

E Vitamini, N-Asetil Sistein, Penisilin-G ve *Urtica dioica* L.'nin Phalloidin Toksisitesi Üzerine Etkileri

Hanefi Özbek*, İlyas Tuncer**, Haluk Dülger***, Serdar Uğraş****, İrfan Bayram****, Kürşat Türkdoğan**, İsmail Uygan**

Özet:

Amaç: Bu çalışmada phalloidin uygulanmış sıçanlarda E vitamini, N-asetil-sistein, penisilin-G ve *Urtica dioica* eterik yağının sıçan sindirim sistemi ve karaciğeri üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Sprague-Dawley ırkı erkek sıçanlardan altı ayrı çalışma grubu oluşturuldu (n=10). I. grup (kontrol grubu) hariç diğer gruplara çalışmanın başında bir kez phalloidin (0.9 mg/kg) periton içi yolla (ip) uygulandı. Bundan sonra çalışma süresince I. gruba (kontrol grubu) ve II. gruba (phalloidin grubu) 0.2 mL serum fizyolojik, 40 mg/kg E vitamini (III. grup), 100 mg/kg N-asetil sistein (IV. grup), 400.000 U Penisilin-G (V. grup) ve 0.5 mL/kg *Urtica dioica* L. tohumu eterik yağ ekstresi (VI. grup) uygulandı. Çalışmanın 4. ve 7. günleri çalışma gruplarından kan ve doku örnekleri alınarak biyokimyasal ve histopatolojik yönden incelendi.

Bulgular: Histopatolojik yönden herhangi bir patolojiye rastlanmadı. Biyokimyasal parametreler yönünden çalışmanın 4. gününde serum ALT değerinin phalloidin grubunda anlamlı seviyede yükseldiği, N-asetil sistein grubunda AST değerinin anlamlı seviyede düştüğü, phalloidin, E vitamini ve N-asetil sistein gruplarında ALP seviyesinin anlamlı seviyede yükseldiği, *Urtica dioica* grubunda ise total bilirubin değerinin anlamlı seviyede yükseldiği tespit edilmiştir. Çalışmanın 7. gününde serum ALT ve total bilirubin değerlerinin gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermediği, serum AST değerinin tüm çalışma gruplarında anlamlı seviyede düştüğü, serum ALP değerinin ise yine tüm çalışma gruplarında anlamlı seviyede yüksek bulunduğu saptanmıştır.

Sonuç: Parenteral yolla verilen phalloidin'in hafif derecede hepatotoksisiteye neden olduğu; E vitamini, N-asetil sistein, penisilin-G ve *Urtica dioica* tohumu eterik yağının bu toksisiteyi zehirlenmenin erken dönemlerinden itibaren önleyebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Phalloidin; misetizm; Sprague-Dawley sıçan, N-asetil sistein, E vitamini, penisilin-G, *Urtica dioica* L. tohumu.

Dünyada var olan 2.000'den fazla mantar türünden yaklaşık 50'si insanlarda zehirlenmelere (misetizmus) neden olmaktadır (1, 2). Ülkemizde zehirli mantarlar toksikolojik yönden önem arz etmekte ve her yıl yüzlerce insanın ölümüne neden olduğu tahmin edilmektedir. Ölümle biten mantar zehirlenmelerinin % 90'ından fazlasının *Amanita phalloides* (AP), *A. verna*, *A. ocreata* ve *A. virosa* türlerinden ileri geldiği rapor edilmiştir (1,3). *A. verna*, *A. virosa* ve diğer Galerina grubu mantarlar gibi AP de etkisi geç başlayan zehirlenmeye sebep

olan bir türdür. Bunların toksik etkileri içerdikleri siklik peptidlere (amanitin'ler ve phalloidin) bağlıdır. Amanitinlerin letal dozunun insanda 0.1 mg/kg, phalloidin 1-2 mg/kg olduğu, ayrıca AP'nin yaklaşık 50 gramının insanı öldürmeye yeterli olduğu bildirilmiştir (4). AP, hücre çekirdeğinde RNA polimeraz II enzimini inhibe ederek protein sentezini bozmakta ve sonuçta hücre nekrozuna neden olmaktadır. Karaciğerde sentrilobüler nekrozdan önce yağlı dejenerasyon ve kanama yapmaktadır (1, 3). AP zehirlenmelerinde aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) karaciğer harabiyetinin derecesini göstermesi bakımından önemlidirler (2, 4). Özellikle AP türü mantarlar ile oluşan zehirlenmelerde mortalite oranı oldukça yüksektir.

