

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİMVASTATİN'İN FARE (*Mus musculus*, L.) KARACİĞERİ ÜZERİNE**  
**ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK YÖNTEMLER İLE**  
**ARAŞTIRILMASI**

**Hasan ASKER**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN**

**ŞUBAT 2012**

**KARS**

**T.C.**

**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİMVASTATİN'İN FARE (*Mus musculus*, L.) KARACİĞERİ ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK YÖNTEMLER İLE ARAŞTIRILMASI**

**Hasan ASKER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**


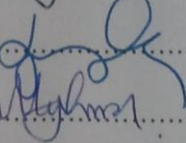
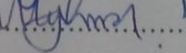
**Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN**

**ŞUBAT 2012**

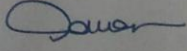
**KARS**

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Hasan ASKER'in Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN'nın danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Simvastatin'in Fare (*Mus musculus*, L.) Karaciğeri Üzerine Etkilerinin Histopatolojik Yöntemler ile Araştırılması" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

03/02/2012

	Adı Soyadı	İmza
Başkan	: Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN	..... 
Üye	: Yrd. Doç. Dr. M. Ali KIRPIK	..... 
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Muhittin YILMAZ	..... 

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ....../....../2012 gün ve ...../..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Doç. Dr. Muzaffer ALKAN  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlandı.

Çalışmada; Simvastatin'in fare (*Mus musculus*) karaciğeri üzerine etkileri histopatolojik yöntemler ile araştırıldı.

Tez konusunun seçiminde, tezin hazırlanmasında ve sonuçlandırılmasında destek ve katkılarını esirgemeyen yönetici danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Yusuf ERSAN'a ve bu süre boyunca desteğiyle hep yanımda olan çalışma arkadaşlarım Dr. Evren KOÇ, Dr. Öğr. Hamit USLU, Arş. Gör. İnan KAYA ve Öğr. Yağmur YILDIZ'a teşekkürler ederim.

Kars – 2012

Hasan ASKER

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>iv</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLOLAR DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Statin Maddeler .....	3
2.2. Simvastatin'in Karaciğer Seçiciliği .....	5
2.3.Karaciğer .....	6
2.3.2.Karaciğer Histolojisi .....	7
2.3.3.Karaciğer Fonksiyonları .....	9
2.4. Çalışmada Kullanılan Statin Maddeler.....	9
2.4.1. Simvastatin.....	9
2.4.2. Yarılanma Ömrü .....	10
<b>3. MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>11</b>
3.1. Hayvan Materyali .....	11
3.2. Deney Düzenegi .....	11
3.3. Histopatolojik İncelemeler .....	11
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>12</b>
4.1. Makroskobik Bulgular .....	12
4.2. Mikroskobik Bulgular .....	12
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	<b>15</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	<b>17</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>20</b>

## ÖZET

Bu çalışmada, oral yolla Simvastatin uygulamasının fare (*Mus musculus L.*) karaciğer dokusu üzerine etkisi histopatolojik yöntemlerle araştırıldı.

Çalışmada rastgele seçilen 20 erkek fare kullanılarak her grupta 10 fare bulunan bir kontrol ve bir deney grubu oluşturuldu. I. gruptaki hayvanlar kontrol grubu olarak belirlendi ve deney süresince normal çeşme suyu içirildi. II. gruptaki hayvanlar simvastatin grubu olarak belirlendi ve 30 gün boyunca oral yolla (içme sularına katılarak) 20 mg/kg simvastatin uygulandı. Deney süresi sonunda kontrol ve deney grubundaki hayvanlar serebral dislokasyon yöntemiyle dekapite edilerek karaciğer numuneleri alındı.

Alınan karaciğer numuneleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Daha sonra rutin histolojik metotlarla parafin bloklar hazırlanarak 3-5 µ kalınlığında kesitler alınıp (Leica SM2000 R) hematoksilin-eozin boyama metoduna göre boyandı. Elde edilen bu preparatlar daha sonra ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi.

Simvastatin uygulanan hayvanların kontrol grubundaki hayvanlara oranla daha az yem ve su tükettiği gözlemlendi. Deneklerden serebral dislokasyon yöntemiyle dekapite edilerek karaciğer numuneleri alındı. Operasyon sırasında simvastatin uygulanan hayvanların genelinde (7/10) abdomenlerindeki periton boşluğu ve bağırsak etrafında yoğun olarak yağ dokusu izlenirken az bir kısmında (3/10) hiç gözlenemedi. Mikroskopik veriler sonucunda yapmış olduğumuz preparatların tümü incelendiğinde kontrol grubundaki hayvanların genel olarak karaciğer dokusunda histopatolojik bir bulgu saptanmadı, hepatositler ve sinozoidal yapının normal görünümde olduğu gözlemlendi. Simvastatin uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokularından elde edilen preparatlarda ise Vena centralisi (Vc) oluşturan damar duvarının tek katlı yassı epiteli normal görünümde olduğu ancak duvarında yıkımlar tespit edildi. Ayrıca V. centralislere yakın konumdaki karaciğer parankimasi içerisinde mononükleer hücre infiltrasyonları (MHI), hepatik hücrelerde fokal nekroz alanları, piknotikleşmiş nükleuslar ve vakuoler dejenerasyonlar gözlemlendi. Ayrıca kupfferin fagositik hücre çekirdekleri de izlenebiliyordu.

**Anahtar kelimeler:** *Mus musculus*, Karaciğer, Simvastatin, Histopatoloji

## ABSTRACT

In this paper, the impact of the application of oral simvastatin on liver tissue of mice (*Mus musculus L.*) was analysed through histopathological method.

Randomly selected 20 male mice were grouped in 10 mice control and 10 mice in experimental group in this current study. Group I. was specified as the control group and they were given only tap water; experimental group animals were fasted during the normal tap water. Group II. was specified as simvastatin group, was given 20 mg / kg simvastatin (added to drinking water) throughout 30 days. At the end of the experimental period animals in control and experimental groups were decapitated through the method of cerebral dislocation and liver samples were collected.

10% formaldehyde solution was detected in these liver samples. Then, paraffin blocks prepared by routine histological methods and 3-5  $\mu$  thick sections were taken (Leica SM2000 R) and they were stained according to the method hematoxylin-eosin staining. These obtained preparations were analysed under a light microscope (Olympus BX51).

The animals in Simvastatin group consumed less feed and water than those in the control group. Subjects were decapitated and liver samples were collected by the method of cerebral dislocation. During the operation, the animals in the simvastatin (7/10) were observed to have fat concentrated around the abdomen, the peritoneal cavity and intestinal, a small proportion (3/10) were not observed to have at all. As a result of the microscopic data, overall, when all the preparations examined, the control group of animals in general were not detected to have a histopathologic findings in liver tissue, further, they were observed to have normal hepatocytes and sinusoidal structure. In the preparations obtained from liver tissues of animals administered with simvastatin group, normal squamous epithelium of the vessel wall formed the Vena centralis (Vc) is but the wall of it included destructions. In addition, in the liver parenchyma close to the V. centralis, mononuclear cell infiltration (MHI), focal necrosis in hepatic cells, and pyknotic nuclei and vacuolar degeneration were observed. Further, the phagocytic Kupffer cells were observed in cores.

