

## Amoksisilin Klavulanik Asit, Amoksisilin Klavulanik Asit+Vitamin Uygulamasının Ratların Böbrek ve Karaciğer Dokularındaki Malondialdehit ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi<sup>#</sup>

Emine ALTIN, Ali ERTEKİN\*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, SAMSUN

\*Corresponding author e-mail: aertekin@omu.edu.tr

<sup>#</sup> This article summarized from the same name master thesis. This research was supported by Ondokuz Mayıs University Project Management Office with project VET.1904.15.015

### ÖZ

Bu çalışmayla amoksisilin klavulanik asitin (AKA) ve vitaminlerin, sıçanların karaciğer ve böbrek dokusunda antioksidanlar ve oksidatif stres üzerine etkilerini incelemek amaçlandı. 49 Wistar–albino erkek sıçan; 1. grup: AKA, 2. grup: AKA+vitamin C, 3. grup: AKA+vitamin E, 4. grup: AKA+vitamin C+vitamin E, 5. grup: vitamin C, 6. grup: vitamin E, 7. grup: kontrol grubu olarak ayrıldı. Çalışma sonunda karaciğer ve böbrek dokusunda malondialdehit (MDA), redükte glutasyon (GSH), katalaz aktivitesi (CAT), vitamin C, total protein, plazma ALT, AST ve GGT miktarları ölçüldü. 1. grupta ALT önemli düzeyde arttı ( $p<0.001$ ). Böbrek dokusu MDA sadece 1. grupta artış gösterdi ( $p<0.05$ ). Böbrek dokusu GSH düzeylerinde 2. ve 4. grupta önemli miktarda azalma saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Böbrek dokusu CAT aktivitesi 1. grupta önemli bir artış ( $p<0.01$ ), 4. grupta ise azalma gösterdi ( $p<0.01$ ). 6. grupta CAT aktivitesinde artış gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Böbrek dokusu vitamin C 1. grupta önemli derecede düşük bulundu ( $p<0.001$ ). Karaciğer dokusu MDA grupların tamamında artış göstermiştir (1., 3. ve 5. grup,  $p<0.05$ ; 2., 4. ve 6. grup,  $p<0.01$ ). GSH sadece 4. grupta azaldı ( $p<0.01$ ). CAT aktiviteleri diğer bütün gruplarda önemli düzeyde azaldı (1. 2. grupta ( $p<0.01$ ), 6. grupta ( $p<0.05$ ). Vitamin C 1. ( $p<0.001$ ) ve 2. grupta ( $p<0.01$ ) önemli derecede azalmıştır. Total protein karaciğer dokusunda sadece 4. grupta ( $p<0.001$ ) azalmıştır. Parametrelerdeki değişimler karaciğer ve böbrek hücrelerinde oksidatif hasardan kaynaklı dejenerasyonların olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, oksidatif hasarlara karşı antibiyotiğe ek olarak antioksidanların da kullanılmasının faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelime:** Amoksisilin klavulanik asit, Antioksidanlar, Malondialdehit, Sıçan, Vitamin.

### The Effects of Amoxicillin Clavulanic Acid, Amoxicillin Clavulanic Acid + Vitamin Administration on Malondialdehyde and Antioxidant Levels in Kidney and Liver Tissues of the Rats

#### ABSTRACT

It is aimed to investigate the effects of Amoxicillin Clavulanic Acid (AKA) and vitamins on antioxidants and oxidative stress in liver and kidney tissues of the rats. 49 Wistar-albino male rats were divided into seven groups. We applied; group1: AKA, group2: AKA+vitamin C, group3: AKA+vitamin E, group4: AKA+vitamin C+vitamin E, group5: vitamin C, group6: vitamin E and group7: as a control group. At the end of the study Malondialdehyde(MDA), reduced glutathione(GSH), catalase activities(CAT), vitaminC, total protein levels in liver and kidney tissues of the rats were analyzed, and plasma ALT, AST and GGT levels were measured. The ALT increased significantly in Group1( $p<0.001$ ). Renal tissue MDA increased in only group1( $p<0.05$ ). A significant decrease was determined in GSH levels in group2 and 4( $p<0,05$ ). CAT showed a significant increase in group1( $p<0.01$ ) and a decrease in group4( $p<0.05$ ). Group6 showed an increase in CAT activity( $p<0.01$ ). Renal tissue vitaminC was significantly lower in group1( $p<0.001$ ). Liver tissue MDA were increased in all groups(1., 3. and 5. groups  $p<0.05$ ; 2., 4. and 6. groups  $p<0.01$ ). GSH decreased in only group4( $p<0.01$ ). CAT activities decreased significantly in all other groups (group1 and 2;  $p<0.01$ , group6;  $p<0.05$ ). VitaminC decreased in group1( $p<0.001$ ) and group2( $p<0.01$ ) significantly. Total protein in liver tissue decreased only in group4( $p<0.001$ ). Changes in parameters suggest that there may be oxidative damage-induced degenerations in liver and kidney cells. As a result, it has come to the conclusion that it may be useful to use antioxidants in addition to antibiotics against oxidative damage.

**Key Words:** Amoxicillin clavulanic acid, Antioxidants, Malondialdehyde, Rat, Vitamin.

To cite this article: Altin E. Ertekin A. Amoksisilin Klavulanik Asit, Amoksisilin Klavulanik Asit+Vitamin Uygulamasının Ratların Böbrek ve Karaciğer Dokularındaki Malondialdehit ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi. Kocatepe Vet J. (2017) 10(3): 180-186.