Alfa-amanitin ısıya dayanıklı siklik bir oktapeptiddir. Taze AP'nin 1 gramında yaklaşık 0.2-0.4 mg kadar alfa-amanitin bulunur. İstanbul ve çevresinde yetişen AP türlerinin 100 gramında 4.4-13.3 mg alfa-amanitin bulunduğu bildirilmiştir. Alfa-amanitin, böbreklerde proksimal ve distal tubulus

*Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı,

** Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Anabilim Dalı,

*** Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,

**** Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,

Yazışma Adresi: Hanefi Özbek,

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD
65300 VAN / TURKEY

hücrelerini zedelemektedir. Ölümler daha çok karaciğer ve böbrek yetersizliğinden ileri gelmektedir. Zehirlenme sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri, karaciğer ve böbrek yetersizliğinin fizyopatolojisinden sorumlu tutulan en önemli ajanlardır. Alfa-amanitin mide-barsak kanalından kolayca absorbe edilmekte ve plazma proteinlerine zayıf bir şekilde bağlanmaktadır. Karaciğer hücrelerine safra asitlerinin transportunu yapan taşıma sistemi aracılığı ile girerek kolayca hücre içine nüfuz etmektedir (4).

Phalloidin, sistein aminoasidi içeren siklik bir heptapeptiddir. Toksikitesi molekülün indol halkasındaki kükürdün tiyoamid bağından ileri gelen bu madde, zehirlenmenin başlangıç döneminde ortaya çıkan akut gastroenteritten sorumludur (1, 4). Phalloidin toksininin ağızdan alındığında karaciğer üzerinde toksik etki yapmadığı, fakat deney hayvanlarına parenteral yolla verildiğinde hepatotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (4). Phalloidin'in sindirim kanalından sınırlı düzeyde absorpsiyona uğradığı ve bu yüzden toksik etkilerinin sınırlı olduğu, ayrıca aktin polimerizasyonunu kesintiye uğrattığı ve hücre zarı fonksiyonlarını bozduğu bildirilmiştir (5).

A. phalloides grubu mantar zehirlenmelerinin antidotu yoktur; semptomla dönük ve destekleyici tedavi uygulanır. Günümüzde tedavi olarak; midenin yıkanması, aktif kömür uygulaması, sıvı-elektrolit replasmanı yanında 300.000-1.000.000 U/kg/gün dozunda iv. kristalize penisilin G ve 20 mg/kg/gün i.v. silibinin kullanılmaktadır (5). Klinik denemeler yüksek dozda penisilin G tedavisinin terapötik değerini kanıtlamakla beraber antidotal etki mekanizmasını tam olarak ortaya koyamamıştır. Penisilin G'nin toksinleri bağladığı, hücre içine girmesini engellediği ve onların hücre içindeki etkinliğini azalttığı ileri sürülmektedir. Silibinin uygulaması, penisilin G'nin antidot etkinliğini artırmaktadır. Silibinin'in karaciğeri koruyucu etki mekanizması belli değildir. Ancak amanitinlerin enterohepatik dolanımı ile birlikte hem phalloidin'in hem de alfa-amanitin'in hepatosit membranına bağlanmasını ve hücreye girişini engellediği deneysel olarak gösterilmiştir. Hepatoprotektif etkisi olduğu öne sürülen diğer bir madde ise tiotik asitler (α lipoik asit), fakat terapötik değeri tartışmalıdır. Bunlardan başka hemodiyaliz ve hemoperfüzyon tedavileri de kullanılmakta ancak bunların da yararının tartışmalı olduğu belirtilmektedir. Son çare olarak mümkünse karaciğer transplantasyonu önerilmektedir (1).