**Keywords :** *Mus musculus*, Liver, Histopatology

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

HMG-CoA	: Hidroksi Metil Glutaril Koenzim A
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MI	: Miyokard Enfaktüsü
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksid Sentazı
NO	: Nitrik Oksid
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
hs-CRP	: Yüksek Hassasiyete Sahip C-reaktif Protein
RES	: Retikulo Endotel Sistem
MHI	: Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu
H.E	: Hematoxylin Eosin
Vc	: Vena Centralis
Kg	: Kilogram
Gr	: Gram
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
μ	: Mikron
°C	: Santigrat Derece



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1.1. Statinlerin etki mekanizması	4
Şekil 2.3.1.1. Karaciğerin anatomisi	6
Şekil 2.3.1.2. Karaciğer hepatosit görüntüleri	7
Şekil 2.3.2.2. Karaciğer damarlar, kupffer hücreleri ve sinüzoid görüntüsü	8
Şekil 2.4.1.1. Simvastatin'in Kimyasal Formülü	10

## TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 2.1.1. Statin maddeler ve buldukları ilaçlar	3

## RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 4.1.1. A-B : Simvastatin verilmiş farenin disekte edilmiş görüntüsü (A), Kontrol gurubuna ait farenin disekte edilmiş görüntüsü (B).	12
Resim 4.2.1. Kontrol grubu karaciğer dokusu, H-E, 20x	13
Resim 4.2.2. B(20x) A-C-D-E-F (40x) : Simvastatin gurubu karaciğer dokuları, H-E boyama	14

## 1. GİRİŞ

Statinler; kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan 3-hidroksi-3 metil-glutaril-koenzim A (HMG-CoA)'yı inhibe ederek etki gösteren maddelerdir [1]. Statınlerin bu inhibe edici özelliği ilk kez 1970 yılında Endo ve arkadaşları tarafından keşfedilmiş olmasına rağmen hiperkolesterolemi tedavisindeki önemi ise 1990'lı yıllarda kapsamlı çalışmalarda fark edilmiştir [2]. Statınler düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeyini azaltan en etkili ve pratik ilaçlardır. Kolesterol sentezinin azalması karaciğerin kolesterol içeriğini azaltmakta ve serum LDL kolesterol düzeylerini düşüren LDL reseptörlerinin üretimine neden olmaktadır [3]. Statınlerin koroner arter hastalığı, miyokard enfarktüsü (MI), inme ve periferik arter hastalığı riskinde azalma sağladıkları bilinmektedir [4]. Statın tedavisi aterosklerotik hastalığın her türlü klinik riskini azaltmaktadır. Statın maddelerin uygulamasının kolay olması yanında ilaç etkileşimleri de aynı oranda az olduğu belirtilmiştir [5].

Statinlerin kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azaltıcı etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Genellikle bu etkileri lipid düşürücü etkilerine bağlansa da yapılmış olan bu çalışmaların subanalizlerinde lipid düşürücü etkilerinden bağımsız olan direkt kardiyoprotektif etkileri de gözlenmiştir [6].

Pravastatin, simvastatin, fluvastatin, atorvastatin, rosuvastatin ve pitavastatin statin maddelerin önde gelenleridir. Pitavastatin dışındaki tüm statınler intestinal veya hepatik düzeyde ilk geçiş eliminasyonuna uğrarlar. Statınler hücre içine girdiği zaman biyosentetik kolesterol sentezini düşürmekte ve böylece hücre içinde kolesterol içeriği azalmaktadır. Bu azalmaya yanıt olarak kolesterol homeostazında işlev gören proteinlerin sentezi artmaktadır. LDL reseptörlerinin sayısının artması sonucu plazmadan LDL alınımını belirgin şekilde yükselttiği belirtilmiştir [6-7].

Statinler pleiotropik etkiler de göstererek kardiyovasküler olayların azalmasına katkıda bulunurlar. Endotelyal fonksiyonun düzeltilmesi, aterosklerotik plağın stabilitesinin artması, oksidatif stresin azalması ve vasküler inflamasyonun azalmasına katkıda bulunurlar. Statınler ayrıca koagülatif ve fibrinolitik evrelerde yararlı rol oynarlar. Statınler endotelyal nitrik oksid sentazı (eNOS) stimüle ederler. Doku tipi plazminojen aktivatör ekspresyonunu artırarak NO biyoyararlanımını artırır ve endotel

disfonksiyonunu düzeltirler. Statinlerin en iyi bilinen ve kanıtlanmış olan pleiotropik etkisi hs-CRP seviyelerini azaltmalarındır [6-7]. Kolesterol sentezi büyük oranda karaciğerde gerçekleştiği için statinlerin özellikle karaciğer hücrelerindeki HMG-CoA redüktaz için selektif olmaları istenmektedir. Diğer bölgelerdeki yüksek etkinlik karaciğerdeki inhibisyon gücünü azaltacağı gibi potansiyel olarak yan etkilerin artmasına da neden olabileceği bildirilmiştir [8]. Bu etkilerden bazıları; akut karaciğer yetersizliği, hepatit, kolestaz ve transaminet (asemptomatik AST ve ALT yükselmesi) çok nadir olarak rapor edilmiştir [9- 10].

Statinler, atardamar hücrelerinin bölünme oranını normalden 7-13 kat hızlandırmakta, atardamarları tıkararak kalp krizine yol açan yağ plaklarının birikimini engellemekte, atardamar hücrelerinin işlevini düzeltmekte ve dolayısıyla kalp krizi riskini azalttığı bildirilmiştir [11]. Bunun yanında statinler karaciğerde kolesterol oluşturmak için gerekli maddeleri bloke ederek kolesterol sentezini azalttığı belirtilmiştir. Karaciğerde azalan kolesterol nedeniyle periferden karaciğere kolesterol çekilmekte ve böylece dolaşan kolesterol de azaltılmaktadır. Statinler damar duvarlarındaki plakların içinde yer alan kolesterolün de geri emilmesine yardımcı olmaktadır. Statin tedavisi görenlerde eklem ve kas ağrıları, kramplar, kaslarda güçsüzlük, seks hormonları yapımının bozulması, iktidarsızlık, şuur bulanıklığı, hafıza kaybı, huzursuzluk, kişilik değişiklikleri, kabızlık, ishal ve deri döküntüleri gibi bazı şikâyetler ortaya çıkabilmektedir. Statinlerin en önemli yan etkilerinden biri de karaciğer hasarına sebep olabileceğinin bildirilmesidir [12].

Bu çalışmada; kolesterol tedavisinde yaygın olarak kullanılan etken madde olan statinlerin karaciğer fonksiyonları ve yapısında meydana gelen değişiklikleri ve karaciğer bozuklukları üzerine olan etkileri histopatolojik yöntemlerle incelenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Statin Maddeler

1970'li yıllarda HMG-CoA redüktaz enziminin kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı basamağı oluşturduğunun anlaşılması üzerine bu enzimin inhibe edilmesiyle kolesterol sentezinin önemli ölçüde bloke edilebileceği fikri yaygınlaşmıştır. Bu amaçla 6000 mikroorganizmayı inceleyen Endo 1976 yılında *Penicillium citrinum*, Thom 1910 adlı mantar türünde izole ettiği ve mevastatin ismini verdiği madde HMG-CoA redüktazı başarıyla inhibe etmeyi başarmıştır [13]. 1979 yılında *Aspergillus terreus*, Micheli 1792'dan izole edilen lovastatin (mevacor), ilk patent alan statin madde olmuştur. Bundan sonra Fluvastatin (lescol), simvastatin (zocor), pravastatin (pravachol), atorvastatin (lipitor) ve rosuvastatin (crestor) gibi birçok statin madde keşfedilmiştir (Tablo 2.1.1.) [8].

