

# Alfa-amanitinle oluşturulmuş böbrek ve karaciğer toksisitesinde alfa-pinen ve silibininin etkisinin sıçanlar üzerinde araştırılması\*

Hanefi Özbek<sup>1</sup>, Nureddin Cengiz<sup>2</sup>, İrfan Bayram<sup>3</sup>, Hatice Öntürk<sup>4</sup>

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi <sup>1</sup>Farmakoloji, <sup>2</sup>Histoloji ve <sup>3</sup>Patoloji Anabilim Dalları, Van

<sup>4</sup>Bitlis Eren Üniversitesi, Bitlis

**Amaç:** Bu çalışmada alfa-amanitinle oluşturulmuş mantar zehirlenmesinde alfa-pinen ve silibininin karaciğer ve böbrek dokusu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. **Yöntem:** Üç çalışma grubuna 3 mg/kg alfa-amanitin tek doz uygulanarak toksisite oluşturuldu. Graplardan birine 50 mg/kg silibinin (silibinin grubu), diğerine ise 0.25 ml/kg alfa-pinen (alfa-pinen grubu) beş gün süreyle verildi. Üçüncü gruba (alfa-amanitin grubu) başka bir uygulama yapılmadı. Dördüncü gruba ise (kontrol grubu) beş gün boyunca yalnızca serum fizyolojik uygulandı. Alfa-amanitin grubuna çalışma süresince başka uygulama yapılmadı. Çalışmanın altıncı günü tüm gruplardan kan ve doku örnekleri alındı. Çalışma gruplarının vücut ağırlıkları kaydedildi. **Bulgular:** Alfa-amanitin grubunda ALT ve BUN değerlerinin, alfa-pinen grubunda ALT ve kreatinin değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı seviyede yükseldiği, silibinin grubunda ise ALT değerinin alfa-amanitin grubuna göre anlamlı seviyede düştüğü saptandı. Çalışma gruplarının karaciğerlerinde histolojik yönden herhangi bir patolojiye rastlanmadı. Alfa-amanitin ve alfa-pinen gruplarındaki sıçanların böbreklerinde; fokal genişleme, interstisyel kanama, tubulus epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, tubuluslarda ve interstisyumda seyrek akut iltihap hücreleri izlenirken, silibinin grubunda bu bulgular daha hafif olarak saptandı. **Sonuç:** Silibinin alfa-amanitin zehirlenmesinde biyokimyasal ve histopatolojik yönden karaciğer enzimlerinde ve böbrek histolojisinde anlamlı bir düzelme sağlarken, alfa-pinen anlamlı bir düzelme sağlayamadı. Çalışmanın, sıvı-elektrolit replasmanı yapılmış gruplarla desteklenmesi önerilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Alfa-amanitin, silibinin, alfa-pinen, mantar zehirlenmesi

## Study on the effects of alpha-pinene and silibinin on the alpha-amanitin induced liver and kidney toxicity in rats

**Objective:** The aim of the study was to investigate the effects of alpha-pinene and silibinin on alpha-amanitin induced liver and kidney toxicity. **Methods:** Toxicity was induced by injecting 3 mg/kg alpha-amanitin intraperitoneally once in three groups. One of these groups was received silibinin (silibinin group, 50 mg/kg) and another received alpha-pinene (alpha-pinene group, 0.25 ml/kg) for five days. The third group (alpha-amanitin group) did not receive any injection. The fourth group (control) received only isotonic saline for five days. The body weights of the animals were recorded daily. On the sixth day of the experiments blood and tissue samples were collected from all animals. **Results:** Alpha-amanitin caused an increase in ALT and BUN levels. ALT and creatinin levels were significantly increased by alpha-pinene while silibinin caused a decrease in ALT levels. There were no histopathological findings in the livers of the experimental groups. Alpha-amanitin caused focal widening and interstitial bleeding in kidneys and hydropic degeneration in tubulus epithelia, and few acute inflammatory cells appeared in tubuli and interstitium. While alpha-pinene did not change these histopathological findings there was less severe pathology in silibinin treated animals. **Conclusion:** Silibinin caused a significant improvement in liver enzyme levels and kidney histopathology in alpha-amanitin toxicity, whereas alpha-pinene did not affect the outcome of the toxicity. The findings could be expanded with the experiments where the animals received fluid-electrolyte replacement.