Bu çalışmada phalloidin verilen sıçanlarda E vitamini (α -tokoferol), N-asetil-sistein, penisilin-G ve *Urtica dioica* L. (ısırgan otu) meyvesi eterik yağının sindirim sistemi ve karaciğer üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Kimyasallar:

Çalışmada; Phalloidin ve N-asetil sistein (Sigma, Steinheim-Germany), E vitamini (Evigen[®], Roche, Türkiye), penisilin-G potasyum (Penicillin-G[®], Mustafa Nevzat, Türkiye) ve *Urtica dioica* L. tohumu (Van'daki bir baharatçıdan alındı) kullanıldı.

Urtica Dioica Tohumu Eterik Yağının İzolasyonu:

Urtica dioica L. tohumları bir botaniste teşhis ettirildikten sonra bir kısmı referans amacıyla laboratuvarında saklandı (referans no: B-06), kalan kısmı elektrikli değirmende öğütülüp diyet eter içerisine konuldu. Yarım saat kadar çözünmeye bırakılıp ardından filtre edildi. Filtrat, rotary evaporatör aracılığı ile vakum altında eterden ayrıştırılarak eterik yağ ekstresi toplandı. Ekstre, santrifüj cihazında 4.000/dk devirde, 15 dakika süreyle çevrildikten sonra tüpün altında kalan tortu atılıp üstte kalan berrak kısım alındı ve çalışmada bu kısım kullanıldı. Eterik yağ verimi % 24 olarak hesaplandı.

Deney Hayvanları:

Bu çalışmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde, standart pelet yem (Van Yem Fabrikası, Türkiye) ve çeşme suyu ile beslenen, Sprague-Dawley ırkı, 150-200 g ağırlığında, erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, standart kafeslerde barındırılıp, yem ve su alımı serbest bırakıldı. Hayvanların bulunduğu oda 22 ± 2 °C'de, 12 saat karanlık-12 saat ışık ortamında tutuldu. Çalışmaya başlamadan önce Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı (17.01.2001 tarih ve 2001/02-2 karar sayılı) alınmıştır.

Deney Prosedürü:

Her birinde 10'ar adet sıçan bulunan altı deney grubu oluşturuldu. Birinci gruba (kontrol grubu) serum fizyolojik (0.2 mL, intraperitoneal) uygulandı. Kalan diğer grupların tümüne çalışmanın başında tek doz 0.9 mg/kg phalloidin (distile su içinde hazırlandı) periton içi (i.p.) yolla bir kez uygulandı ve çalışma süresince bir daha phalloidin uygulaması yapılmadı. Çalışmada kullanılan diğer maddeler ise altı gün boyunca, günde bir kez olacak şekilde uygulandı. Phalloidin dozu Loranger ve Wdowinski'nin çalışmalarına göre modifiye edilerek belirlendi (6, 7). II. gruba (phalloidin grubu) ip yolla 0.2 mL distile su, III. Gruba 40 mg/kg kas içi yolla (im) E vitamini (alfa-tokoferol), IV. Gruba 100 mg/kg ip yolla N-acetyl sistein (distile su içinde), V. Gruba 400.000 U ip yolla penisilin-G (distile su içinde) ve VI. Gruba 0.5 mL/kg ısırgan otu tohumu eterik yağı, ağız yoluyla (gastrik sonda aracılığıyla) çalışma süresince her gün bir kez verildi. Isırgan otu tohumu eterik yağının dozu Türkdoğan ve arkadaşlarının çalışmasına göre modifiye edilerek belirlendi (8). E

Tablo I: Çalışmanın dördüncü gününe ait biyokimya sonuçları (ortalama ± SHO), n=10.