## GİRİŞ

Amoksisilin, mikroorganizmaların neden olduğu bakteriyel enfeksiyonlara karşı kullanılan orta spektrumlu, beta-laktam antibiyotiktir (Ünal ve ark. 2008). Amoksisilin, *Escherichia coli*, *Enterokok*, *Salmonella* ve *Pasteurella multocida* türleri üzerinde güçlü; *Shigella* ve *Enterobakter* türleri üzerinde ise daha zayıf etki gösterir (Kaya 2007). Ayrıca *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis*, *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis* üzerine de etkili bir antibiyotiktir (Trevor ve ark. 2013).

*Streptomyces clavuligerus* tarafından sentezlenen klavulanik asit, anlamlı bir Antibiyotik etkinliğe sahip değildir (Salvo ve ark. 2007). Amoksisilin tek başına iken gram negatif bakteriler tarafından salgılanan beta laktamazlar aracılığıyla yıkıma uğradığı için, bu durumu önlemek amacıyla bir beta laktamaz inhibitörü olan klavulanik asit ile birlikte kullanılır (Brunton ve ark. 2009).

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla çiftleşmemiş elektron bulduran yapılardır. Serbest radikaller fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sırasında moleküllerin yapısını bozmaktadırlar (Durmuş ve Ünsaldı, 2005). Hücredeki çoğu oksijen molekülü, hücresel enzimlerin aktiviteleri sonucu suya dönüştürülür. Bununla birlikte; bu enzimlerin bazıları oksijen molekülüne elektron sızdırıp serbest radikal oluşumuna yol açarlar (Shinde ve ark. 2012).

Makrofağlar ve nötrofiller fagositozla yutulabilecek bakterileri öldürebilmek için radikal üretirler (Sushil ve ark. 1989). Belirli hücre kompartmanlarında üretilen hidrojen peroksit, önemli birçok biyolojik sürecin düzenlenmesinde ikincil haberci olarak görev yapmaktadır (Valko ve ark. 2016).

Serbest radikaller oksidasyona karşı son derece duyarlı olan fosfolipid-doymamış yağ asiti artıkları ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri oluşur. Peroksidasyon sonucu malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal oluşur. MDA sıçanlarda kanserojen, bakteri ve memeli hücrelerinde mutajenik etki gösterir (Valko ve ark. 2007).

Aerobik canlılar organik moleküllerden enerji eldesi için moleküler oksijeni kullanırlar. Hücrenin fizyolojik ve metabolik süreçlerinden kaynaklanan reaktif oksijen ürünlerinin zararlı etkilerine maruz kalan bu organizmalarda, reaktif oksijen türlerini bertaraf etmek için antioksidan savunma sistemi olarak bilinen koruyucu bir sistem gelişmiştir. Bu sistemin görevi oksijenin tam olarak indirgenmemiş türlerinin oluşturduğu hasara karşı hücreyi korumaktır. Normal şartlarda reaktif oksijen türleri ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge bulunmaktadır (Gönenç 1997)

Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır. Organizmanın antioksidan savunma

sisteminin yetersiz kaldığı durumlarda artan serbest radikal düzeyleri hücrelerde hasar ve fonksiyon bozukluklarına neden olur (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). Bu hasarların yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, immün sistemde zayıflama, otoimmün bozukluklar, kanser, katarakt, artrit gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Shinde ve ark. 2012).

## MATERYAL VE METOT

Yapılan çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür, OMÜ Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu tarafından 14.07.2015 tarihli 2015/50 sayılı karar ile onaylanmıştır.

### Materyal

Bu çalışmanın materyalini 3-4 aylık, 250-300 g canlı ağırlıkta 49 Wistar-albino ırkı erkek sıçan oluşturmuştur. Her grupta yedi rat olacak şekilde yedi gruba ayrılan ratlar tel kafeslerde, 12 saat gündüz 12 saat gece periyotlarında,  $21\pm 3^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta ve  $\%50\pm 5$  nemde tutulmuşlardır. Çalışma süresi yedi gün olarak belirlenmiştir. Çalışma süresince ratların önünde sürekli yem ve içme suyu bulundurulmuştur.

### Sıçanların gruplara bölünmesi;

**1. Grup (Amoksisilin klavulanik asit uygulama grubu):** Enjeksiyonluk süspansiyondan (35 mg klavulanik asit+140 mg amoksisilin trihidrat/ml, Noroclav-Etkin İlaç San., Türkiye) 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olacak şekilde intramusküler (i.m.) uygulama yapılmıştır.

**2. Grup (Amoksisilin klavulanik asit+vitamin C uygulama grubu):** Enjeksiyonluk süspansiyondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak i.m., ilave olarak ml'sinde 100 mg askorbik asit içeren flakondan (Redox-C, Bayer İlaç, Bayer Türkiye) 200 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak intraperitoneal (i.p.) uygulama yapılmıştır.

**3. Grup (Amoksisilin klavulanik asit+vitamin E uygulama grubu):** Enjeksiyonluk süspansiyondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak i.m., ilave olarak ml'sinde 150 mg alfa tokoferol içeren flakondan (Evigen- Laurus İlaç, Türkiye) 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak i.m. uygulanmıştır.