**Key words:** Alpha-amanitin, silibinin, alpha-pinene, mushroom poisoning

Genel Tıp Derg 2008;18(4): 159-164

\*Bu çalışma 19. Ulusal Farmakoloji Kongresi'nde (24-27 Ekim 2007/Trabzon) poster bildiri olarak sunulmuştur.

Yazışma adresi: Dr. Hanefi Özbek, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Van

e-posta: hanefiozbek@hotmail.com

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 oldukları tahmin edilmektedir. Ölümle biten mantar zehirlenmelerinin % 90'ından fazlasının *Amanita phalloides*, *A. verna*, *A. ocreata* ve *A. virosa* türlerinden ileri geldiği rapor edilmiştir (1,3). *A. verna*, *A. virosa* ve diğer Galerina grubu mantarlar gibi *Amanita phalloides* de etkisi geç başlayan zehirlenmeye sebep olan bir türdür. Bunların toksik etkileri içerdikleri siklik peptidlere (amanitinler ve phalloidin) bağlıdır. Amanitinlerin letal dozunun insanda 0.1 mg/kg, phalloidin 1-2 mg/kg olduğu, ayrıca *Amanita phalloides*'in yaklaşık 50 gramının insanı öldürmeye yeterli olduğu bildirilmiştir (4). Özellikle *Amanita phalloides* türü mantarlar ile oluşan zehirlenmelerde mortalite oranı yüksektir. *Amanita phalloides*, hücre çekirdeğinde RNA polimeraz II enzimini inhibe ederek protein sentezini bozmakta ve sonuçta hücre nekrozuna neden olmakta, ayrıca karaciğerde sentrilobüler nekrozdan önce yağlı dejenerasyon ve kanama yapmaktadır (1,3). *Amanita phalloides* zehirlenmelerinde aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) gibi enzimlerin seviyeleri karaciğer harabiyetinin derecesini göstermeleri yönünden önemlidir (2,4).

Alfa-amanitin ısıya dayanıklı siklik bir oktapeptiddir. Taze *Amanita phalloides*'in 1 gramında yaklaşık 0.2-0.4 mg kadar alfa-amanitin bulunur. İstanbul ve çevresinde yetişen *Amanita phalloides* türlerinin 100 gramında 4.4-13.3 mg alfa-amanitin bulunduğu bildirilmiştir. Alfa-amanitin, böbreklerde proksimal ve distal tubulus hücrelerini zedelemektedir. Ölümle 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 hücresine safra asitlerinin transportunu yapan taşıma sistemi aracılığı ile girerek kolayca hücre içine nüfuz etmektedir (4).

*A. phalloides* grubu mantar zehirlenmelerinin antidotu yoktur; semptomaya yönelik destekleyici

tedavi uygulanır. Günümüzde tedavi olarak; midenin yıkanması, aktif kömür uygulaması, sıvı-elektrolit replasmanı yanında 300.000-1.000.000 U/kg/gün dozunda damar içi (iv) kristalize penisilin G ve 20 mg/kg/gün iv yoldan silibinin kullanılmaktadır (5). Silibininin karaciğeri koruyucu etki mekanizması belli değildir. Ancak amanitinlerin enterohepatik dolanımı ile birlikte hem phalloidin hem de alfa-amanitinin hepatosit membranına bağlanmasını ve hücreye girişini engellediği deneysel olarak gösterilmiştir. Hepatoprotektif etkisi olduğu öne sürülen diğer bir madde ise tiotik asittir ( $\alpha$  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).