Gruplar	ALT (serum U/L)	AST (serum U/L)	ALP (serum U/L)	T. Bilirubin (mg/dL)
Kontrol (SF)	30.42 ± 04.91	99.71 ± 6.39	234.71 ± 26.15	0.11 ± 0.019
Phalloidin	^a 73.00 ± 14.96	97.50 ± 19.86	^a 472.25 ± 41.43	0.13 ± 0.024
E vitamini	63.00 ± 05.11	82.33 ± 05.71	^{ab} 912.00 ± 89.28	0.13 ± 0.015
N-asetil sistein	34.00 ± 03.24	^{ab} 45.20 ± 04.25	^{ac} 549.80 ± 38.56	0.06 ± 0.005
Penisilin-G	47.62 ± 07.11	63.75 ± 09.48	^c 369.12 ± 32.75	0.16 ± 0.030
U. dioica	44.14 ± 04.11	59.14 ± 05.50	^c 390.85 ± 47.24	^{ad} 0.21 ± 0.028
F değeri	3.671	3.516	21.945	4.103
p değeri	0.009	0.011	0.000	0.005

SHO: Standart hata ortalaması. Post-hoc Tukey's HSD ve Dunnett testi sonuçları: a: $p < 0.05$ (kontrol grubu ile karşılaştırma). b: $p < 0.05$ (phalloidin grubu ile karşılaştırma). c: $p < 0.05$ (E vitamini grubu ile karşılaştırma). d: $p < 0.05$ (N-asetil sistein grubu ile karşılaştırma).

Tablo II: Çalışmanın yedinci gününe ait biyokimya sonuçları (ortalama ± SHO), n=10.

Gruplar	ALT (serum U/L)	AST (serum U/L)	ALP (serum U/L)	T. Bilirubin (mg/dL)
Kontrol (SF)	32.00 ± 03.05	128.66 ± 01.20	214.66 ± 54.11	0.04 ± 0.003
Phalloidin	45.66 ± 05.36	^a 61.00 ± 06.80	^a 566.00 ± 36.53	0.12 ± 0.023
E vitamini	48.00 ± 11.93	^a 64.00 ± 16.09	^a 501.75 ± 44.40	0.11 ± 0.017
N-asetil sistein	31.00 ± 01.00	^a 41.50 ± 01.50	^a 514.75 ± 52.81	0.09 ± 0.010
Penisilin-G	53.50 ± 04.90	^a 71.25 ± 06.34	^a 673.00 ± 32.23	0.11 ± 0.020
U. dioica	32.66 ± 06.69	^a 43.33 ± 08.87	^a 469.66 ± 45.10	0.11 ± 0.027
F değeri	2.162	12.375	9.143	2.299
p değeri	0.127	0.000	0.000	0.110

SHO: Standart hata ortalaması. Post-hoc Dunnett testi sonucu: a: $p < 0.05$ (kontrol grubu ile karşılaştırma).

vitamini dozu Wyse ve arkadaşlarının çalışmasına göre (9), N-acetyl cysteine dozu Olson ve arkadaşlarının çalışmasına göre (10) ve Penisilin-G dozu ise Goldfrank ve arkadaşlarının çalışmasına göre (5) belirlendi. Çalışmanın dördüncü günü (sekiz saat aç bırakıldıktan sonra) tüm hayvanlardan anestezi altında kan örnekleri alındı. Daha sonra deney gruplarındaki hayvanların yarısı sakrifiye edilip mide, barsak, karaciğer ve böbrekleri çıkarılarak % 10'luk tamponlu formalinle fikse edildi. Kalan hayvanlara ise çalışmanın yedinci gününe kadar günlük tedavileri uygulandı. Sekiz saat aç bırakıldıktan sonra çalışmanın yedinci günü tüm hayvanlardan anestezi altında kan örnekleri alındı. Daha sonra hayvanların hepsi sakrifiye edilip mide, barsak, karaciğer ve böbrekleri çıkarılarak % 10'luk tamponlu formalinle fikse edildi.

