepatotoxicity in rat, Toxicol Appl Pharmacol, 170, 145-152 p.
183. Valenzuela, A., Aspillaga, M., Vial, S., 1989, Selectivity of silymarin on the increase of the glutathione content in different tissues of the rat, Planta Med, 55, 420-422 p.
184. Walker, N.I., Harmon, B.V., Gobe, G.C., Kerr, J.F.R., 1988, Patterns of cell death, Methods Achiev Exp Pathol, 13, 18-32 p.
185. Wang, E.J., Li, Y., Lin, M., 1996, Protective effects of garlic and related organosulfur compounds on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice, Toxicol Appl Pharmacol, 136, 146-154 p.
186. Waters, E., Wang, J.H., Redmond, H.P., Wu, Q.D., Kay, E., Hayers, D.B., 2001, Role of Taurine in preventing acetaminophen-induced hepatic injury in the rat, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 280, 1274-1279 p.
187. Wink, D.A., Miranda, K.M., Espey, M.C., Pluta, R.M., Hewett, S.J., 2001, Mechanism of the antioxidant effects of nitric oxide, Antioxid Redox Signal, 3, 203-213 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

188. Wiseman, H., 1996, Dietary influences on membrane function: Importance in protection against oxidative damage and disease, *J Nutr Biochem* 7, 2-5 p.
189. www.hcvadvocate.org The Liver: Acetaminophen and your liver
190. Wyss, M., Kaddurah-Daouk, R., 2000, Creatine and Creatinine Metabolism, *Physiological Reviews*, 80, 3, 1107-1213 p.
191. Yıldırım, M., 2007, Peroperatif intravenöz parasetamol infüzyonunun erken postoperatif ağrı ve derlenme özelliklerinin değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 41 s. (yayımlanmış)
192. Younes, M., Siegers, C.P., 1985, The role of iron in the paracetamol- and- CCl₄- induced lipid peroxidation and hepatotoxicity, *Cehm-Biol Interactions*, 55, 327-334 p.
193. Yuan, H., Jin, G. and Piao, G., 2009, Protective Effects of the Active Part of *Artemisia sacrorum* Ledeb. against Acetaminophen-Induced Liver Injury in Mice, *Bioll. Pharm. Bull.*, 32, 10, 1683-1688 p.
194. Zaher, H., 1998, Protection against acetaminophen toxicity in CYP 1A2 and CYP 2E1 Double-Null mice, *Toxicol Appl Pharmacol*, 152, 193-199 p.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Nuriye Ezgi BEKTUR

Doğum tarihi ve yeri : 31-10-1987- Ankara

Uyruğu : T.C.

Medeni durumu : Bekar

İletişim adresleri : ezgi.bektur@gmail.com

Eğitim Durumu

2010-2012: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji ABD (Yüksek Lisans-Tez Dönemi)

2009-2010: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji ABD (Yüksek Lisans-Ders Dönemi)

2005-2009 : Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Eğitimi ABD

2001-2005 : Sokullu Mehmet Paşa Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)- Ankara

1993-2001: İzzet Latif Aras İlköğretim Okulu

Yabancı dil : İngilizce

Mesleki deneyim

2010-Devam ediyor: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji ABD, Araştırma Görevlisi

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar

Türk Histoloji-Embriyoloji Derneği

Bilimsel Etkinlikler

XI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 16-19 Mayıs 2012, Denizli

Programlı Hücre Ölümü: Güncel Yaklaşımlar, 28 Aralık 2011, İstanbul

II. Kök Hücre Kursu ve VI. Kök Hücre Sempozyumu, 24-25 Haziran 2011, Ankara

I. Uygulamalı Temel Hücre Kültürü Teknikleri Kursu, 2-4 Şubat 2011, Denizli

ESOGÜ Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 2011, Eskişehir

I. Kök Hücre Kursu ve V. Kök Hücre Sempozyumu, 25-26 Haziran 2010, Ankara