Alfa-pinen ( $C_{10}H_{16}$ ), rezene (*Foeniculum vulgare*, fennel) uçucu yağında bulunan majör bileşiklerdendir (6). Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada (7) karbontetraklorürle oluşturulmuş karaciğer toksisitesinde karaciğeri koruyucu etkisi bildirilmiştir.

Bu çalışmada sıçanlara alfa-amanitin verilerek oluşturulan zehirlenme modelinde, alfa-pinen ve silibinin moleküllerinin karaciğer ve böbrek dokusu üzerine etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik yönlerden araştırılması amaçlanmıştır.

## Yöntem

### Kimyasallar

Alfa-amanitin ve silibinin Sigma'dan (Steinheim-Germany) ve alfa-pinene [(1R)-(+)-alpha-Pinene] Aldrich'ten (Steinheim-Germany) sağlandı. Alfa-amanitin distile su içerisinde, silibinin ise etil-alkol içerisinde çözüldü.

### 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. Çalışmaya başlamadan önce Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan Etik Kurul onayı alındı.

## Deney prosedürü

*Ön çalışma:* Alfa-amanitin toksisitesinin hem karaciğer hem de diğer organlarda anlamlı bir seviyede oluşturulabilmesi, dolayısı ile sağlam temellere oturtulabilmesi için, çalışmanın başında alfa-amanitin dört ayrı dozda, farklı gruplara uygulandı. Amanitin dozları belirlenirken Bergö ve ark (8) ve Wieland&Faulstich'in (9) çalışmaları dikkate alındı. Buna göre alfa-amanitin dozları 1.0, 2.0, 3.0 ve 4.5 mg/kg olacak şekilde seçildi. Alfa-amanitin sıçanlarda 1.0 ve 2.0 mg/kg dozlarında biyokimyasal ve histopatolojik parametreler yönünden anlamlı bir toksisite oluşturmadığı, 3.0 ve 4.5 mg/kg dozlarında ise anlamlı bir toksisitenin meydana geldiği saptandı. Ancak 4.5 mg/kg dozunun oluşturduğu toksisitenin çok ağır boyutlarda olduğu ve çalışma grubundaki altı adet sıçandan 4'ünün öldüğü gözlemlendi. Bunun üzerine 3.0 mg/kg dozunda alfa-amanitin uygulamasının Sprague-Dawley ırkı sıçanlarda alfa-amanitin toksisitesi oluşturmak için daha uygun olduğuna karar verildi ve bu çalışmada alfa-amanitin dozu 3.0 mg/kg olarak seçildi.

Her birinde altı adet sıçan bulunan dört deney grubu oluşturuldu. Birinci gruba (kontrol grubu) serum fizyolojik (0.1 mL) 5 gün süreyle periton içi (ip) yolla uygulandı. Diğer gruplara (alfa-amanitin grubu, silibinin grubu ve alfa-pinen grubu) 3 mg/kg alfa-amanitin çalışmanın başında tek bir doz olarak (ip) uygulandı (8,9). Buna ek olarak üçüncü gruba 50 mg/kg silibinin (10) ve dördüncü gruba 0.25 ml/kg alfa-pinen (7) çalışmanın başından itibaren beş gün süreyle ip yoldan uygulandı. Çalışmanın altıncı günü sekiz saat aç bırakılmış olan tüm hayvanlardan anestezi altında kalp içi girişimle kan alındı. Daha sonra hayvanların hepsi sakrifiye edilip karaciğer ve böbrekleri çıkarılarak % 10'luk tamponlu formalinle fikse edildi.