Karaciğer Fonksiyonlarının Ölçümü:

Deney hayvanlarından alınan kan örnekleri, ticari kitler (Roche) kullanılarak Roche Modular

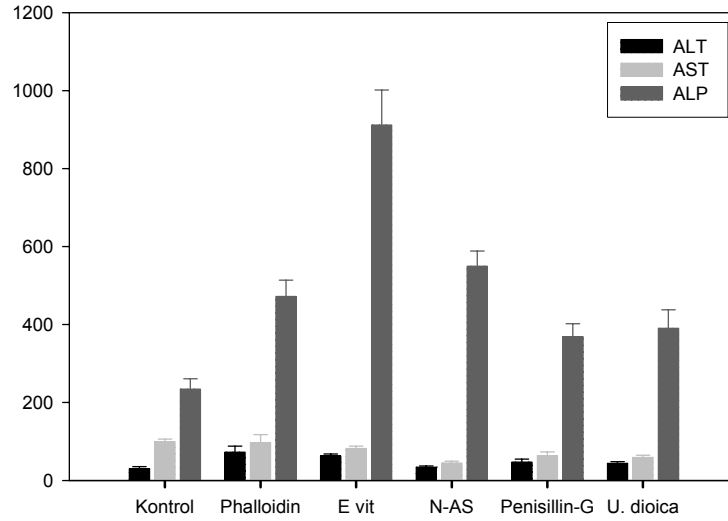
Autoanalyzer cihazında alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalin fosfataz (ALP) ve total bilirubin seviyeleri yönünden değerlendirildi.

Histopatolojik Araştırma:

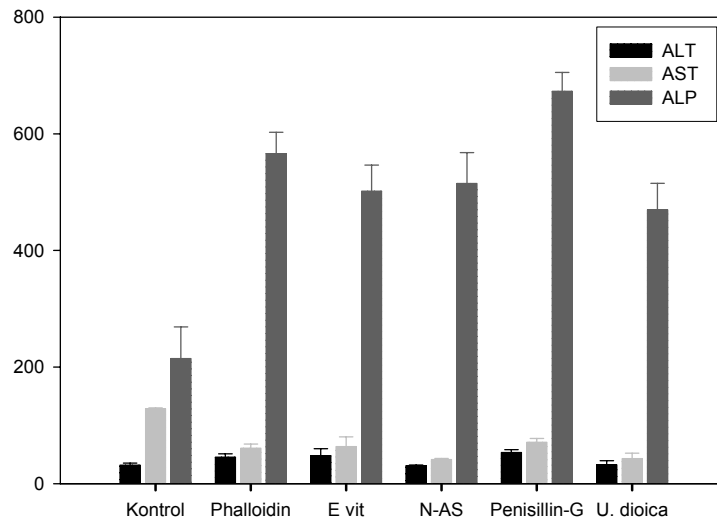
Hayvanlardan alınan mide, barsak ve karaciğer dokuları % 10'luk formalinle fikse edilip, parafin bloklara gömüldü, 4 µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilin-Eosin'le boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

İstatistiksel Analiz:

Elde edilen veriler ortalama ± standart hata ortalaması (Ort±SHO) şeklinde ifade edildi. Çalışma gruplarının kendi içinde karşılaştırılması (dördüncü gün ve yedinci gün değerleri) Student-t paired testiyle, grupların birbiri ile karşılaştırılması ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Anlamlı bulunan gruplar arasında çoklu karşılaştırma (post-hoc) testlerinden Tukey's HSD (Tukey's honestly significant difference) testi, kontrol grubu ile diğer grupların karşılaştırılmasında ise Dunnett testi



Grafik 1. Phalloidin uygulamasının 4. günündeki biyokimyasal değerler.
(N-AS: N-asetil sistein).



Grafik 2. Phalloidin uygulamasının 7. günündeki biyokimyasal değerler.
(N-AS: N-asetil sistein).

kullanıldı. Olasılık değerinin 0.05'ten küçük olması ($p < 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (11).

Sonuçlar:

Deney gruplarından çalışmanın dördüncü ve yedinci günlerinde elde edilen biyokimya değerleri Tablo 1, Tablo 2, Grafik 1 ve Grafik 2'de verilmiştir. Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında (örneğin kontrol grubuna ait 4. gün ile 7. gün değerleri); serum ALP seviyesinin E vitamini, N-asetil sistein ve penisilin-G gruplarında anlamlı farklılık gösterdiği, diğer biyokimyasal değişkenler açısından gruplar arasında istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık

olmadığı saptandı. Buna göre serum ALP seviyesi, E vitamini ve N-asetil sistein gruplarında dördüncü gün değerlerine göre yedinci günde anlamlı derecede azaldığı, penisilin-G grubunda ise yükseldiği tespit edildi.