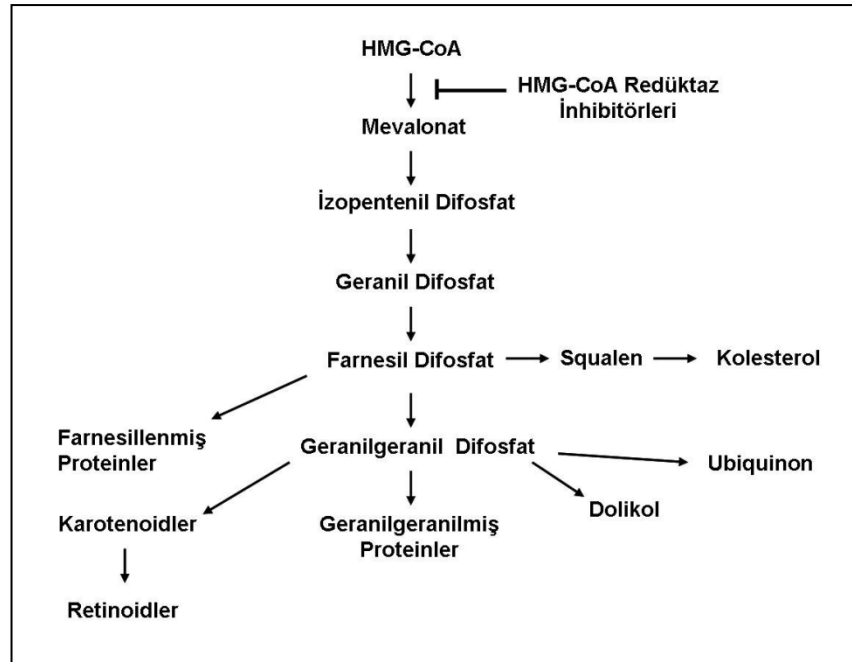
DOĞAL STATİNLER		SENTETİK STATİNLER	
EKTEN MADDE	BULUNDUĞU İLAÇ	ETKEN MADDE	BULUNDUĞU İLAÇ
Simvastatin	<b>Zovatin, Zocor, Simvakol</b>	Atorvastatin	Lipitor, Lipidra, Ator, Kolestor, Tarden, Alvastin
Serivastatin *	Lipobay	Fluvastatin	Lescol
Lovastatin	Movacor		
Mevastatin **			
Pravastatin	Pravachol		
Pitavastatin	Livalo, Pitava		
Rosuvastatin	Crestor		

Tablo 2.1.1. Statin maddeler ve buldukları ilaçlar [14].

\* Olumsuz yan etkilerinden dolayı 2001'de piyasadan çekilmiştir [14].

\*\* Yan etkileri nedeniyle artık hiperlipidemi tedavisinde kullanılamamaktadır. Pravastatin üretiminde kullanılmaktadır [14].

Tüm statin moleküllerinin ortak noktası sahip oldukları HMG benzeri yapıya sahip olan dihidroksiheptenoik asit zinciridir. Bu zincir HMG-CoA redüktaz enzimi için yalancı bir substrat oluşturarak enzimin aktif bölgesine bağlanmakta ve kompetitif bir inhibisyona neden olmaktadır [15]. Bu inhibisyon neticesinde Asetil CoA'dan mevalonik asit sentezi gerçekleşmemekte ve kolesterol sentezi inhibe olmaktadır. Hücre içinde sentezlenen kolesterolün azalması karaciğer hücre yüzeyinde bulunan LDL ve VLDL reseptörlerinin sayıca artıp aktifleşmesine neden olmaktadır. Bu reseptörler dolaşımda bulunan LDL ve VLDL'yi yakalayıp karaciğer hücresine alarak plazmadaki miktarlarının azalmasına neden olmaktadır [15]. Kolesterol sentezi büyük oranda karaciğerde gerçekleştiği için statinlerin özellikle karaciğer hücrelerindeki HMG-CoA redüktaz için selektif olmaları istenmektedir. Diğer bölgelerdeki yüksek etkinlik karaciğerdeki inhibisyon gücünü azaltacağı gibi potansiyel olarak yan etkilerin artmasına da neden olabilmektedir [8].



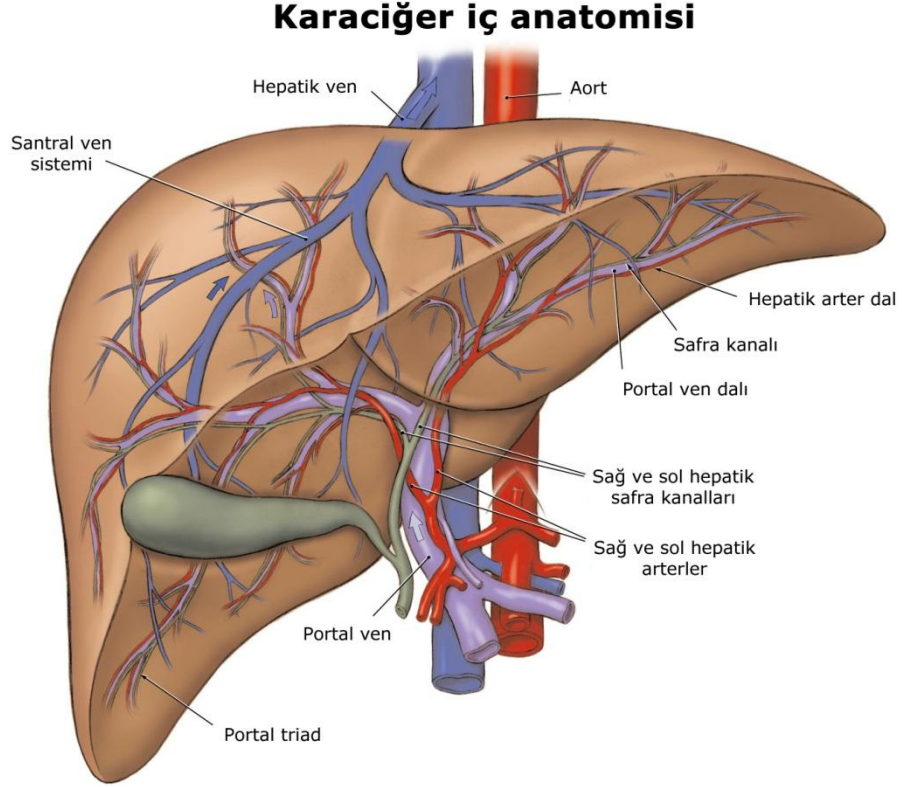
Şekil 2.1.1. Statinlerin etki mekanizması [16].