**4. Grup (Amoksisilin klavulanik asit+vitamin C+vitamin E uygulama grubu):** Enjeksiyonluk süspansiyondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olarak i.m., ml'sinde 100 mg askorbik asit içeren flakondan 200 mg/kg canlı ağırlık/gün i.p. olarak ve ml'sinde 150 mg alfa tokoferol içeren flakondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olacak şekilde i.m. olarak uygulanmıştır.

**5. Grup (Vitamin C grubu):** ml'sinde 100 mg askorbik asit içeren flakondan 200 mg/kg canlı

ağırlık/gün olacak şekilde i.p. olarak uygulama yapılmıştır.

**6. Grup (Vitamin E grubu):** ml'sinde 150 mg alfa tokoferol içeren flakondan 150 mg/kg canlı ağırlık/gün olacak şekilde i.m. olarak uygulama yapılmıştır.

**7. Grup (Kontrol grubu):** 0.1ml/gün olacak şekilde serum fizyolojik i.p. olarak uygulanmıştır.

Yedi günün sonunda, etik kurallara uygun olarak [%2'lik Basilazin (2-5 mg/kg canlı ağırlık) ve %10'luk Ketazol (0.8-1.3 ml/kg canlı ağırlık)] ratlar uyutuldu. Kan örnekleri alındı. Karaciğer ve böbrek dokusu çıkartıldı. Dokular soğuk serum fizyolojik ile yıkandı, formol çözeltisi içine konuldu.

Alınan kanlar aynı gün 3000rpm/15 dk. santrifüj edildi. Plazmaları çıkarılan örneklerin, otoanalizörde ALT, AST ve GGT enzim düzeylerine bakıldı.

#### Tris-HCl tamponu:

24.23 g Tris tartıldı, bir miktar distile suda çözündürüldü, hacmi distile su ile 1 L'ye tamamlandı, pH'sı 7 olacak şekilde ayarlandı.

Doku örnekleri, 1/10 oranında Tris-HCl tamponuyla sulandırıldı ve homojenize edildi. Homojenizatlar 4000 rpm/30 dk. santrifüj edildi, süpernatantlar ependorf tüplerine pipetlendi, -21°C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

#### Metot

Karaciğer ve böbrek dokuları süpernatantlarında MDA tayini Sushil ve ark. (1989)'nın metoduna göre, doku GSH tayini modifiye Ellman metodu (Yüzüak ve ark. 2014) ile, doku C vitamini tayini Omaye ve ark. (1979)'nın metoduna göre, doku katalaz enzimi aktivitesi Aebi (1984)'nin metoduna göre, total protein miktarı biüret metodu (Tiftik 1996) ile ve plazma ALT, AST ve GGT enzim aktiviteleleri Audit Diagnostics ticari kitlerle çalışıldı.

#### Histolojik Metotlar

Karaciğer ve böbrek dokuları %10'luk formaldehid solüsyonunda tespit edildi, rutin histolojik doku takibi işlemlerinden geçirilerek Crossman (1937)'un üçlü boyama tekniği ile boyandı. Elde edilen preparatlar Nikon E-600 araştırma mikroskobu altında ve Nikondigital-sight görüntüleme sistemi ile fotoğraflandı.

**Tablo 1.** Kontrol ve Çalışma Gruplarına Ait Plazma ALT, AST ve GGT Düzeyleri

**Table 1.** Plasma ALT, AST and GGT Levels of Control and Working Groups

Gruplar	Parametreler (U/L)			
	n	ALT	AST	GGT
AKA	7	172.571 ± 21.306 <sup>a</sup>	124.142 ± 15.678	3.000 ± 0.816
AKA + Vit. C	7	108.285 ± 34.335	118.000 ± 13.650	2.928 ± 0.590
AKA + Vit. E	7	48.571 ± 8.100	112.000 ± 25.468	2.332 ± 0.942
AKA + Vit. C + Vit. E	7	51.571 ± 17.539	123.428 ± 22.721	2.642 ± 0.626
Vitamin C	7	68.428 ± 27.861	115.142 ± 19.878	2.428 ± 0.786
Vitamin E	7	69.714 ± 30.120	125.571 ± 22.633	3.214 ± 0.466
Kontrol	7	66.857 ± 26.585	117.000 ± 21.393	2.571 ± 0.786

a: p<0.001, A.K.A: Amoksisilin Klavulanik Asit, Vit C: Vitamin C, Vit. E: Vitamin E., Veriler ortalama±std. sapma olarak hesaplandı.

#### İstatistiksel Analizler

Veriler SPSS 21 v. paket programı Paired- Sample T Testi ile istatistiksel olarak yorumlandı.

#### BULGULAR

Plazma ALT, AST ve GGT düzeyleri Tablo 1'de, böbrek dokusu MDA, GSH, CAT aktivitesi, vitamin C ve total protein düzeyleri Tablo 2'de, karaciğer dokusu MDA, GSH, CAT aktivitesi, vitamin C ve total protein düzeyleri Tablo 3'te sunulmuştur.

#### Histopatolojik Bulgular

**Böbrek:** Organın bağ dokudan oluşan bir kapsül ile çevrili olduğu gözlenmiştir. Korteks ve medulla bölgeleri incelendiğinde gruplar arasında çok belirgin farklılıklara rastlanmamıştır. Ancak 2., 4. ve 6. gruplardaki sıçanların böbrek tübüllerinin lumenlerinde hafif genişlemeler ve tübül epitellerinde hafif dejenerasyonların olduğu belirlenmiştir.