Çalışmanın dördüncü günü ölçülen biyokimya parametreleri çalışma grupları arasında incelendiğinde; serum ALT değerinin phalloidin grubunda serum fizyolojik kontrol grubuna göre anlamlı seviyede yükseldiği, serum AST değerinin N-asetil sistein grubunda phalloidin grubu ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede düştüğü, serum ALP

değerinin phalloidin, E vitamini ve N-asetil sistein gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği, serum total bilirubin değerinin ise *Urtica dioica* grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği saptandı. Çalışmanın yedinci günü ölçülen biyokimya parametreleri çalışma grupları arasında incelendiğinde ise; serum ALT ve total bilirubin değerleri yönünden gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı, serum AST değerinin tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede düştüğü, serum ALP değerinin ise yine tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği tespit edilmiştir.

Histopatolojik Araştırma:

Histopatolojik yönden mide, barsak ve karaciğer kesitlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiş, ancak makroskopik incelemede mide ve barsakların distandü olduğu tespit edilmiştir.

Tartışma

Çalışmanın dördüncü günü yapılan biyokimyasal ölçümlerde serum ALT seviyesinin yalnızca phalloidin grubunda yüksek, diğer gruplarda ise kontrol grubundan farksız bulunması, parenteral yolla phalloidin uygulamasının hepatotoksik etkiye neden olacağı yönündeki bilgiyi (4) destekler niteliktedir. Diğer tüm çalışma gruplarının serum ALT değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farksız bulunmasına karşın E vitamini grubu serum ALT değerinin phalloidin grubu serum ALT değerine oldukça yakın olduğu da dikkati çekmektedir. Serum AST değeri yönünden N-asetil sistein grubunun değerleri kontrol grubu ve phalloidin grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Kontrol grubu ile phalloidin grubu arasında serum AST değeri yönünden anlamlı bir farklılık olmamasından dolayı bu durum dikkate alınmamıştır. Ancak N-asetil sistein grubundaki hem dördüncü hem de yedinci güne ait serum AST değeri düşüklüğü dikkat çekicidir ve bu durumun deney hayvanlarının bireysel farklılığından mı yoksa gerçekten N-asetil sistein'in serum AST değerini düşürmesinden mi ileri geldiği araştırılabilir. Nitekim yapılan literatür taramasında bu konuya ilişkin bir bilgiye ulaşılamamıştır.

Çalışmanın dördüncü gününde serum ALP değerlerinin, özellikle E vitamini grubunda olmak üzere diğer tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı seviyede yüksek oluşu; phalloidin uygulamasının hepatobiliyer yapıya zarar verdiği (12, 13), E vitamininin ise bu zararı daha da potansiyalize ettiği yönünde değerlendirilmiştir. Serum total bilirubin değeri *Urtica dioica* grubunda kontrol ve N-asetil sistein gruplarına göre anlamlı seviyede yüksek bulunmuş, fakat bu değer hiberbilirubinemi sınırının çok altında olması nedeniyle (14) patolojik bir bulgu olarak dikkate alınmamıştır. Çalışmanın

dördüncü günü biyokimyasal bulgular içerisinde N-asetil sistein grubuna ait serum ALT, AST ve total bilirubin değerlerinin diğer grupların hepsinden daha aşağı seviyelerde olması yine dikkati çekmektedir.

Çalışmanın yedinci günü yapılan biyokimyasal ölçümlerde serum ALT ve total bilirubin değerlerinin anlamlı derecede farklılık göstermediği, buna karşılık serum AST ve ALP değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklılığa sahip olduğu tespit edilmiştir. Serum AST değerleri yönünden çalışmanın dördüncü ve yedinci günü yapılan ölçümler birbirleri ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olmayışı ve yedinci gün serum AST değerlerinin kontrol grubu değerlerinin altında oluşu nedeniyle buradaki istatistiksel anlamlılığın kontrol grubu değerlerindeki yükseklikten ileri geldiği, kontrol grubundaki bu yüksekliğin ise sıçanlardaki bireysel farklılıklardan olabileceği düşünülmüştür (15, 16).

