



Simvastatin'in Fare (*Mus musculus C. Linnaeus*) Karaciğeri Üzerine Etkilerinin Histopatolojik Yöntemlerle Araştırılması

Hasan ASKER *¹, Yusuf ERSAN²

¹Uşak Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji A.D. ,Uşak

²Karabük Üniversitesi, Tıp Fakültesi Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji A.D., Karabük

(İlk Gönderim / Received: 27. 12. 2017, Kabul / Accepted: 30. 12. 2017, Online Yayın / Published Online: 31. 12. 2017)

Anahtar Kelimeler

Histopatoloji,
Karaciğer,
Mus musculus,
Simvastatin

Özet: Bu çalışmada, oral yolla Simvastatin uygulamasının fare (*Mus musculus C. Linnaeus*) karaciğer dokusu üzerine etkisi histopatolojik yöntemlerle araştırıldı. Çalışmada rastgele seçilen 20 erkek fare iki gruba ayrıldı. I. gruba (kontrol, n:10) 30 gün boyunca normal çeşme suyu içirildi.II. gruba (Simvastatin, n:10) 30 gün boyunca içme suyu ile 20 mg/kg simvastatin uygulandı. Simvastatin grubundaki hayvanların Kontrol grubundaki hayvanlara oranla daha az yem ve su tükettiği gözlemlendi. Deney süresi sonunda hayvanlar serebral dislokasyon yöntemi ile dekapite edilerek karaciğer doku örnekleri alındı. Simvastatin uygulanan hayvanların genelinde (7/10) abdomenlerindeki periton boşluğu ve bağırsak etrafında yoğun olarak yağ dokusu izlenirken az bir kısmında (3/10) hiç gözlenmedi. . Doku örneklerinden rutin histolojik metotlarla preparatlar hazırlandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Mikroskopik incelemelerde, kontrol grubundaki hayvanlarda histopatolojik bir bulgu saptanmadı.. Hepatositlerin ve sinüzoidal yapının normal görünümde olduğu gözlemlendi. Simvastatin grubunda ise Vena centralis (Vc) çevresinde yıkımlar tespit edildi. Vc çevresindeki karaciğer parankimasi içerisinde Mononükleer Hücre İnfiltrasyonları (MHI), hepatik hücrelerde fokal nekroz alanları, piknotikleşmiş nükleuslar ve vakuoler dejenerasyonlar gözlemlendi. Ayrıca fagositik kupffer hücre çekirdekleri de tespit edildi.

Investigation of the Effects of Simvastatin on Mouse (*Mus musculus C. Linnaeus*) Livers by Histopathological Methods

Keywords:
Histopatoloji,

Abstract: In this study, the effect of oral Simvastatin administration on the liver tissue of mice (*Mus musculus C. Linnaeus*) was investigated by histopathological methods.

*İlgili yazar: hasan.asker@usak.edu.tr/ 0276 221 2121/6246

Liver,
Mus musculus,
Simvastatin

Twenty male mice were randomly selected divided into two groups. First group (control, n = 10) were given to drink tap water for 30 days. The second group (Simvastatin, n: 10) was treated with drinking water and 20 mg / kg simvastatin for 30 days.

It was observed that animals in the simvastatin group consumed less feed and water than animals in the control group. At the end of the experiment period, animals were decapitated by cerebral dislocation and liver tissue samples were taken. In the majority of animals treated with simvastatin (7/10), the peritoneal space in the abdomen and dense fat surrounding the intestine were observed, but only a few (3/10) were observed. Preparations were prepared from tissue samples by routine histological methods and examined by light microscope. Microscopic examinations showed no histopathological findings in the control animals. It was observed that the normal appearance of the hepatocytes and sinusoidal structure was observed. In the simvastatin group, destruction was found in the Vena centralis (Vc) wall. Mononuclear Cell Infiltrations (MHI) in the liver parenchyma around Vc, focal necrosis areas in hepatic cells, picnotiated nuclei and vacuolar degenerations were observed. In addition, phagocytic kupffer cell nuclei were also detected.