**Karaciğer:** Karaciğerin fibröz bir kapsülle sarılı olduğu gözlenmiştir. Vena interlobularis, arteria hepatica ve duktus biliferi'den oluşan portal alanlar net olarak görülmektedir. Karaciğer epitel hücrelerinin oluşturduğu remark kordon yapıları ve bol miktarda sinüzoidler dokuda hakimdir. Gruplar arasında histolojik olarak çok belirgin farklılıklar gözlenmese de 1., 2. ve 6. gruptaki sıçanların karaciğer epitel hücrelerinde dejenerasyon ve piknotik görüntüler tespit edilmiştir.

Amoksisilin klavulanik asit+vitamin C uygulaması yapılan 2. grup, amoksisilin klavulanik asit vitamin C+vitamin E uygulanan 4. grup, vitamin E uygulaması yapılan 6. grup ve kontrol grubu böbrek dokularının histopatolojik görünümü Şekil 1'de, amoksisilin klavulanik asit uygulanan 1. grup, amoksisilin klavulanik asit vitamin C uygulanan 2. grup, vitamin E uygulaması yapılan 6. grup ve kontrol grubu karaciğer dokularının histopatolojik görünümü Şekil 2'de sunulmuştur.

**Tablo 2.** Böbrek Dokusu Kontrol ve Çalışma Gruplarına Ait Malondialdehit, Glutasyon, Katalaz, Vitamin C ve Total Protein Düzeyleri

**Table 2.** Malondialdehyde, Glutathione, Catalase, Vitamin C and Total Protein Levels of the Kidney Tissue Control and Working Groups

Gruplar	Böbrek Dokusu – Parametreler					
	n	MDA ( $\mu\text{mol/g}$ doku)	GSH ( $\mu\text{mol/g}$ doku)	CAT (k/g doku)	Vitamin C (mg/100 g doku)	Total Protein (%g)
AKA	7	94.858 $\pm$ 14.938 <sup>c</sup>	0.412 $\pm$ 0.099	2.760 $\pm$ 0.300 <sup>b</sup>	702.570 $\pm$ 136.52 <sup>a</sup>	0.203 $\pm$ 0.027
AKA +Vit. C	7	69.007 $\pm$ 19.263	0.405 $\pm$ 0.055 <sup>c</sup>	2.118 $\pm$ 0.797	1144 $\pm$ 168.81	0.222 $\pm$ 0.064
AKA +Vit. E	7	74.740 $\pm$ 14.230	0.504 $\pm$ 0.115	1.960 $\pm$ 0.440	1210.42 $\pm$ 182.72	0.211 $\pm$ 0.046
AKA +Vit.C +Vit. E	7	67.261 $\pm$ 15.865	0.411 $\pm$ 0.919 <sup>c</sup>	1.670 $\pm$ 0.204 <sup>b</sup>	1114.85 $\pm$ 168.44	0.221 $\pm$ 0.084
Vitamin C	7	78.524 $\pm$ 15.841	0.502 $\pm$ 0.099	2.121 $\pm$ 0.653	1250 $\pm$ 181.23	0.210 $\pm$ 0.053
Vitamin E	7	81.390 $\pm$ 7.773	0.462 $\pm$ 0.069	2.348 $\pm$ 0.204 <sup>c</sup>	1157.71 $\pm$ 152.42	0.188 $\pm$ 0.067
Kontrol	7	73.831 $\pm$ 13.367	0.521 $\pm$ 0.114	2.157 $\pm$ 0.349	1179.028 $\pm$ 133.17	0.205 $\pm$ 0.031

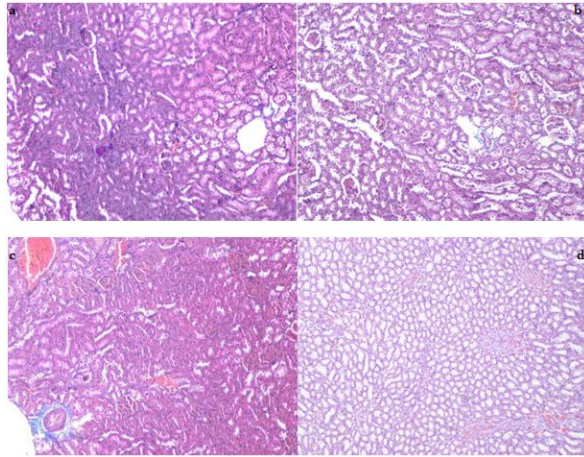
a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05 Veriler ortalama $\pm$ std. sapma olarak hesaplandı.

**Tablo 3.** Karaciğer Dokusu Kontrol ve Çalışma Gruplarına Ait Malondialdehit, Glutasyon, Katalaz, Vitamin C ve Total Protein Düzeyleri

**Table 3.** Malondialdehyde, Glutathione, Catalase, Vitamin C and Total Protein Levels of Liver Tissue Control and Working Groups