## **2.2. Simvastatin'in Karaciğer Seçiciliği**

Kolesterol sentezi büyük oranda karaciğerde gerçekleştiği için statinlerin özellikle karaciğer hücrelerindeki HMG-CoA redüktaz için selektif olmaları istenmektedir. Diğer bölgelerdeki yüksek etkinlik karaciğerdeki inhibisyon gücünü azaltacağı gibi potansiyel olarak yan etkilerin artmasına da neden olabilmektedir. Genelde statinlerin karaciğer hücresi için seçiciliği yüksektir. Ancak daha az lipofilik olan (veya daha hidrofilik olan) pravastatin ve rosuvastatin gibi ajanların hepatik selektivitesinin göreceli olarak daha yüksek olması beklenebilmektedir. Bunun nedeni lipofilik özelliği yüksek olan ajanların birçok hücreye pasif difüzyonla geçebilme potansiyeline sahip olmasıdır. Oysa hidrofilik özelliktekiler sadece organik anyonlara yüksek afiniteli aktif taşıyıcılar eksprese edebilen hücreler (karaciğer hücresi buna örnektir) tarafından yüksek oranda içeri alınırlar [8]. Karaciğer seçiciliğini belirlemek amacıyla hepatositlerde kolesterol inhibisyonu için gerekli statin dozunu saptamaya yönelik deneysel modellerde en düşük dozla inhibisyon yapan molekülün rosuvastatin olduğu gözlemlenmiştir [17].

## 2.3.Karaciğer

### 2.3.1.Karaciğer Anatomisi

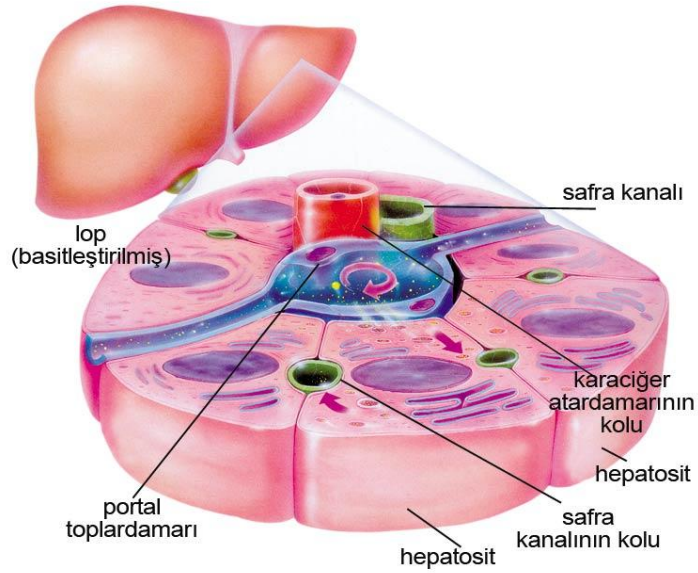


Şekil 2.3.1.1. Karaciğerin anatomisi [18].

Karaciğer insan vücudundaki en büyük salgı bezidir. Karın boşluğu içinde yerleşmiştir. Karaciğerin normal bir erişkindeki ağırlığı 1200-1800 gr kadardır. Karaciğerin üç yüzü vardır. Bunlar 1) Üst yüz-diyafram yüzü, 2) Arka yüz-omurga yüzü ve 3) Alt yüz-viceral yüz. Üst yüzü, diyafram kasıyla komşuluk yapmakta ve periton zarıyla örtülüdür. Arka yüzünün büyük bölümü peritonsuzdur. Omurga ve Vena cava inferior ile komşuluk göstermektedir. Alt yüzünde karaciğere ait iki önemli yapı bulunmaktadır. Bunlardan biri safra kesesi, diğeri ise “Porta hepatis” denilen oluşumdur. Porta hepatis, karaciğere giren ya da ondan çıkan damar, sinir ve safra yollarının bir araya toplandıkları bir kat gibidir. Porta hepatis’den karaciğere giren yapılar şunlardır: “Vena porta”, “Arteria hepatica propria” ve karaciğere gelen bazı sinir dallarıdır. Karaciğerden porta hepatis yoluyla çıkan yapılar ise şunlardır: “Safra kanalları”, “Vena hepatica” ve “Lenf damarları” [19].

### 2.3.2.Karaciğer Histolojisi

Karaciğer histolojik olarak hepatosit kordonlarının meydana getirdiği lobüllerden oluşur. Lobülün orta kısmında V. centralis bulunur. Karaciğerin büyük bir kısmında lobüller birbirine çok yakın olarak yer alırlar. Bazı sahalarda fibröz doku ve damarlarla birbirlerinden ayrılırlar. Lobüller arasındaki bu sahalara portal aralık denilir. İnsan karaciğerinde her lobülün çevresinde 5 veya 6 portal aralık bulunur. Portal aralıklarda portal ven adlı olan bir venül, hepatik arterin dalı olan bir arteriol, safra kanalı ve lenfatikler yer alır. Küçük portal aralıklarda safra kanalları intralobüler duktuslar, büyük portal aralıklardaki septal duktuslar adını alırlar [20].



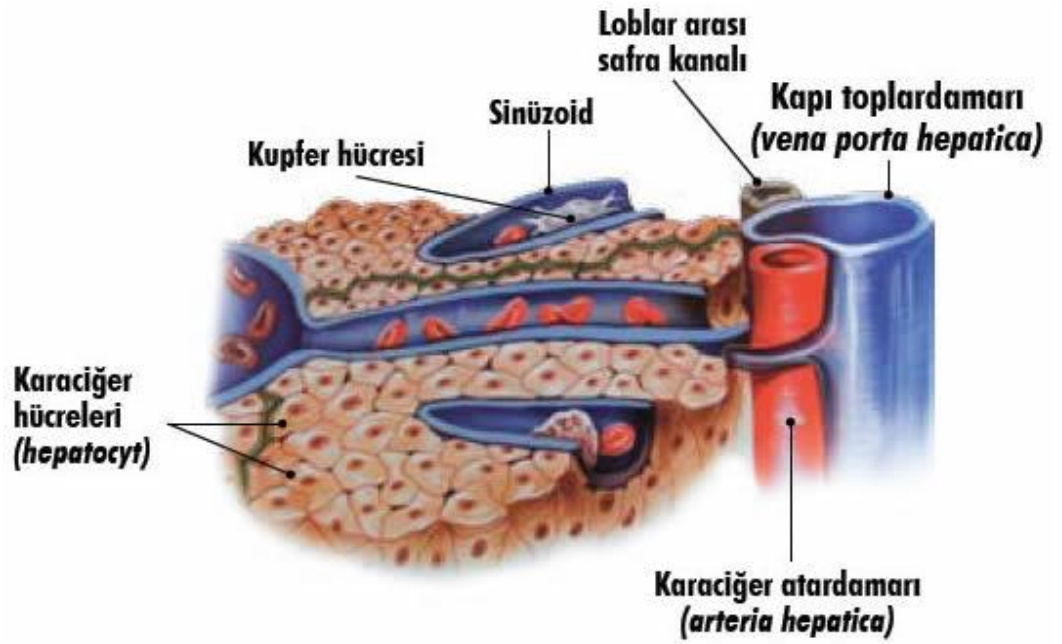
#### 2.3.2.1. Karaciğer hepatosit görüntüleri [21].

Hepatositler 6 veya daha fazla yüzeyle polihedral, 20-30 mikron çapta hücrelerdir. Genellikle bir; bazen de iki çekirdekli, soluk pembe sitoplazmaya sahiptirler. Sitoplazmalarında lobülün orta kısmında daha belirgin olmak üzere ince kahverengi granüller halinde lipofuksin pigmenti ve yağ vakuelleri bulunabilir. Hepatositler; lobül içinde periferden merkeze doğru kordonlardan oluşur. Bu kordonlar birbirleriyle serbest anastomozlar yaparak labirent şeklinde yapılar oluşturur [20].