1. Giriş

Statinler, HMG-CoA (3-hidroksi-3 metil-glutaril-koenzim A) enzimini inhibe ederek kolesterol sentezinin yavaşlamasına neden olmaktadır (Endo, 1992). LDL (düşük dansiteli lipoprotein) seviyesini en iyi düşüren ve kullanımı pratik olan ilaçlar kategorisinde statinler gelmektedir (Bilheimer ve ark., 1983). Kolesterol içeriği karaciğerde azaldığında LDL reseptörlerinde artış meydana gelmekte ve serum LDL seviyesi düşmektedir (LaRosa ve ark., 1999).

Hücre içine giren statinler, kolesterol sentezini düşürerek kolesterol homeostazında yer alan proteinlerin sentezini arttırmaktadır. Oksidatif stresin azalması ve endotelial fonksiyonların düzenlenmesinde sağladıkları

bilinmektedir (Crawford ve DiMarco, 2003; Topol, 2004).

Karaciğer, kolesterol sentezinin büyük bir oranın yapıldığı insan vücudundaki en büyük bezdir (Junqueira's basic histoloji ve (Hsiang ve ark., 1999). Statinlerin karaciğerdeki inhibisyon seviyesini azaltabileceği ve potansiyel yan etkiler meydana getirebileceği bildirilmiştir (Hsiang ve ark., 1999).

Bu etkilerden bazıları; akut karaciğer yetersizliği, hepatit, kolestaz ile asemptomatik AST ve ALT yükselmesi çok nadir olarak rapor edilmiştir (Dujovne, 2002; Gotto, 2006).

Statinler, atardamar hücrelerinin bölünme oranını normalden 7-13 kat hızlandırmakta ve atardamarları tıkararak kalp krizine yol açan yağ plaklarının birikimini engelleyerek atar damar hücrelerinin işlevini

düzenlediği ve dolayısıyla kalp krizi riskini azalttığı bildirilmiştir (Mahmoudi ve ark., 2008).

Bu çalışmada; kolesterol tedavisinde yaygın olarak kullanılan etken madde olan statinlerin karaciğer üzerine olan etkileri histopatolojik yöntemlerle incelenmiştir.

2. Materyal Yöntem

2.1. Hayvan Materyali

Araştırmada Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilen 45-50 günlük 30-35 gram ağırlığında 20 adet erişkin erkek fare 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.

2.2. Deney Düzenegi

Çalışmamızda rastgele seçilen 20 erkek fare kullanıldı. Her grupta 10 fare bulunan iki grup oluşturuldu. I. gruptaki hayvanlar kontrol grubu olarak belirlendi ve 30 gün boyunca normal içme suyu verildi. II. gruptaki hayvanlar ise 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 alınarak rutin histolojik incelemelere tabi tutuldu.

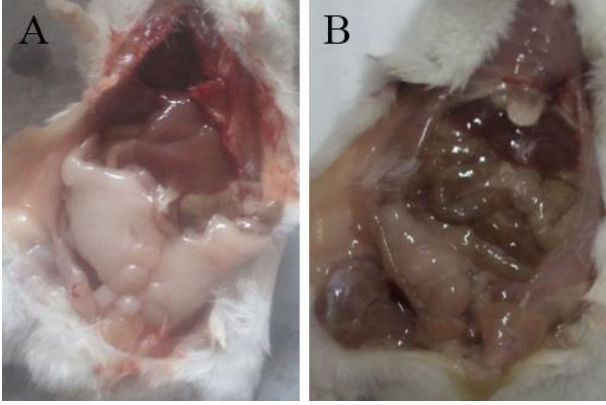
2.3. Histopatolojik İncelemeler

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 (H-E) boyama metoduna göre boyandı. Elde edilen bu preparatlar daha sonra ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi.