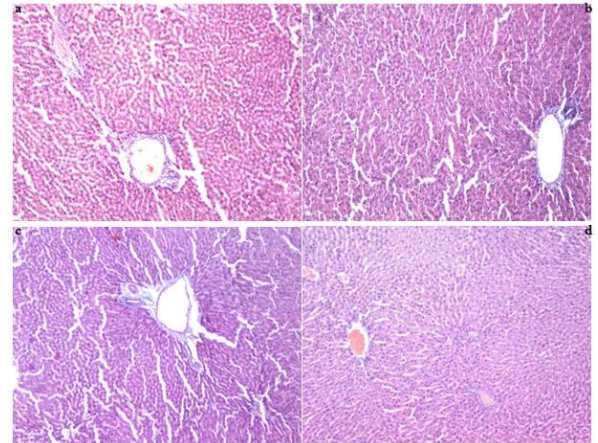
Gruplar	Karaciğer Dokusu – Parametreler					
	n	MDA ( $\mu\text{mol/g}$ doku)	GSH ( $\mu\text{mol/g}$ doku)	CAT (k/g doku)	Vitamin C (mg/100 g doku)	Total Protein (%g)
AKA	7	34.452 $\pm$ 9.927 <sup>c</sup>	0.271 $\pm$ 0.027	1.198 $\pm$ 0.301 <sup>b</sup>	439.28 $\pm$ 95.77 <sup>a</sup>	0.317 $\pm$ 0.057
AKA + Vit. C	7	33.305 $\pm$ 6.177 <sup>b</sup>	0.245 $\pm$ 0.043	1.468 $\pm$ 0.906 <sup>b</sup>	565.14 $\pm$ 129.82 <sup>b</sup>	0.322 $\pm$ 0.096
AKA.+ Vit. E	7	33.122 $\pm$ 8.570 <sup>c</sup>	0.222 $\pm$ 0.049	2.700 $\pm$ 1.057	792.57 $\pm$ 160.07	0.290 $\pm$ 0.051
AKA +VitC +Vit. E	7	31.302 $\pm$ 3.915 <sup>b</sup>	0.177 $\pm$ 0.047 <sup>b</sup>	3.388 $\pm$ 1.186	1007.42 $\pm$ 196.26	0.247 $\pm$ 0.059 <sup>a</sup>
Vitamin C	7	30.867 $\pm$ 5.726 <sup>c</sup>	0.211 $\pm$ 0.040	3.220 $\pm$ 1.143	957.71 $\pm$ 144.11	0.271 $\pm$ 0.026
Vitamin E	7	33.122 $\pm$ 5.922 <sup>b</sup>	0.221 $\pm$ 0.047	1.804 $\pm$ 0.777 <sup>c</sup>	918.00 $\pm$ 131.27	0.328 $\pm$ 0.077
Kontrol	7	23.130 $\pm$ 6.473	0.252 $\pm$ 0.041	3.641 $\pm$ 1.474	864.57 $\pm$ 174.78	0.338 $\pm$ 0.081

a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05 Veriler ortalama $\pm$ std. sapma olarak hesaplandı.



**Şekil 1.** 2. Grup (Amoksisilin Klavulanik Asit+Vitamin C grubu) (a), 4. Grup (Amoksisilin Klavulanik Asit+Vitamin C+Vitamin E grubu) (b), 6. Grup (Vitamin E grubu) (c) ve Kontrol Grubu (d) Böbrek Dokularının Histopatolojik Görünümleri (X10) (Crossman üçlü boyama)

**Figure 1.** Group 2 (Amoxicillin Clavulanic Acid+Vitamin C group) (a), Group 4 (Amoxicillin Clavulanic Acid+Vitamin C+Vitamin E group) (b), Group 6 (Vitamin E group) (c) and Control Group (d) Histopathological Appearances of Kidney Tissues (X10) (Crossman triple stain)



**Şekil 2.** 1. Grup (Amoksisilin Klavulanik Asit grubu) (a), 2. Grup (Amoksisilin Klavulanik+Asit Vitamin C grubu) (b), 6. Grup (Vitamin E grubu) (c) ve Kontrol Grubu (d) Karaciğer Dokularının Histopatolojik Görünümleri (X10) (Crossman üçlü boyama)

**Figure 2.** Group 1 (Amoxicillin Clavulanic Acid Group) (a), Group 2 (Amoxicillin Clavulanic Acid+Vitamin C Group) (b), Group 6 (Vitamin E Group) (c) and Control Group (d) Histopathological Appearances of Liver Tissues (X10) (Crossman triple stain)