Karaciğer hücre plakları arasında sinuzoidler bulunur. Sinuzoidler, lobulus içi kan dolaşım ağını oluştururlar. Venulae perilobularis'lerden, V. centralis yönünde akan kan, sinuzoid duvarı aracılığı ile karaciğer metabolizmasına katılır. Sinuzoid duvarında iki



tip hücre vardır. Biri, endotel hücresi; diğeri de retikulo endotel sisteme (RES) ait olan “Kupffer” yıldız hücreleridir. Kupffer (1876)’in tanımlamasına göre, “yıldız şekilli” hücreler diye anılmaktadırlar. İleri derecede fagositoz kabiliyetleri olup, sabit makrofajlar grubundan sayılırlar. Kupffer hücreleri sitoplazmalarında fagositoz vakuolleri, kalıntı cisimcikler ve lizozomlar bulunur [22].



Şekil 2.3.2.2. Karaciğer damarlar, kupffer hücreleri ve sinüzoid görüntüsü [23].

Hepatik arter ya da karaciğer atar damarı denilen damar, vücudun ana damarı olan aorttan aldığı oksijence zengin kanı karaciğere taşır. İkinci damar, tıp dilinde portal ven olarak adlandırılan, kapı toplardamarıdır. Bu damar sindirim sisteminden ve özellikle ince bağırsaklardan gelen sindirilmiş gıdaları karaciğere taşır. Bu kan damarları karaciğer içinde çok sayıda dallara ayrılır ve kapiller adı verilen kılcal damarlar halinde sonlanırlar [24].

### 2.3.3.Karaciğer Fonksiyonları

Kimyasal tepkileri ayarlamakta karaciğer büyük rolü olan en önemli organdır. Bundan dolayı fonksiyonları saymakla bitirilemez. Karaciğerin aşağıda bazı önemli fonksiyonları verilmektedir:

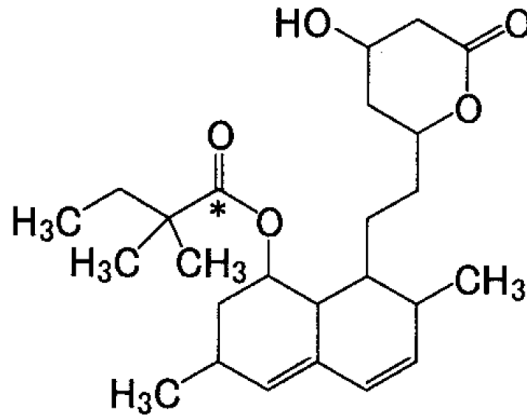
- Proteinlerin üretilmesi ve depolanması, protein metabolizmalarının birçok yan üretimlerinin tanzim ve kontrol edilmesi
- Şekerin depolanması ve kanda bulunması gereken şeker miktarının ayarlanması
- Vücuttaki toksik ve zararlı maddelerin nötralize edilmesi
- Depo edilmiş yağların kullanılması
- Kanın pıhtılaşması için gerekli maddelerin üretilmesi
- Safra ve safra tuzlarının üretilmesi (Bunlar kanallardan bağırsaklara ifraz edilmekte ve sindirime yardımcı olmaktadır)
- Kırmızı kan hücreleri ve başka kan elemanlarının üretimi için gerekli ve önemli olan maddelerin üretimi ve depolanması [25]

## 2.4. Çalışmada Kullanılan Statin Maddeler

### 2.4.1. Simvastatin

Simvastatin, *Aspergillus terreus*'un bir fermentasyon ürününden sentetik olarak türetilen bir kolesterol düşürücü ajandır. İnaktif lakton olan simvastatin; oral alımdan sonra, karşılığı olan beta-hidroksi asit formuna hidrolize olur. Bu temel bir metabolittir, kolesterol biyosentezinde erken ve hız sınırlayıcı bir dönemi katalize eden bir enzim olan 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-CoA) redüktaz enziminin inhibitörüdür [24]. HMG-CoA'nın mevalonata dönüşmesi kolesterolün biyosentetik yol ağında erken bir basamak olduğundan, simvastatin ile tedavinin, potansiyel olarak toksik sterollerin birikimine yol açması beklenmemektedir. Ek olarak, HMG-CoA kolayca, vücutta birçok biyosentetik sürece katılan asetil-CoA'ya geri metabolize olmaktadır. Simvastatin klinik çalışmalarda; total plazma kolesterol, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) konsantrasyonlarını

düşürmüştür. Ayrıca, simvastatin HDL kolesterolü orta derecede yükseltmiş ve plazma trigliseridlerini azaltmıştır [24]. Hayvan çalışmaları simvastatin oral uygulamadan sonra karaciğere yüksek bir seçicilik göstererek, hedef olmayan dokulara oranla daha yüksek konsantrasyonlara ulaştığı belirtilmiştir. Simvastatin, primer etki yeri olan karaciğerde büyük ölçüde "first-pass" ekstraksiyonuna uğrar ve sonuçta ilaç safrayla atılır. Erkeklerde, simvastatin'in aktif formunun sistemik dolaşımında bulunan miktarları, oral dozun %5'inden az olarak bulunmuştur. Bunun %95'i plazma proteinlerine bağlı olduğu belirtilmiştir [26].



Şekil 2.4.1.1. Simvastatin'in Kimyasal Formülü [27].

#### 2.4.2. Yarılanma Ömrü

Lovastatin, pravastatin, simvastatin ve fluvastatin gibi moleküllerin yarılanma ömrü 1-2 saat civarındayken, atorvastatinin yarılanma ömrü 14 saattir [28]. Tüm statinler arasında en uzun yarılanma ömrü ise yaklaşık 19-20 saat ile rosuvastatine aittir [29].

### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. Hayvan Materyali**

Araştırmada Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilen 45-50 günlük 30-35 gram ağırlığında 20 adet erişkin erkek fare örneği kullanıldı. Bütün hayvanlar deney süresince normal oda ısısında ( $22\pm^{\circ}\text{C}$ ), 12/12 saat gece/gündüz periyodunda tutuldu, standart fare yemi ve normal su ile *ad libitum* olarak beslendi.

#### **3.2. Deney Düzenegi**

Çalışmamızda rastgele seçilen 20 erkek fare kullanılarak her grupta 10 fare bulunan bir kontrol ve bir deney grubu oluşturuldu. I. gruptaki hayvanlar kontrol grubu olarak belirlendi ve deney süresince normal çeşme suyu içirildi. II. gruptaki hayvanlar simvastatin grubu olarak belirlendi ve 30 gün boyunca oral yolla (içme sularına katılarak) 0,2 mg/kg simvastatin uygulandı. Deney süresi sonunda kontrol ve deney grubundaki hayvanlar serebral dislokasyon yöntemiyle dekapite edilerek karaciğer numuneleri alındı.

