

Bıldırcın Yumurtasının Sıçanlarda Karbon Tetraklorürle Oluşturulmuş Deneysel Karaciğer Toksikitesi Üzerine Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Yönden Araştırılması

Hanefi Özbek^a AbuzerTaş^b İrfan Bayram^c İlyas Tuncer^d

Ebubekir Ceylan^e Mehmet Tütüncü^e

^a Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji ABD, Van, TÜRKİYE

^b Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Özalp Meslek Yüksekokulu, Van, TÜRKİYE

^c Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji ABD, Van, TÜRKİYE

^d Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji ABD, Van, TÜRKİYE

^e Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Van, TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada bıldırcın yumurtasının hepatoprotektif etkisini araştırmak için 30 adet Sprague-dawley sıçan kullanıldı. Onarlı üç grup (Kontrol, CCl₄, Bıldırcın Yumurtası + CCl₄) oluşturuldu. Çalışma süresince sıçanların ağırlıkları ölçüldü. Biyokimyasal parametreler (AST, ALT, LDH, Total Bilirubin, Total Protein, Trigliserit) için kan alındı. Çalışma sonunda sıçanlar sakrifiye edilerek karaciğerlerinin histopatolojilerine bakıldı. Bütün biyokimyasal parametrelerde yükselme gözlenirken (p<0.05, p<0.01), total protein değerlerinde düşüş gözlemlendi. Histopatolojik bulgular bıldırcın yumurtasının karaciğer toksisitesi üzerinde koruyucu bir etkisinin olmadığını gösterdi. Ancak karaciğer toksisitesinin meydana getirdiği aşırı kilo kayıplarını azaltarak vücudun direncini arttırdığı gözlemlendi. Sonuç olarak bıldırcın yumurtasının karaciğer toksisitesinde, diğer hepatoprotektif etkili olduğu bilinen ajanlarla kullanıldığında daha faydalı olacağı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Bıldırcın yumurtası, Karbon tetraklorür, Hepatoprotektif etki, Sprague-dawley sıçan.

Biochemical and histopathologic Investigation of effects of quail egg on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in Rats

Abstract: In this study, 30 Sprague-dawley rats were used to investigate hepatoprotective effect of quail egg. The rats were divided into three groups (n=10) (Control, CCl₄, Quail egg+CCl₄). The weight of the rats were measured during the study. Blood was obtained for biochemical purposes (AST, ALT, LDH, Total Bilirubin, Total Protein, Trigliserit). At the end of the study, the rats were sacrificed and the liver was examined histopathologically. While seen in decrease in total protein level, it was recorded an increase in the other biochemical parameters. In histopathological examination, it was not seen protective effect on liver toxicity of quail egg. But it was established that severe weight loss due to liver toxicity was decreased and, body resistance was increased. In conclusion, it may be more useful when the quail egg could be used with together other hepatothoprotective effect agents on liver toxicity.

Key words: Quail egg, Carbon tetrachloride, hepatoprotective effect, Sprague-dawley sıçan.

Giriş

Bildircinler Coturnix türüne ait canlılardır. Türkiye'de yaşayanlar ise Coturnix coturnix alt türleridir. Bildircinler 42-45 günlükken yumurtlamaya başlar ve 12 ay boyunca yumurta verirler(1).

Bildircin yumurtası tavuk yumurtasına oranla besin madde içeriği bakımından oldukça zengindir. Bir tavuk yumurtasına eşit sayabileceğimiz beş bildircin yumurtasında, fosfor beş kat, demir yedi-sekiz kat, B1 vitamini altı kat, B12 vitamini ise 15 kat daha fazla bulunmuştur. Bildircin yumurtasının % 60.5'ini yumurta akı, % 31-32'sini yumurta sarısı, %7.5'ini yumurta kabuğu ve %1'ini ise kabuk zarları oluşturur (2).

Yumurta sarısında ise %51.8 su, %13.4 protein, %32.4 yağ, %1.4 kül ve %1.0 diğer maddeler bulunmaktadır. Renkli ve albino Japon bildircinleri ile yapılan bir araştırmada, yumurta sarısında 12.6-13.8 mg kolesterol olduğu bildirilmiştir (3).

Karaciğer, dışarıdan çeşitli yollarla vücuda giren toksik maddelerin ayrıca kemoterapötik ajanların metabolizması ve eliminasyonu için vücudun anahtar organıdır. Karaciğerin hastalıkları tüm dünyada önemini hala koruyan bir problem olmakta devam etmektedir. Karaciğer hastalıklarının tedavisinde halen kullanılmakta olan ilaçlar bile tedavide bazen yetersiz kalabilmekte ve ayrıca ciddi yan etkiler gösterebilmektedir. Bu yüzden insan sağlığı için karaciğere özgü daha güvenli ilaçları araştırmaya ve geliştirmeye ihtiyaç vardır (4).