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Antibiyotikler, enfeksiyon tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlardır. Antibiyotik kullanımına bağlı olarak görülen yan etkiler, ilaç tedavisinin kesilmesine gereksinim duyulmayacak derecede basit olabileceği gibi; yaşamı tehdit edebilecek kadar ciddi sonuçlar doğurabilir (Öncü 2013). Ateş, ishal, alerji, anafaksi, anemi, lökopeni, nörotoksisite, nefrotoksisite, kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve kas-iskelet toksisitesi antibiyotik kullanımına bağlı olarak görülen yan etkilerden bazılarıdır (Granowitz ve Brown, 2008). Lucena ve ark. (2006)'nın yaptığı bir çalışmada genç bireylerde kısa süreli amoksisilin klavulanik asit tedavisinde sitolitik hasar görülürken, yaşlı bireylerde daha uzun süreli tedavide kolestatik/karışık tip hasar gözlemlenmiştir. Bakterisidal antibiyotikler bir yandan bakterileri öldürürken bir yandan da zararlı reaktif türlerin üretimini uyarırlar. Dwyera ve ark. (2014), antibiyotiklerin dinamik olarak hücre sel solunumu değiştirdiğini ve intraselüler hidrojen peroksidin ölümcül seviyelere ulaşmasını indüklediğini belirtmişlerdir. Kohanski ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmada üç ana sınıf bakterisidal antibiyotik (aminoglikozit, kinolon,  $\beta$ -laktam), dahili demir-sülfür kümelerini kullanarak, Fenton tepkimesi yoluyla hidroksil radikalının letal doz üretimini uyardığını ve hücre ölümüne neden olduğunu bildirmişlerdir. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, bakterisidal antibiyotiklerin reaktif oksijen türleri (ROS)'ni içeren ortak bir mekanizmayla hücreleri öldürdüğüne dair fikirler ileri sürülmüştür. Keren ve ark. (2013), aerobik veya anaerobik koşullar altında çeşitli antibiyotikler ile tedavide bakterilerin sağkalımları üzerinde esasen hiçbir fark olmadığını bir ROS söndürücüsü olan tiyoüenin, düşük konsantrasyonlardaki antibiyotik varlığında hücreleri koruduğu, bu etkinin anaerobik koşullarda da kendini gösterdiğini bildirilmişlerdir. Yüksek konsantrasyondaki antibiyotik varlığında ise bu etkinin ortadan kaybolduğu gözlemlenmiştir. Peroksidasyon sonucu oluşan lipid hidroperoksitlerin yıkımı, biyolojik olarak aktif olan aldehitlerin oluşumuna yol açar. Oluşan bu aldehitler ya hücrede metabolize edilir ya da oluştuğu bölgeden daha uzak kısımlara yayılarak hücre sel hasarı çoğaltırlar (Akkuş 1995). Böbrek dokusu MDA düzeyi kontrol grubuna kıyasla, 1. grupta önemli bir artış göstermiştir ( $p < 0.05$ ), diğer gruplardaki değişimler anlamsız bulundu. Karaciğer dokusu MDA düzeylerine bakıldığında kontrol grubuna göre diğer uygulama gruplarının tamamında istatistiksel olarak önemli miktarda artışlar saptanmıştır. Böbrek dokusu GSH düzeylerinde 2. ve 4. grupta kontrol grubuna kıyasla önemli miktarda azalma saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Diğer gruplardaki azalmalar istatistiksel olarak önemsizdi. Karaciğer dokusu GSH düzeylerinde sadece 4.

grupta kontrole kıyasla anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir ( $p < 0.01$ ). Diğer gruplarda ölçülen değerlerde istatistik olarak herhangi bir önem gözlemlenmedi. Kadkhodae ve ark. (2005)'nin deneysel gentamisin nefrotoksitesinde, gentamisin+vitamin C'nin birlikte verildiği grupta, renal doku GSH değerleri üzerinde belirgin bir etki gözlemlenmemiştir. Gentamisin+vitamin E verilen grupta, vitamin E'nin gentamisin kaynaklı GSH düzeyindeki azalmayı önlediği, gentamisin + vitamin C + vitamin E grubunda ise GSH seviyelerinin korunduğu bildirilmiştir. Olayinka ve Olukowade (2010)'nin yaptığı çalışmada sıçanlara günde iki kez yedi gün boyunca amoksisilin/klavulanik asit verilmiş, ilaç uygulanan grupta plazma AST ve ALT değerlerinde kontrol grubuna kıyasla artışlar, karaciğer GSH, C vitamini değerlerinde belirgin olarak azalmalar, hepatik CAT aktivitesinde de azalmalar gözlemlenmiştir. El-Sherbiny ve ark. (2009)'nin sıçanlarda yaptığı çalışmada, amoksisilin klavulanik asit (50 mg/kg) verilen grupta, kontrol grubuna göre serum ALT ve AST değerlerinin daha yüksek olduğu, hepatik GSH düzeyinin daha düşük, hepatik MDA düzeyinin ise daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Böbrek dokusu CAT aktivitesinde kontrole kıyasla, 1. grupta ( $p < 0.01$ ) ve 6. grupta ( $p < 0.05$ ) önemli bir artma, 4. grupta ( $p < 0.01$ ) ise azalma gözlemlendi. Diğer gruplardaki değişimler istatistiksel olarak anlamsızdı. Karaciğer dokusu CAT aktivitesi bütün gruplarda azalmış olup, bu azalmalar 1., 2. grupta ( $p < 0.01$ ) ve 6. grupta ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önem göstermiştir. Değişmiş CAT aktivitesi birçok hastalıkta görülebilmektedir. Diabetes mellitusta, malign hastalıklarda, Down sendromunda, nefrotoksitesinin deneysel koşullarında ve yenilenmekte olan dokularda azalmış katalaz aktivitesi gösterilmiştir (Djordjević ve ark. 2000). Böbrek dokusu vitamin C miktarı 1. grupta önemli derecede düşük bulundu ( $p < 0.001$ ). Diğer gruplarda saptanan miktarlarda istatistiksel bakımdan bir önem gözlemlenmedi. Karaciğer dokusu vitamin C miktarları 1. ve 2. grupta düşüktü (sırasıyla  $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ), diğer gruplarda gözlenen değişimler önemsizdi. Çalışmalar hücre içi C vitamini redoks durumunun intraselüler GSH düzeyi tarafından kontrol edildiğini göstermiştir. C vitamini antioksidan savunmanın birinci basamağında olan serbest radikal oksidasyonuna karşı çok duyarlı bir bileşiktir, iyi bir radikal temizleyicisidir (Olayinka ve Olukowade, 2010). Hayvanlar üzerinde yapılan endojen lipid peroksidasyonunun ölçüldüğü çoğu çalışmada C vitamininin peroksidasyon miktarını düşürdüğü gözlemlenirken (Barja ve ark. 1994, Tanaka ve ark. 1997) bazı çalışmalarda bu durum gözlemlenmemiştir (Cadenas ve ark. 1996). Daş (2009)'ın yaptığı çalışmada, enzootik pneumonili kuzulara %10'luk enrofloksasin çözeltisi ve