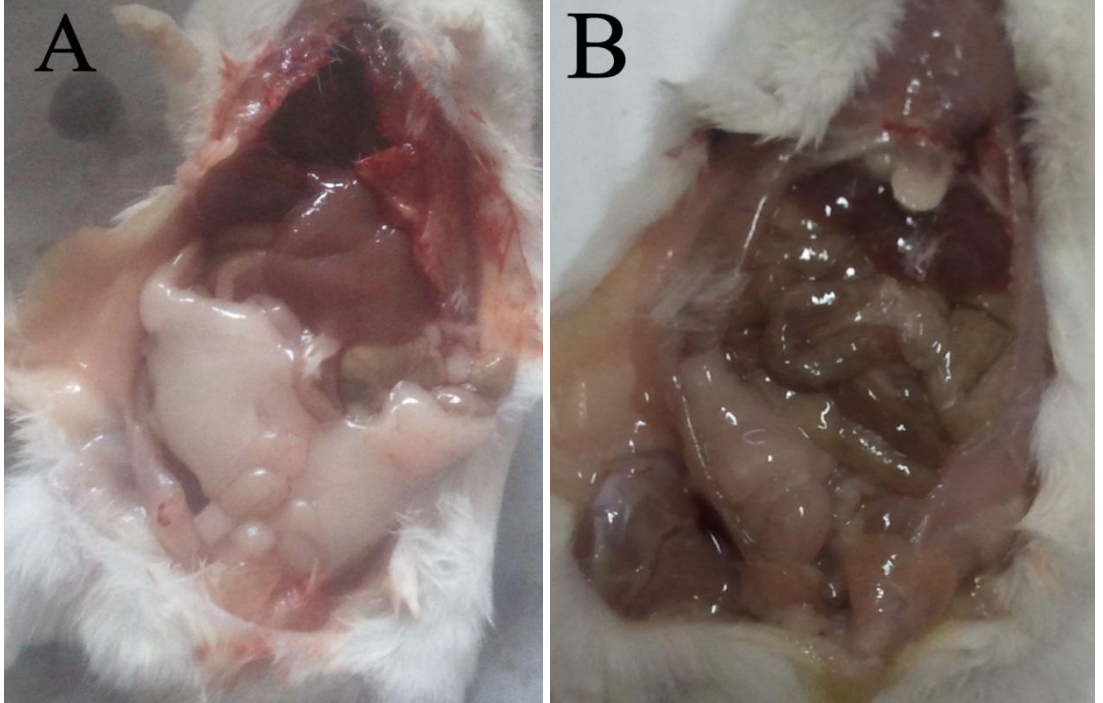
#### **3.3. Histopatolojik İncelemeler**

Alınan karaciğer numuneleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Daha sonra rutin histolojik metotlarla parafin bloklar hazırlanarak 3-5  $\mu$  kalınlığında kesitler alınıp (Leica SM2000 R) hematoksilin-eozin boyama metoduna göre boyandı. Elde edilen bu preparatlar daha sonra ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Makroskobik Bulgular

Bu araştırmada Simvastatin uygulanan hayvanların kontrol grubundaki hayvanlara oranla %10'a yakın oranda daha az su ve %30'a yakın oranda daha az yem tükettiği gözlemlendi. Deney sonrasında operasyonla açılan hayvanların genelinde (7/10) abdomenlerindeki periton boşluğu ve bağırsak etrafında yoğun olarak yağ dokusu izlenirken az bir kısmında hiç gözlenemedi (Resim 4.1.1).

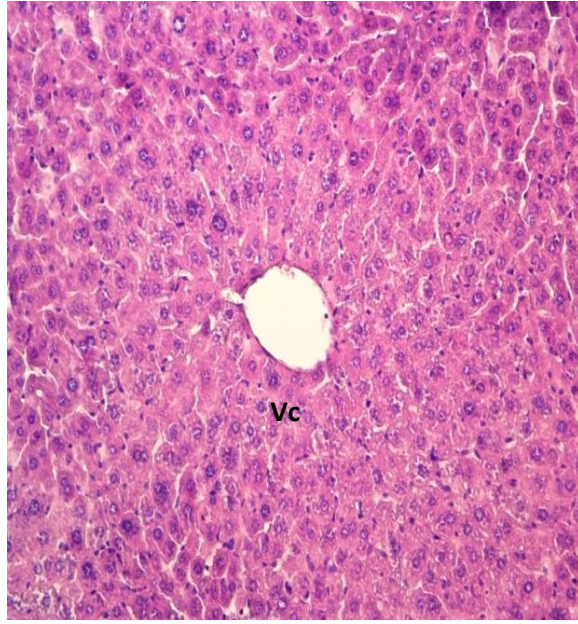


Resim 4.1.1. A-B : Simvastatin verilmiş farenin disekte edilmiş görüntüsü (A), Kontrol gurubuna ait farenin disekte edilmiş görüntüsü (B).