Bu çalışma bildircin yumurtasının sıçanlarda CCl₄ ile oluşturulmuş karaciğer toksisitesinde hepatoprotektif etkisinin olup olmadığını araştırmak için planlandı.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada 180-200 gr ağırlığında erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar standart kafeslerde tutuldu. Yiyecek ve su ad libitum olarak verildi. Hayvanlar YYÜ Tıp Fakültesi deney hayvanları ünitesinde kontrollü olarak barındırıldı. Etik kurul raporu YYÜ Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alındı (Etik Kurul karar sayısı: 2002/01-17).

Bildircin yumurtası piyasadan temin edildi. CCl₄ (Merck KgaA, 64271 Darmstadt, Germany)

ticari olarak alındı. Diğer kimyasal maddeler YYÜ Tıp Fakültesinden temin edildi.

CCl₄ ile karaciğer toksisitesi oluşturmak için CCl₄ 1:1 oranında zeytin yağı ile dilue edilerek 0.8ml/kg dozda i.p.yolla verildi (5).

Otuz adet albino sıçan herbiri 10 hayvandan oluşan üç gruba ayrıldı. Birinci grup (Grup I) kontrol grubu olarak kullanıldı ve bu gruba sadece intra peritoneal yolla (i.p.) 0.5 ml serum fizyolojik verildi. İkinci gruba (Grup II) 7 gün süreyle 0.8 ml/kg i.p. yolla günde bir kez CCl₄ (zeytin yağıyla 1:1 dilue edilerek) verildi. Üçüncü gruba ise (Grup III) ilk 3 gün vücut alışsın diye sadece bildircin yumurtası sarısı per oral yolla (p.o.) verildi, daha sonra 7 gün süreyle CCl₄ 0.8 ml/kg i.p. yolla ve bildircin yumurtası sarısı 1.000 mg/kg, p.o. günde bir kez verildi. Bütün hayvanlar günlük olarak gözlemlendi, vücut ağırlıkları ölçüldü. Çalışmanın başında ve sonunda kan örnekleri intrakardiyak girişimle kalpten alındı. Alınan bu kanların serumları ayrılarak AST, ALT ve LDH ile total bilirubin, total protein ve trigliserit düzeyleri belirlendi. Bunlar için Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda bulunan Roche Modular Autoanalyzer kullanıldı.

Aşağıdaki formüle göre vücut ağırlıklarındaki günlük değişim yüzde olarak belirlendi.

$$\text{Vücut ağırlığındaki değişim (\%)} = 100 \times \frac{(\text{Ağırlık}_n - \text{Ağırlık}_{\text{başlangıç}}) / \text{Ağırlık}_{\text{başlangıç}}}{\text{günündeki vücut ağırlığı}}$$

Ağırlık_n : Hayvanın çalışmanın n. günündeki vücut ağırlığı.

Ağırlık_{başlangıç} : Hayvanın çalışmanın ilk günü ölçülen vücut ağırlığı.

Çalışmanın sonunda bütün hayvanlar kurban edilerek karaciğerleri alındı. %10'luk nötral buffered formalinde tespit edilip parafin bloklar içerisine gömüldü. Bloklar 4 µm kalınlığında kesilerek HE (hematoxylin-eosin) ve Masson's Trichrome boyalarıyla boyandı. Histolojik zarar aşağıdaki şekilde skorlandı:

0 : Hasar yok,
+ : Hafif hasar,
++ : Orta derecede hasar,
+++ : Şiddetli hasar;
++++ : Çok şiddetli hasar.

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi. İstatistik analiz için One-way ANOVA (Tek yönlü varyans analizi) yöntemi kullanıldı. Anlamlı çıkan değişkenler için post-hoc LSD (least

significant difference) testi kullanıldı (6).

Tablo I' de, ağırlık değişimlerinin ortalama, standart hata ve varyans analizi sonuçları Tablo II ve Grafik I'de gösterilmiştir.