Çalışma gruplarındaki hayvanların vücut ağırlıkları kaydedildi ve çalışmanın başından sonuna vücut ağırlığında meydana gelen değişim aşağıdaki formüle göre 100 üzerinden standardize edildi:

$$\text{Vücut ağırlığı değişimi (\%)} = 100 \times \frac{(\text{Ağırlık}_{\text{son}} - \text{Ağırlık}_{\text{ilk}})}{\text{Ağırlık}_{\text{ilk}}}$$

Silibinini çözmek için kullanılan etil alkolün silibininin aktivitesi üzerinde herhangi bir olumlu veya olumsuz etkisinin olup olmadığını araştırmak amacıyla etil alkol kontrol grubu oluşturuldu. Bu

amaçla 0.2 ml etil alkol periton içi yolla beş gün süreyle bu gruba uygulandı. Çalışmanın altıncı günü yapılan ölçümlerde ve histopatolojik değerlendirmede etil alkol grubu ile serum fizyolojik grubu arasında anlamlı fark olmadığı saptandı.

## Karaciğer fonksiyonlarının ölçümü

Serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), kan üre-nitrojen miktarı (BUN) ve kreatinin konsantrasyonları, Vitros D60 II cihazında ticârî kitler kullanılarak ölçüldü. Ölçümden önce cihazın kalibrasyonu ve kontrol çalışmaları yapıldı.

## Histopatolojik araştırma

Hayvanlardan alınan karaciğer ve böbrek dokuları % 10'luk formalinle fikse edilip parafin bloklara gömüldü, 4 µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eosinle boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

Karaciğer preparatları her 10 büyük büyütme alanında balon dejenerasyonu gösteren hepatosit sayısı ve steatoz, hepatositlerde apoptoz ve/veya nekroz ve köprüleşme nekrozu yönünden değerlendirildi.

Böbrek preparatları ise; her 10 büyük büyütme alanında böbrek tubuluslarında konjesyon, hidropik dejenerasyon, tubulus lümeninde eozinofilik madde, nekrotik artık ve proteinöz materyal, tubuler nekroz, mononükleer hücre infiltrasyonu ve tubuler dilatasyon yönünden değerlendirildi. Değerlendirmede: “(-) yok, (+) hafif derecede var, (++) orta derecede var ve (+++) şiddetli derecede var” şeklinde bir derecelendirme kullanıldı. Her bir çalışma grubunun puanları toplanıp o gruptaki denek sayısına (ölen hayvanlar düşüldükten sonra) bölünerek hasar oranı elde edildi.

## İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edildi. Çalışma grupları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edildi. Anlamlı bulunan gruplar arasında çoklu karşılaştırma (post-hoc) testlerinden Tukey's HSD (Tukey's honestly significant difference) testi kullanıldı. Olasılık değerinin 0.05'ten küçük olması (p<0.05) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (11).

## Bulgular

Alfa-amanitin ve silibinin grubunda birer sıçan çalışma sırasında öldü. Çalışma gruplarına ait biyokimya sonuçları Tablo 1’de verildi. Buna göre: Alfa-amanitin grubunda ALT (107.5 U/L) ve BUN (138.0 mg/dL) değerlerinin, alfa-pinen grubunda ALT (90.5 U/L) ve kreatinin (2.67 mg/dL) değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı seviyede yükseldiği ( $p<0.05$ ), silibinin grubunda ise ALT değerinin (64.6 U/L) alfa-amanitin grubuna göre anlamlı seviyede düştüğü saptandı ( $p<0.05$ ).

Çalışma gruplarının karaciğerlerinde histolojik yönden herhangi bir patolojiye rastlanmadı (Şekil 1). Bu nedenle karaciğer histopatolojisinin skorlandığı bir tabloya gerek görülmedi. Ancak alfa-amanitin ve alfa-pinen gruplarındaki sıçanların böbreklerinde fokal genişleme, interstisyel kanama, tubulus epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, tubuluslarda ve interstisyumda seyrek akut iltihap hücreleri izlenirken (Şekil 2,3), silibinin grubunda bu bulguların daha hafif olduğu saptandı (Şekil 4). Böbrek histopatolojisine ait skor değerleri Tablo 2’de verildi.

Serum fizyolojik grubunda % 8.87 vücut ağırlığı artışı, alfa-amanitin grubunda % -26.78, silibinin grubunda % -13.01 ve alfa-pinen grubunda % -17.65 oranında ağırlık kaybı oldu.