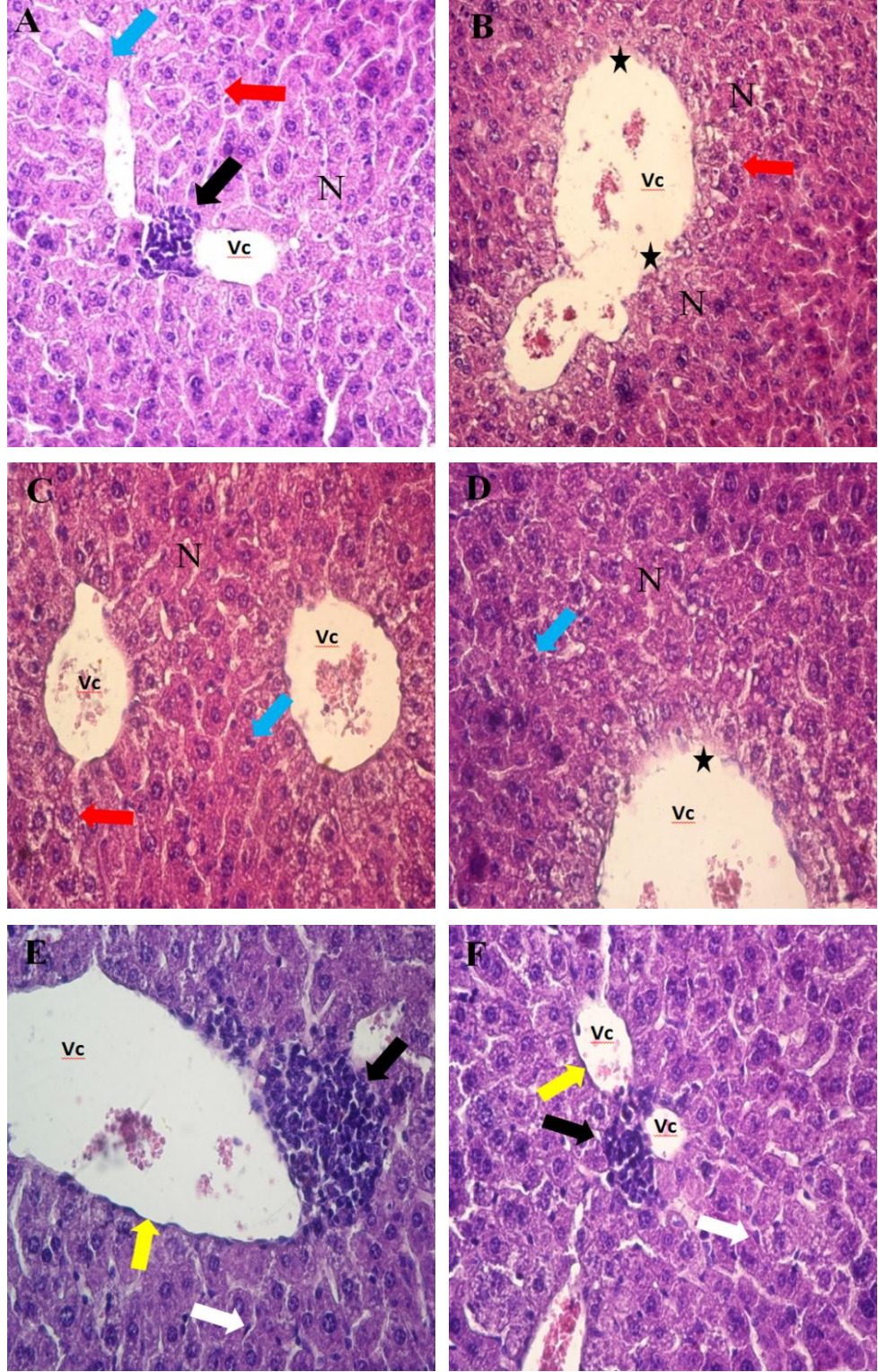
### 4.2. Mikroskobik Bulgular

Kontrol grubundaki hayvanların karaciğer dokusundan elde edilen preparatların tümünün ışık mikroskobu incelenmesinde genel olarak histopatolojik bir bulgu saptanmadı, hepatositler ve sinozoidal yapının normal görünümde olduğu gözlemlendi. (Resim 4.2.1)

Simvastatin uygulanan gruptaki hayvanların karaciğerler dokularından elde edilen preparatlarda ise V. centralis (Vc) duvarına yakın karaciğer parankiması içerisinde mononükleer hücre infiltrasyonu (MHI) (siyah oklar), hepatik hücrelerde fokal nekroz alanları (N), yer yer piknotikleşmiş nükleuslar (mavi oklar), vakuoler dejenerasyonlar (kırmızı ok) ve V. centralis'in (Vc) duvarında yıkım olduğu (yıldız) gözlemlendi. Ayrıca kupfferin fagositik hücre çekirdekleri (beyaz ok) ve V. centralis'i (Vc) oluşturan damar duvarının tek katlı yassı epiteli (sarı ok) de izlenebildiği tespit edildi (Resim 4.2.2 : A-B-C-D-E-F).



Resim 4.2.1. Kontrol grubu karaciğer dokusu, H-E, 20x



Resim 4.2.2. B (20x) A-C-D-E-F (40x) : Simvastatin grubu karaciğer dokuları, H-E boyama (Vc: Vena centralis, Siyah ok: Mononükleer hücre infiltrasyonu, N: Nekroz alan, Mavi ok: Piknotikleşmiş nükleus, Kırmızı ok: Vakuoler dejenerasyon, Yıldız: Vc duvarı yıkımı, Beyaz ok: Kupfferin fagositik hücreleri, Sarı ok: Tek katlı yassı epitel).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Statinlere bağlı hepatotoksisitenin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte bazı mekanizmalar ortaya atılmıştır. Hepatositlerde intrasellüler organellerin hasarına yol açan muhtemel bir sebep olarak oksidatif stresin üzerinde durulmaktadır. Karacięerde parankim hücresinin, Kupffer hücresinin, endotel ve Ito hücresinin serbest radikaller ve lipid peroksidlerine maruziyeti bu hücreslerin aktivasyonunda başlıca uyarıcı faktörleri oluşturmaktadır [30]. Statinerin doz-yanıt ilişkisi doğru orantılı değildir. Toksikite ile doz arasındaki ilişki ise doğrusaldır. Statinerin pek çok yan etkisi olmakla birlikte çoęu hafif ve geçicidir [31]. Yapılan birçok çalışmada statin madde uygulamasının karaciğer dokusu üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı bildirilmektedir. Adik (2006) yapmış olduğu çalışmada, karaciğer enzimleri yüksek, nonalkolik karaciğer yağlanması olan ve aynı zamanda hiperlipidemisi olup statin tedavisi endikasyonu olan hastalarda statin kullanımının güvenli olduğunu belirtmiştir [31]. Kiortsis ve ark. (2003) yaptığı çalışmada, lipid dūřürücü ilaçların obez hastalarda karaciğer enzimleri üzerindeki etkilerini incelemişler ve 6 aylık uygulama sonucunda, başlangıçta karaciğer enzimlerinde hafif-orta derece yükseklik saptanan (normal üst sınırının 2 katından az) hastalarda enzim profilinde normalleşme saptamışlardır. Fibrat ve statinerin; hafif-orta derece karaciğer enzim yüksekliği de olan hiperlipidemik hastaların tedavisinde güvenilir ilaçlar olduğunu bildirmişlerdir [32]. Chalasani ve ark. (2005) yaptığı çalışmada, 6 aylık takip sonucu karaciğer enzimleri yüksek hastaların statin kullanımına bağlı hepatotoksikite açısından yüksek riskli olmadığı sonucuna varmışlardır [33]. Hatzitolios ve ark. (2004) yaptığı çalışmada, statin uygulamasına bağlı olarak hepatotoksikite görölmediğini belirtmişlerdir [34]. Rallidis ve arkadaşlarının (2004) yaptığı çalışmada; Statinerin NASH'de oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltarak olumlu etki yaptığını bildirmişlerdir [35]. Kıyıcı ve ark. (2003) yaptığı çalışmada, hiperlipidemik NASH hastalarında atorvastatin kullanımının yararlı ve güvenli olduğunu bulmuşlardır [36].

Her ne kadar yukarıdaki çalışmalarla maddenin etkisinin geçici, toksik olmadığı, yararlı olabileceği belirtiliyor olsa da, bu araştırma histopatolojik ağırlıklı olması dolayısıyla yukarıdaki verilerin güvenilir olup olmadığı ile ilgili bir yorum yapılamamaktadır.



Diğer taraftan Hye-ji Yang ve ark. (2011), simvastatinin yüksek kolesterol düzeylerini kontrol etmek için yaygın olarak kullanılan ilaçlardan biri olduğunu ancak aşırı kullanımda kas ve karaciğerde toksik etki oluşturduğunu bildirmişlerdir [37]. Arslan (2008) yüksek doz Simvastatin uygulanan ratların karaciğer dokusunda yer yer yapısal değişikliklerin meydana geldiğini, remark kordonlarında bozulma, hidropik dejenerasyon, sinüzoidlerde konjesyon ve dilatasyon, nekrotik alanlar, piknotik çekirdekler, V. centralis'te hiperemi ve apoptozis gözlendiğini belirtmiştir [38].

Bu çalışmada simvastatin uygulanan hayvanların kontrol grubundaki hayvanlara oranla daha az yem ve su tüketimi yaptığı belirlendi. Denekler operasyonla açıldığında hayvanların genelinde (7/10) abdomenlerindeki periton boşluğu ve bağırsak etrafında yoğun olarak yağ dokusu olduğu, az bir kısmında hiç yağ dokusu olmadığı tespit edildi. Araştırmada yapılan preparatların tümü incelendiğinde mikroskopik olarak kontrol grubundaki hayvanların genel olarak karaciğer dokusunda histopatolojik bir bulgu saptanmadığı, hepatositler ve sinüzoidal yapının normal görünümde olduğu belirlendi. Simvastatin uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokularından elde edilen preparatlarda ise V. centralisi oluşturan damar duvarında yıkımlar tespit edildi. Ayrıca V. centralislere yakın konumdaki karaciğer parankiması içerisinde mononükleer hücre infiltrasyonları (MHI), hepatik hücrelerde fokal nekroz alanları, yer yer piknotikleşmiş nükleuslar ve vakuoler dejenerasyonlar gözlendi.