3. Bulgular

3.1. Makroskobik Bulgular

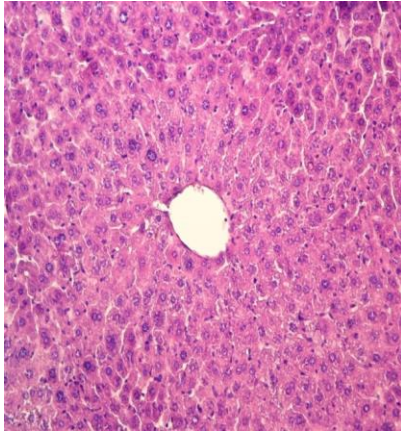
Bu araştırmada Simvastatin uygulanan hayvanların Kontrol grubundaki hayvanlara oranla %10'a yakın oranda daha az su ve %30'a yakın oranda daha az yem tükettiği gözlemlendi. Deney sonrasında operasyonla açılan hayvanların genelinde (7/10) abdomenlerindeki periton boşluğu ve bağırsak etrafında yoğun olarak yağ dokusu izlenirken (Şekil 1A) az bir kısmında hiç gözlenemedi (Şekil 1B).



Şekil 1. Kontrol (A) ve Simvastatin (B) grubu

3.2. Mikroskopik Bulgular

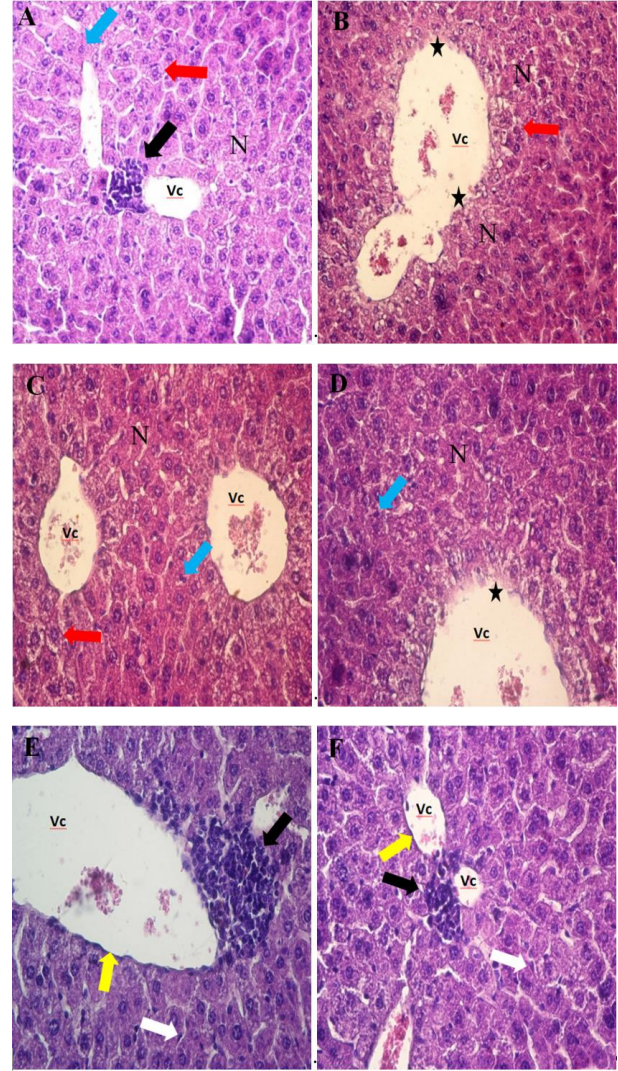
Kontrol grubundaki hayvanların karaciğer dokusundan elde edilen preparatların tümünün incelemesinde genel olarak histopatolojik bir bulgu saptanmamış, hepatositler ve sinüzoidal yapının normal görünümde olduğu gözlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Kontrol grubu karaciğer dokusu, H-E, 20x