BULGULAR

Her üç grubun AST, ALT, LDH, Total Bilirubin, Total Protein ve Trigliserit değerlerinin ortalama, standart hata ve varyans analizi sonuçları

Tablo I : Gruplara ait biyokimyasal veriler (ortalama ± Standart hata) (n=10)

GRUP	AST Serum (U/L)	ALT Serum (U/L)	LDH Serum (U/L)	T. Bilirubin (mg/dl)	T. Protein (gr/dl)	Trigliserit mg/dl)
Kontrol	147,6 ± 49,2	42,7 ± 8,2	920,3 ± 405,1	0,06 ± 0,02	6,64 ± 0,16	62,8 ± 21,5
CCl ₄	1169,0 ± 750,9	988,3 ± 653,3	^c 2929,3 ± 1043,9	^b 0,18 ± 0,04	^b 6,01 ± 0,27	50,0 ± 18,0
Bil.Yum.	^a 1884,6 ± 1630,3	^b 1724,2 ± 1811,2	^c 3229,4 ± 926,2	^c 0,21 ± 0,10	^b 5,96 ± 0,27	^d 80,2 ± 12,6
<i>F-değeri</i>	*4,386	*4,754	***21,163	**12,103	**11,953	*3,617

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Post-hoc LSD (least significant difference) testi sonuçları:

- a :** p<0.05 Kontrol grubuyla karşılaştırma.
b : p<0.01 Kontrol grubuyla karşılaştırma.
c : p<0.001 Kontrol grubuyla karşılaştırma.
d : p<0.05 CCl₄ grubuyla karşılaştırma.

Tablo II : Grupların günlük ağırlık değişimlerinin ortalama ve standart hata değerleri.

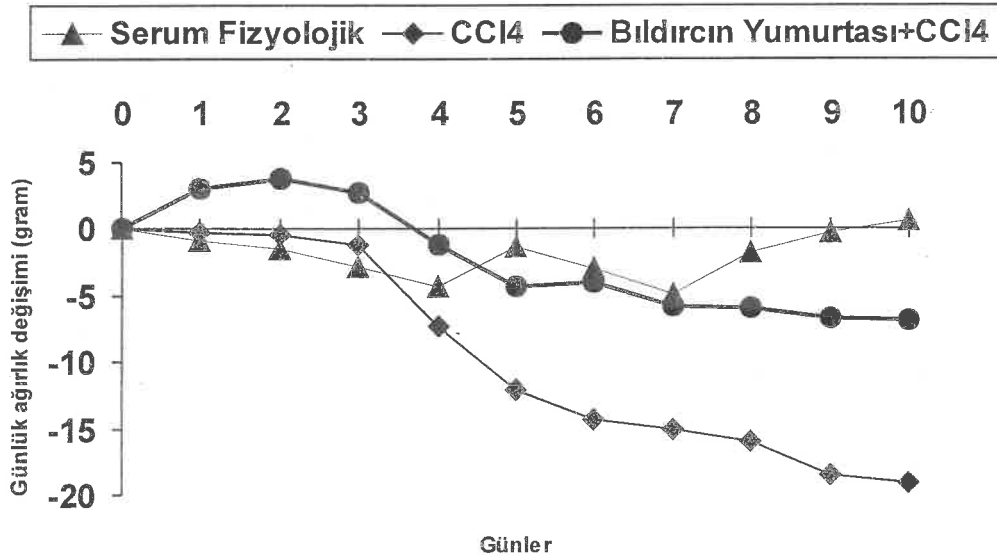
Grup	Ölçümler						
	1	2	3	4	5	6	7
I	-4,23±2,85	-1,26±2,85	-2,90±2,69	-4,85±3,02	-1,75±2,71	-0,23±2,20	0,66±2,68
II	^a -0,13±2,45	-3,43±2,69	-4,64±2,52	-4,73±2,52	^b -7,06±2,43	^c -7,46±2,60	^c -11,18±2,74
III	^c 2,82±1,50	-1,06±0,38	-4,13±1,81	-3,78±1,91	^a -5,59±1,20	^b -5,87±1,91	^{bd} -6,55±2,51
<i>F</i>	*12,167	1,798	0,824	0,278	*8,652	**16,443	**30,199

Varyans analizi sonuçları:

* : p<0.01, ** : p<0.001

Post-hoc LSD (least significant difference) testi sonuçları:

- a :** p<0,05 kontrol grubu ile karşılaştırma.
b : p<0,01 kontrol grubu ile karşılaştırma.
c : p<0,001 kontrol grubu ile karşılaştırma.
d : p<0,01 CCl₄ grubuyla karşılaştırma.



Grafik 1. Üç grubun günlük vücut ağırlığı değişimlerinin gösterilmesi.