Yedinci gün serum AST ve ALT değerlerinin dördüncü gün değerlerine göre daha düşük olup kontrol grubuyla aralarında anlamlı derecede bir farklılığın olmayışı, phalloidin'in neden olduğu karaciğer hasarının ağır dereceli bir hasar olmadığı, zehirlenmenin yedinci gününde biyokimyasal parametreler yönünden normale dönebilen hafif dereceli bir hasar olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Karaciğer hasarı yönünden histopatolojik bir bulguya rastlanmayışı da phalloidin'e bağlı karaciğer hasarının ışık mikroskopuna yansiyacak derecede değil, ancak ultrastrüktürel seviyede bir hasar olabileceğini destekler niteliktedir.

Çalışmanın yedinci gününde serum ALP değerleri dikkate alındığında, tüm çalışma gruplarının kontrol grubundan anlamlı seviyede yüksek değerlere sahip olduğu, çalışmanın yedinci günü ile dördüncü günü değerlerinin kendi aralarında karşılaştırıldığında; E vitamini grubu ile N-asetil sistein grupları arasında serum ALP değerlerinin anlamlı seviyede düştüğü, penisilin-G grubunda ise anlamlı seviyede bir artış olduğu saptanmıştır. Ancak penisilin-G grubuna ait serum ALT değerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede bir farklılık göstermemesi, hasarın sadece safra yollarına lokalize olduğu yönünde değerlendirilmiştir. Serum ALP değerlerindeki farklılıklar; hepatobiliyer yapıda phalloidin'e bağlı olarak meydana gelen hasarın penisilin-G grubunda artarak, E vitamini ve N-asetil sistein grubunda azalarak, *Urtica dioica* grubunda ise anlamlı bir değişiklik göstermeden devam ettiği şeklinde yorumlanmıştır.

Sonuç olarak parenteral yolla verilen phalloidin'in, sıçanlarda serum transaminaz düzeylerine yansiyacak seviyede hafif dereceli bir hepatotoksisiteye neden olduğu; E vitamini, N-asetil sistein, penisilin-G ve *Urtica dioica* tohumu eterik yağının bu hafif karaciğer toksisitesinin ortaya çıkmasını

zehirlenmenin erken dönemlerinden itibaren önleyebileceği sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

2000 TF055 no'lu araştırmamıza verdiği destekten dolayı Araştırma Fonu Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

The Effects of Vitamin E, N-Acetyl Cystein, Penicillin-G and *Urtica dioica* L. On The Phalloidin Toxicity

Abstract:

Aim: In this study we aimed to investigate the effects of vitamin E, N-acetyl cystein, penicillin-G and etheric oil extract of *Urtica dioica* L. fruits on the gastrointestinal system and liver of the phalloidin administered rats.

Method: Male Sprague-Dawley rats were divided into six groups (n=10). All the groups (except group I) received a single dose of phalloidin (0.9 mg/kg) at the beginning of the study. Group I (control group) and group II (phalloidin group) received isotonic saline solution (0.2 mL), group III vitamin E (40 mg/kg), group IV N-acetyl cystein (100 mg/kg), group V penicillin-G (400.000 U) and group VI etheric oil extract of *Urtica dioica* L. fruits (0.5 mL/kg) during the study. The blood and tissue samples were collected from all the study groups at the 4th and the 7th days of the study. The samples were examined biochemically and histopathologically.

Results: There was no histopathological findings. On the 4th day of the study, group II had significantly higher levels of serum alanine aminotransferase (ALT), group IV had significantly lower levels of serum aspartate aminotransferase (AST), groups II, III and IV had significantly higher levels of serum alkaline phosphatase (ALP) levels, while group VI had significantly higher levels of serum total bilirubin when compared to the control group. On the 7th day of the study no significant difference were evident in the serum ALT and total bilirubin levels. In addition, serum AST levels were lower in all groups while ALP levels were significantly higher when compared to the control group.