Simvastatin uygulanan gruptaki hayvanların karaciğerler dokularından elde edilen preparatlarda ise Vc duvarına yakın karaciğer parankiması içerisinde MHI (siyah oklar), hepatik hücrelerde fokal nekroz alanları (N), yer yer piknotikleşmiş nükleusların (mavi

oklar) vakuoler dejenerasyonlar (kırmızı ok) ve Vc'in duvarında yıkım olduğu (yıldız) gözlemlendi. Ayrıca kupfferin fagositik hücre çekirdekleri (beyaz ok) ve Vc'i oluşturan damar duvarının tek katlı yassı epiteli (sarı ok) de izlenebildiği tespit edildi (Şekil 3; A-B-C-D-E-F).



Şekil 3. B (20x) A-C-D-E-F (40x) : Simvastatin grubu karaciğer dokuları, H-E boyama (Vc: Vena centralis, Siyah ok: MHI, 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).

4. Tartışma Sonuç

HMG-CoA'yı inhibe ederek, kolesterol sentezinde yavaşlatıcı etki gösteren statinler, hücre içerisinde kolesterol seviyesini düşürmektedirler (Endo, 1992; Topol, 2004).

Adik (2006) yapmış olduğu çalışmanın sonucunda karaciğer enzimleri yüksek, nonalkolik karaciğer yağlanması olan ve aynı zamanda hiperlipidemisi olup statin tedavisi endikasyonu olan hastalarda statin kullanımının güvenli olduğunu belirtmiştir. Kiortsis ve ark., (2003) yaptığı çalışmada, lipid düşürücü ilaçların obez hastalarda karaciğer enzimleri üzerindeki etkilerini incelemişler ve 6 aylık uygulama sonucunda, statinlerin, hiperlipidemik hastaların tedavisinde güvenle kullanılabilir ilaçlar olduğunu bildirmişlerdir. Chalasani (2005) yaptığı çalışmada, 6 aylık takip sonucu karaciğer enzimleri yüksek hastaların statin kullanımına bağlı hepatotoksisite açısından yüksek riskli olmadığı sonucuna varılmıştır. Hatzitolios ve ark., (2004) yaptığı çalışmada, statin uygulamasına bağlı olarak hepatotoksisite görülmediğini belirtmişlerdir. Rallidis ve ark., (2004) yaptığı çalışmada; Statinlerin Nonalcoholic steatohepatitis (NASH)'de oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltarak olumlu etki yaptığını bildirmişlerdir. Kiyici ve ark., (2003) yaptığı çalışmada, hiperlipidemik

NASH hastalarında atorvastatin kullanımı yararlı ve güvenli bulunmuştur.

Diğer taraftan, 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. 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 Vc'te hiperemi ve apoptozis gözlemlendiğini belirtmiştir.

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 tespit edilmiş, az bir kısmında hiç yağ dokusu olmadığı tespit edildi.

Mikroskopik incelemede ise, kontrol grubundaki hayvanların genel olarak karaciğer dokusunda histopatolojik bir bulgu saptanmadığı, hepatositler ve sinüzoidal yapının normal görünümde olduğu belirlenmiştir. Simvastatin uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokularından elde edilen preparatlarda ise Vc'i oluşturan damar duvarında yıkımlar tespit edildi. Ayrıca Vc'lere

yakın konumdaki karaciğer parankimasi içerisinde MHI, hepatik hücrelerde fokal nekroz alanları, yer yer piknotikleşmiş nükleuslar ve vakuoler dejenerasyonlar gözlemlendi.

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.