amoksisilini parenteral olarak verilmiştir. Ayrıca bir gruba antibiyotiğe ilave olarak E vitamini parenteral olarak uygulanmış, bu grupta ilave E vitamini tedavisinin total antioksidan kapasite seviyesi üzerine herhangi bir değişikliğe yol açmadığı hatta total antioksidan kapasite düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Acharya ve ark. (2013), gentamisin kaynaklı nefrotoksisitede oksidatif stresi ve C vitamininin önleyici etkilerini araştırmışlar, gentamisin ile birlikte C vitamini uygulamasının, nefrotoksisitesiyi önemli ölçüde engellediğini belirtmişlerdir. Vitamin E serbest radikal zincir reaksiyonlarını önlemek için oksijen radikalleriyle reaksiyona giren ana endojen antioksidandır. Vitamin E gibi endojen antioksidanların miktarı serbest radikallerle etkileşimleri sonucu azalmaktadır (Paolini ve ark. 1999). Sezikli ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışmada *Helicobacter pylori*'nin standart üçlü tedavisine (proton pompa inhibitörü+klaritromisin+amoksisilin) ek olarak, tedaviye C ve E vitamininin eklenmesiyle *H. pylori*'nin eradikasyon oranını artırdığını; bunun nedeni olarak da vitaminlerin gastrik mukozada oksidatif stresi azaltarak antibiyotik etkinliğini artırdığını ileri sürmüşlerdir. Böbrek dokusu total protein miktarları, 1. ve 6. gruplarda azalmış, 2., 3., 4. ve 5. gruplarda artmıştır. Karaciğer dokusu total protein miktarları sadece 4. grupta anlamlı bir şekilde ( $p < 0.001$ ) azalmıştır. 1. grupta plazma ALT düzeyi önemli düzeyde bir artış gösterdi ( $p < 0.001$ ). 2. 5. ve 6. gruplardaki artışlar, 3. ve 4. gruplardaki azalmalar önemsizdi. AST enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmedi. GGT enzim düzeylerinin 1., 2., 4. ve 6. gruplarda daha yüksek olduğu gözlemlendi. Antibiyotik uygulanmasıyla plazmada bu enzimlerin yükselmesi hasar gören dokuların enzimlerinin salınmasının sonucu olabilir. Plazma ALT ve AST düzeylerinin artması, hepatositlerin nekroze olduğu koşullarda görülmektedir (Macfarlane ve ark. 2000). GGT; kolestaz, tıkanma sarılığı, siroz, primer biliyer siroz, akut veya kronik hepatit durumlarında artış gösterir (Tuzcu 2003). Bu bağlamda sunulan çalışmada, amoksisilin klavulanik asit kullanımında MDA, antioksidan maddeler, vitaminler ve enzim düzeylerinde gözlenen değişimler, karaciğer ve böbrek hücrelerinde oksidatif hasardan kaynaklı kısmen yıkımlanmanın şekillenmiş olabileceğini göstermektedir. Hastalığın radikal tedavisi süresince kullanılan ilaçlardan kaynaklanabilecek olası oksidatif hasarlara karşı antibiyotiğe ek olarak antioksidanların da kullanılmasının faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

**Acharya C, Thakar H, Vajpeyee SK.** A study of oxidative stress in gentamicin induced nephrotoxicity and effect of antioxidant

vitamin C in Wistar rats. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol.* 2013; 3(1):14–20.

**Aebi H.** Catalase in vitro. *Enzymol.* 1984; 105:121–6.

**Akkuş İ.** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Birinci Baskı, Konya: Mimoza Yayınları 1995; 50-120.

**Barja G, Lopez-Torres M, Perez-Campo R, Rojas C, Cadenas S, Prat J, Pamplona R.** Dietary vitamin C decreases endogenous protein oxidative damage, malondialdehyde, and lipid peroxidation and maintains fatty acid unsaturation in the guinea pig liver. *Free Radic Biol Med.* 1994; 17: 105–15.

**Brunton LL, Lazo JS, Parker KL.** Goodman & Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli, Çev. Ed: Süzer Ö, İstanbul; Nobel Tıp Kitabevleri, 2009; 1133-52.

**Cadenas S, Lertsiri S, Otsuka M, Barja G, Miyazawa T.** Phospholipid hydroperoxides and lipid peroxidation in liver and plasma of ODS rats supplemented with alpha tocopherol and ascorbic acid. *Free Radic Res.* 1996; 24: 485–93.

**Crossman G.A.** Modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved, *The Anatomical Record.* 1937; 69(1): 33-8.

**Daş A.** Enzootik pnemoni besi kuzularında tedaviye selenyum ve vitamin E eklenmesinin total oksidan ile antioksidan seviyeleri üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa 2009; p. 30-9.

**Djordjević BV, Čosić V, Pavlović D, Vlahović P, Jevtović T, Kocić G, Savić V.** Does captopril change oxidative stress in puromycin aminonucleoside nephropathy? *Renal Fail.* 2000; 22: 535-44.

**Durmuş AS, Ünsaldı E.** Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve kırık iyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları* 2005; 20-7.