Elde edilen bu verilere göre statin madde uygulamasının karaciğer dokusu üzerinde hepatotoksik etki gösterdiği saptanmış olup yukarıdaki çalışmalar ile benzerlik arz etmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada gözlemlediğimiz histopatolojik reaksiyonların olması literatürde belirtilen çalışmalarla uygunluklar gösterdiği söylenebilir. Ancak konuyla ilgili daha kapsamlı ve kontrollü çalışmalar yapıldığında daha kesin sonuçların alınabileceği kanısındayız.

## 6. KAYNAKLAR

1. Endo A., "The discovery and development of HMG-Co A reductase İnhibitors", J Lipid Res, 33:1569-82 (1992).
2. Gaw A., "Genel uygulamada statinler". İkinci Baskı. Bölüm 3; Statinler nelerdir ve işlevleri nelerdir. 2004; Bölüm 3: sayfa: 21-38.
3. Bilheimler DW., Grundy SM., Brown MS., Goldstein JL., "Mevilonin and colestipol stimulate receptor-mediated clearance of low density lipoprotein in familial hypercholesterolemia heterozygotes", Proc Natl Acad Sci USA, 150:1313-9 (1983).
4. La Rosa JC., He J., Vuuppturi S., "Effect of statins on risk of coronary disease; metaanalysis of randomized controlled trials", JAMA, 282:2340-6 (1999).
5. Türk Kardiyoloji Seminerleri; Cilt 3, Sayı:5, 615.
6. Crawford MH., DiMarco JP., "Hiperlipidemi tedavisi", Crawford Kardiyoloji, 7:1-18 (2003).
7. Eric J. Topol., "Intensive statin therapy - a sea change in cardiovascular prevention", New England Journal Of Medicine 350: 1562-1564 (2004).
8. Hsiang B., Zhu Y., Wang Z., Wu Y., Sasseville V., Yang WP., et al. "A novel human hepatic organic anion transporting polypeptide (OATP2). Identification of a liver-specific human organic anion transporting polypeptide and identification of rat and human hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor transporters", J Biol Chem, 274:37161-8 (1999).
9. Gotto AM Jr., "Statins, cardiovascular disease, and drug safety", American Journal Of Cardiology, 97(8A): S3-S5 (2006).
10. Dujovne CA., "Side effects of statins:hepatitis versus", American Journal Of Cardiology, 89(12): 1411-1413 (2002).
11. <http://www.palhaber.com/haber/saglik/saglik-genel/statinler-bazi-hucrelerin-yaslanmasini-da-geciktiriyor.html> (Erişim tarihi: Mart 2011).
12. <http://www.stargazete.com/guncel/yazar/prof-dr-a-r-kucukusta/bebelere-balon-mu-kolesterol-hapi-mi-haber-117394.htm> (Haziran 2011).
13. Endo A., "The origin of the statins" Atheroscler Suppl, 5:125-30 (2004).
14. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Statinler> (Erişim tarihi: Ocak 2012).

15. Istvan E., "Statin inhibition of HMG-CoA reductase: a 3-dimensional view", *Atheroscler Suppl*, 4:3-8 (2003).
16. Dereli Y. "Koroner Arter Bypass Greft Cerrahisi Sonrası Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu İnsidansını Azaltmada Statinlerin Etkinliğinin Araştırılması" Uzm. Tezi, Konya, 2008.
17. Brown CDA, Windass A, Bleasby K, Lauffart B., "Rosuvastatin is a high affinity substrate of hepatic organic anion transporter OATP-C", *Atherosclerosis Suppl*, 2:90 (2001).
18. <http://www.arizonatransplant.com/healthtopics/liver.html> (Erişim tarihi: Aralık 2011).
19. <http://www.uyurgezer.net> (Erişim tarihi: Mayıs 2011).
20. Aksoy F., "Karaciğer Histolojisi", 1977, Cilt 4, Sayı 3, Sayfa 153-155
21. <http://www.bilgiustam.com/karacigerin-yapisi-onemi-ve-karacigere-bagli-hastaliklar> (Erişim tarihi: Ocak 2012).
22. <http://forumveterinerhekimiz.com> (Erişim tarihi: Mayıs 2011).
23. <http://www.aksoysifalibitkiler.com.tr> (Erişim tarihi: Mayıs 2011).
24. <http://www.saglicaklakal.com> (Erişim tarihi: Haziran 2011).
25. <http://www.mailce.com> (Erişim tarihi: Haziran 2011).
26. <http://www.ilacpedia.com/prospektus/lipovas-film-tablet-10-mg-0> (Erişim tarihi: Haziran 2011).
27. Nezasa K., "Liver-Specific Distribution of Rosuvastatin in Rats: Comparison With Pravastatin And Simvastatin", *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 30:1158–1163, (2002).
28. Shepherd J., "The statin era: in search of the ideal lipid regulating agent", *Heart*, 85:259-64 (2001).
29. Warwick MJ., Dane AL., Raza A., Schneck DW., "Single- and multiple-dose pharmacokinetics and safety of the new HMG-CoA reductase inhibitor ZD4522", *Atherosclerosis*, 151:39 (2000).
30. Poli G., Parola M., "Oxidative damage and fibrogenesis", *Free Radical Biol Med*, 22: 287-305 (1997).

31. Adik, A. “Nonalkolik Karaciğer Yağlanması Statin Tedavisinin Karaciğer Enzim Profili Üzerine Olan Etkileri”, Uzmanlık Tezi, T.C. Haydarpaşa Numune Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, 2006.
32. Kiortsis DN., Nikas S., Hatzidimou K., “Lipid-lowering drugs and serum liver enzymes”, *Fundamental And Clinical Pharmacology*, 17(4): 491-494 (2003).
33. Chalasani N., “Statins and hepatotoxicity: focus on patients with fatty liver”, *Hepatology*, 41(4): 690-695 (2005).
34. Hatzitolios A., Savopoulos C., Lazaraki G., Sidiropoulos I., “The efficacy of omega 3 fatty acids, atorvastatin and orlistat in nonalcoholic fatty liver disease with”, *Indian Journal of Gastroenterology*, 23: 131-134 (2004).
35. Rallidis LS., Drakoulis CK., Parasi AS., “Pravastatin in patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study”, *Atherosclerosis*, 174(1): 193-196 (2004).
36. Kıyıcı M., Gülten M., Gürel S., Nak SG., “Ursodeoxycholic acid and atorvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis”, *Can J Gastroenterol*, 17 (12): 713-718 (2003).
37. Hye-ji Yang, “An Effective Assessment of Simvastatin-Induced Toxicity with NMR-Based Metabonomics Approach”, *PLoS One*, 6 (2): e16641 (2011).
38. Arslan, G. “Yüksek Dozda Simvastatin’in Ratlarda Oluşturduğu Hepatotoksisite Üzerine N-Asetilsistein’in Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hasan ASKER

Doğum Yeri : Çubuk

Doğum Tarihi : 1984

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : İnegöl Lisesi - 2001

Lisans : T.C. Kafkas Üniversitesi – 2006

Tezsiz Yüksek Lisans : T.C. Kafkas Üniversitesi - 2010

Yüksek Lisans : T.C. Kafkas Üniversitesi - 2012

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

T.C. Kafkas Üniversitesi 2006 / 2007

Kargaz Kars Ardahan Doğalgaz Dağıtım Ltd. Şti. 2007 / 2011