Kaynaklar

- Adik, A. (2006). Nonalkolik Karaciğer Yağlanması Statin Tedavisinin Karaciğer Enzim Profili Üzerine Olan Etkileri. T.C. Haydarpaşa Numune Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği.
- Arslan, G. (2008). Yüksek dozda Simvastatin'in Ratlarda oluşturduğu Hepatotoksisite Üzerine N-Asetil Sistein'in Etkisi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Bilheimer, D. W., Grundy, S. M., Brown, M. S., ve Goldstein, J. L. (1983). Mevinolin and Colestipol Stimulate Receptor-Mediated Clearance of Low Density Lipoprotein from Plasma in Familial Hypercholesterolemia Heterozygotes. *Proceedings of The National Academy of Sciences of the United States of America*, 80 (13), 4124–4128.
- Chalasanı, N. (2005). Statins and Hepatotoxicity: Focus on Patients with Fatty Liver. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 41 (4), 690–695.
- Crawford, M. ve DiMarco, J. (2003). Hiperlipidemi Tedavisi. İçinde: Crawford Kardiyoloji. 1–18.
- Dujovne, C. A. (2002). Side Effects of Statins: Hepatitis Versus “Transaminitis”-Myositis Versus “CPKitis”. *The American Journal of Cardiology*, 89 (12), 1411–1413.
- Endo, A. (1992). The Discovery and Development of HMG-CoA Reductase Inhibitors. *Journal of Lipid Research*, 33 (11), 1569–1582.
- Gotto, A. M. (2006). Statins, Cardiovascular Disease, and Drug Safety. *The American Journal of Cardiology*, 97 (8, Supplement 1), S3–S5.
- Hatzitolios, A. Savopoulos, C., Lazaraki, G., Sidiropoulos, I., Haritanti, P., Lefkopoulos, A., Karagiannopoulou, G., Tzioufa, V., ve Dimitrios, K., (2004). Efficacy of omega-3 fatty acids, atorvastatin and orlistat in non-alcoholic fatty liver disease with dyslipidemia. *Indian Journal of Gastroenterology: Official Journal of the*

- Indian Society of Gastroenterology, 23 (4), 131–134.
- Hsiang, B., Zhu, Y., Wang, Z., Wu, Y., Sasseville, V., Yang, W. P., ve Kirchgessner, T. G.,(1999). 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. The Journal of Biological Chemistry, 274 (52), 37161–37168.
- Kiortsis, D. N., Nikas, S., Hatzidimou, K., Tsianos, E., ve Elisaf, M. S. (2003). Lipid-Lowering Drugs and Serum Liver Enzymes: The Effects of Body Weight and Baseline Enzyme Levels. Fundamental & Clinical Pharmacology, 17 (4), 491–494.
- Kiyici, M., Gulden, M., Gurel, S., Nak, S. G., Dolar, E., Savci, G., Adim, S. B., Yerci, O., ve Memik, F. (2003). Ursodeoxycholic Acid and Atorvastatin in The Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. Canadian Journal of Gastroenterology = Journal Canadien De Gastroenterologie, 17 (12), 713–718.
- LaRosa, J. C., He, J., ve Vupputuri, S. (1999). Effect of Statins on Risk of Coronary Disease: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. JAMA, 282 (24), 2340–2346.
- Mahmoudi, M., Gorenne, I., Mercer, J., Figg, N., Littlewood, T., ve Bennett, M. (2008). Statins Use A Novel Nijmegen Breakage Syndrome-1-Dependent Pathway To Accelerate DNA Repair in Vascular Smooth Muscle Cells. Circulation Research, 103 (7), 717–725.
- Rallidis, L. S., Drakoulis, C. K., ve Parasi, A. S. (2004). Pravastatin in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis: Results of A Pilot Study. Atherosclerosis, 174 (1), 193–196.
- Topol, E. J. (2004). Intensive Statin Therapy — A Sea Change in Cardiovascular Prevention. New England Journal of Medicine, 350 (15), 1562–1564.
- Yang, H., Choi, M.-J., Wen, H., Kwon, H. N., Jung, K. H., Hong, S.-W., Kim, J. M., Hong, S.-S., ve Park, S. (2011). An Effective Assessment of Simvastatin-Induced Toxicity with NMR-Based Metabonomics Approach. PLOS ONE, 6 (2), e16641.