**Dwyera DJ, Belenkya PA, Yanga JH, MacDonald IC, Martell JD, Takahashie N, Chana CTY, Lobritza MA, Braff D, Schwarza EG, Yea JD, Patih M, Vercruyssee M, Ralifoh PS, Allisoni KR, Khalilb AS, Tingd AY, Walkere GC, Collinsa JJ.** Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality. *PNAS.* 2014; 6: 2100-9.

**El-Sherbiny GA, Ashraf Taye A, Abdel-Raheem IT.** Role of ursodeoxycholic acid in prevention of hepatotoxicity caused by amoxicillin-clavulanic acid in rats. *Ann Hepatol* 2009; 8(2):134-40.

- Gönenç S.** Egzersiz ve oksidan stres. BESBD. 1997; 2(4): 26-38.
- Granowitz EV, Brown RB.** Antibiotic adverse reactions and drug interactions. Crit Care Clin. 2008; 24: 421-42.
- Kadkhodae M, Khastar H, Faghihi M, Ghaznavi R, Zahmatkesh M.** Effects of co supplementation of vitamins E and C on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. Exp Physiol. 2005; 90(4): 571-6.
- Kaya S.** Veteriner Farmakoloji. Dördüncü Baskı, Ankara: Medisan Yayınları 2007; 361-8.
- Keren I, Wu Y, Inocencio J, Mulcahy LR, Lewis K.** Killing by bactericidal antibiotics does not depend on reactive oxygen species. Science. 2013; 339 (6124): 1213-6.
- Kohanski MA, Dwyer DJ, Hayete B, Lawrence CA, Collins JJ.** A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. Cell. 2007; 130:797-810.
- Lucena MI, Andrade RJ, Fernández MC, Pachkoria K, Pelaez G, Duran JA, Villar M, Rodrigo L, Romero-Gomez M, Planas R, Barriocanal A, Costa J, Guarner C, Blanco S, Navarro JM, Pons F, Castiella A.** Determinants of the clinical expression of amoxicillin-clavulanate hepatotoxicity: a prospective series from Spain. Hepatology. 2006; 44: 850-6.
- Macfarlane I, Bomford A, Sherwood RA.** Liver Diseases and Laboratory Medicine. London: ACB Venture Publications 2000; 357-60.
- Olayinka ET, Olukowade IL.** Effect of amoxycillin/clavulanic acid (Augmentin 625®) on antioxidant indices and markers of renal and hepatic damage in rats. J Toxicol Environ Health Sci. 2010; 2(6): 85-92.
- Omaye ST, Turbul JD, Savberlich HE.** Ascorbic acid analyses. II. Determination after derivation with 2,2 dinitrophenylhydrazine, selected methods for determination of ascorbic acid in animal cell, tissues and fluids. Methods in Enzymology. 1979; 62: 7-8.
- Öncü S.** Antibiyotiklerin istenmeyen etkilerinin izlemi-yönetimi. ANKEM Derg 2013;27: 82-4.
- Paolini M, Pozzetti L, Pedulli GF, Marchesi E, Cantelli-Forti G.** The nature of prooxidant activity of vitamin C. Life Sci. 1999; 64: 273-8.
- Salvo F, Polimeni G, Moretti U, Conforti A, Leone R, Leoni O, Motola D, Dusi G, Caputi AP.** Adverse drug reactions related to amoxicillin alone and in association with clavulanic acid: data from spontaneous reporting in Italy. J Antimicrob Chemother. 2007; 60: 121-6.
- Sezikli M, Çetinkaya ZA, Güzelbulut F, Yeşil A, S. Coşgun S, Kurdaş OÖ.** Supplementing Vitamins C and E to standard triple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori*. JCPT. 2012; 37: 282-5.
- Shinde A, Ganu J, Naik P.** Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: A Review. J Dent Allied Sci. 2012;1(2):63-6.
- Sushil JK, Mcvie R, Duett J, Herbst JJ.** Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. Diabetes. 1989; 38: 1539-43.
- Tabakoğlu E, Durgut R.** Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. AVKAE Derg. 2013; 3(1): 69-75.
- Tanaka K, Hashimoto T, Tokumaru S, Iguchi H, Kojo S.** Interactions between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats. J Nutr. 1997; 127: 2060-4.
- Tiftik AM.** Biüret Metoduyla Total Protein Tayini, Klinik Biyokimya, Konya: Mimoza Yayınları 1996; sayfa: 291-2.
- Trevor AJ, Katzung BG, Kruidering-Hall M, Masters SB.** Katzung & Trevor's Pharmacology Examination & Board Review, Tenth Edition, New York: McGraw Hill Companies Inc 2013; p: 384-448.
- Tuzcu S.** Tanıda Laboratuvar Testleri. Yedinci Baskı, İstanbul: Yüce Yayınları 2003; sayfa: 58-68.
- Ünal K, Palabıyık İM, Karacan E, Onur F.** Spectrophotometric determination of amoxicillin in pharmaceutical formulations. Turk J Pharm Sci. 2008; 5(1): 1-16.
- Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, Kuca K, Musilek K.** Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. Arch Toxicol. 2016; 90:1-37.
- Valko M, Leibfritz D, Jan Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Tels J.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. IJBCB. 2007; 39: 44-84.
- Yüzüak H, Akbulut KG, Yüzüak S.** Yaşlanma sürecinde melatoninin pankreas dokusundaki oksidan ve antioksidanlara etkisi. JCEI. 2014; 5(4): 583-8.