Conclusion: The results of this study indicated that parenterally administered phalloidin led to a mild degree of hepatotoxicity. It was shown that vitamin E, N-acetyl cystein, penicillin-G and etheric oil extract of *Urtica dioica* L. fruits may prevent the hepatotoxicity in the early stage of the phalloidin administration.

Key words: Phalloidin; Mycetism; Sprague-Dawley rats, N-acetyl cystein, vitamin E, penicillin-G, *Urtica dioica* L seeds.

Kaynaklar

- Kayaalp SO: Rasyonel Tedavi Yöntünden Tıbbi Farmakoloji. Dokuzuncu baskı, Ankara, Hacettepe-TAŞ Kitapçılık, 2000.
- Dökmeci, İ: Toksikoloji (Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi). İstanbul, Fatih Gençlik Matbaası, 1988.
- Kurtoğlu S: Zehirlenmeler (Teşhis ve Tedavi). Kayseri, Erciyes Üniversitesi Yayınları No: 30, 1992.
- Vural N: Toksikoloji. Ankara, Ankara Üniv Ecz Fak Yayınları No:73, 1996.
- Goldfrank LR, Flamenbaum NE, Lewin NA, Weisman RS, Hawland M Ann, Hoffman RS: Goldfrank's Toxicologic Emergencies, sixth ed. In: Mushrooms: Toxic and Hallusinogenic. Editet by: Goldfrank LR. Printed in USA, 1998, pp: 1207-1220.
- Loranger A, Barriault C, Yousef IM, Tuchweber B: Structural and functional alterations of hepatocytes during transient phalloidin-induced cholestasis in the rat. Toxicol Appl Pharmacol 137(1): 100-111, 1996.
- Wdowinski JM, Schwedes U, Faulstich H, Dancygier H, Leuschner U, Siede WH, Hubner K, Schoffling K, Usadel KH: Beneficial effect of somatostatin in phalloidin-intoxicated rats. Influence on survival rate, biochemical and morphological data, and 3H-demethylphalloin absorption rate by the liver. Res Exp Med (Berl) 178(2): 155-163, 1981.
- Türkdoğan MK, Özbek H, Yener Z, Tuncer İ, Uygan İ, Ceylan E: The role of *Urtica dioica* and *Nigella sativa* in the prevention of Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Phytotherapy Research 17: 942-946, 2003.
- Wyse AT, Stefanello FM, Chiarani F, Delwing D, Wannmacher CM, Wajner M: Arginine administration decreases cerebral cortex acetylcholinesterase and serum butyrylcholinesterase probably by oxidative stress induction. Neurochem Res 29(2): 385-389, 2004
- Olson RD, MacDonald JS, vanBoxtel CJ, Boerth RC, Harbison RD, Slonim AE, Freeman RW, Oates JA: Regulatory role of glutathione and soluble sulfhydryl groups in the toxicity of adriamycin. J Pharmacol Exp Ther 215(2):450-454, 1980.
- Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V: Biyoistatistik. Sekizinci baskı, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi, 1998.
- Ishizaki K, Kinbara S, Miyazawa N, Takeuchi Y, Hirabayashi N, Kasai H, Araki T: The biochemical studies on phalloidin-induced cholestasis in rats. Toxicol Lett 90: 29-34, 1997.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW: Harper's Biochemistry, 25th ed. In: Enzymes: General properties. Edited by Rodwell VW, Kennelly PJ. Printed in USA, 2000, pp: 74-85.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW: Harper's Biochemistry, 25th ed. In: Porphyrins and bile pigments. Edited by Murray RK. Printed in USA 2000, pp: 359-373.
- Babu BH, Shylesh BS, Padikkala J: Antioxidant and hepatoprotective effect of *Acanthus ilicifolius*. Fitoterapia 72: 272-277, 2001.
- Rao KS, Mishra SH: Antihepatotoxic activity of monomethyl fumarate isolated from *Fumaria indica*. J Ethnopharmacol 60: 207-213, 1998.