CCl₄ uygulanan sıçanların karaciğerlerinde yaygın balon dejenerasyonları gözlemlendi. Balonlaşmış hepatositler normalden büyük ve büyüklükleri de birbirinden farklıydı. Hepatositlerde az miktarda apoptoz, sentrilobüler nekroz ve köprüleşme nekrozu mevcuttu. Fibrozis görülmedi.

CCl₄ + bıldırcın yumurtası verilen karaciğerlerde ise CCl₄ uygulanan gruptakiyle benzer bulgular gözlemlendi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada sıçanlarda CCl₄'le oluşturulan karaciğer toksisitesini bıldırcın yumurtası sarısının önleyici etkisinin bulunup bulunmadığı araştırıldı.

CCl₄ uygulanan karaciğer hepatositlerinde balon dejenerasyonu, apoptoz, sentrilobüler nekroz ve köprüleşme nekrozları meydana geldiği (4, 7, 8), ayrıca karaciğer fonksiyon testlerinde önemli yükselmeler olacağı bildirilmektedir (7, 9). Bu çalışmada histopatolojik yönden hem CCl₄ grubunda hem de CCl₄+bıldırcın yumurtası grubunda elde edilen bulgular yukarıdaki araştırmacıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmada CCl₄+bıldırcın yumurtası grubu ve CCl₄ grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında AST, ALT ve trigliserit (p<0,05), LDH (p<0,001), total bilirubin ve total protein (p<0,01) değerlerinde artış gözlenmiştir. CCl₄+bıldırcın yumurtası grubu CCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında sadece trigliserit değerlerinde bir artış mevcuttur (p<0,05).

CCl₄ uygulanan hayvanlarda, karaciğer görevini yeterince yapamadığı için hayvanların yemden yararlanamaması dolayısıyla vücut ağırlıklarında azalmalar görülmektedir (7). CCl₄+bıldırcın yumurtası grubu ile CCl₄ grubu, serum fizyolojik uygulanan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında vücut ağırlıklarında azalma gözlemlendi (1 ve 5. gün p<0,05, 6 ve 7.gün p<0,01). CCl₄+bıldırcın yumurtası grubu CCl₄ grubuyla karşılaştırıldığında sadece 7. günde p<0,01 düzeyinde düşme vardı. Genel olarak tüm dönemlerde vücut ağırlığındaki düşüş CCl₄+bıldırcın yumurtası grubunda CCl₄ grubuna göre daha azdı.

Sonuç olarak, CCl₄ kullanarak oluşturulan hepatotoksistide bıldırcın yumurtasının hepatoprotektif etkisinin olmadığı, ancak CCl₄'ün oluşturduğu vücut ağırlığı azalmasını önlediği ve hepatoprotektif etkinliği bilinen diğer ajanlarla birlikte kullanıldığında daha faydalı olacağı kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

- 1- Yorgancıoğlu Yİ. Bildircin Yetiştiriciliği. Seminer. Ankara, (1994).
- 2- Zucker H, Gropp J, Peh J, Zentz CH. Erfahrungen mit der japanischen wachtel (Coturnix Japonica) als labartier sowie einige ergebnisse voh nährstoff bedar untersuchungen. Tierartzliche Umschau 8: 416-435, (1967).
- 3- Poyraz Ö. Egg yolk cholesterol levels in chicken and Japanese quail. Ank. Üniv. Vet. Fak. Derg, (1990).
- 4- Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA, Weisman RS, Howland MA, Hoffman RS. Goldfrank's Toxicologic Emergencies. Sixth edition. Part B. The Biochemical and Molecular Basis of Medical Toxicology. Appleton-Lange Press. USA, (1998).
- 5- Handa SS, Sharma A. Hepatoprotective activity of andrographolide from *Andrographis paniculata* against carbontetrachloride. Indian J Med Res [B] ; 92: 276, (1990).
- 6- Sümülüoğlu K, Sümülüoğlu V. Biyoistatistik. Hatiboğlu Yayınevi. Ankara, (1998).
- 7- Tütüncü M. Köpeklerde deneysel nolarak oluşturulan karaciğer toksikasyonlarında klinik, hematolojik, biyokimyasal ve ultrasonografik bulgular. Doktora Tezi, Y. Y. Ü. Sağlık Bil. Enst. Van, (1998).
- 8- Ringler DJ, In: Carroll C, Veterinary Pathology. 6th ed., MD, Williams and Wilkins. USA. pp:113-158, (1997).
- 9- Yenson, M. Klinik Biyokimya Laboratuvar Çalışmaları, Beta Yayınları, 6. Baskı, İstanbul, (1986).