Tablo 1. Çalışma gruplarına ait biyokimya sonuçları (ortalama  $\pm$  standart sapma)

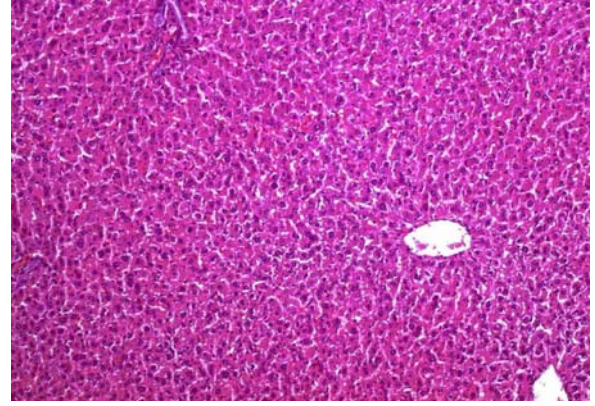
Gruplar	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)
Serum fizyolojik	43.5 $\pm$ 5.2	177.0 $\pm$ 38.2	17.0 $\pm$ 1.7	0.28 $\pm$ 0.04
Alfa-amanitin	<sup>a</sup> 107.5 $\pm$ 29.4	276.8 $\pm$ 49.8	<sup>a</sup> 138.0 $\pm$ 90.2	0.90 $\pm$ 0.89
Silibinin+Alfa-amanitin	<sup>b</sup> 64.6 $\pm$ 9.8	277.0 $\pm$ 87.6	66.8 $\pm$ 67.9	0.40 $\pm$ 0.29
Alfa-pinen+Alfa-amanitin	<sup>a</sup> 90.5 $\pm$ 27.7	308.7 $\pm$ 207.8	90.0 $\pm$ 59.6	<sup>abc</sup> 2.67 $\pm$ 0.52
F/p değerleri	9.915/0.001	1.282 / 0.312	3.648/0.035	2.6276/0.000

Post-hoc Tukey’s HSD (honestly significant difference) test sonuçları:

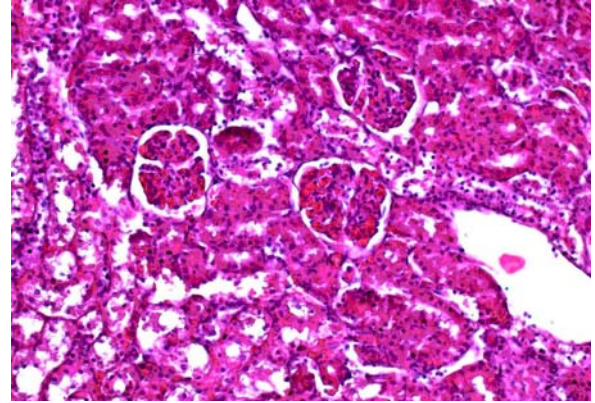
a:  $p<0.05$  (Serum fizyolojik grubu ile karşılaştırma).

b:  $p<0.05$  (Alfa-amanitin grubu ile karşılaştırma).

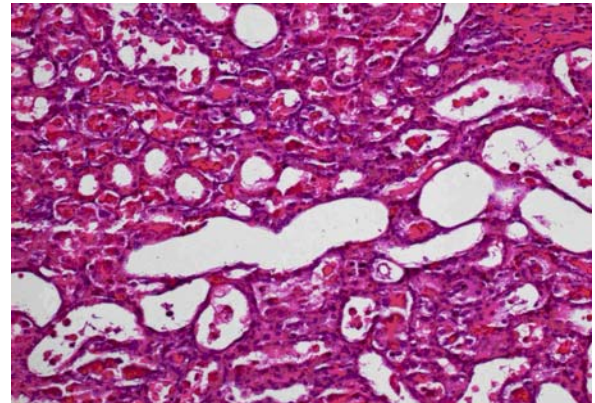
c:  $p<0.05$  (Silibinin grubu ile karşılaştırma).



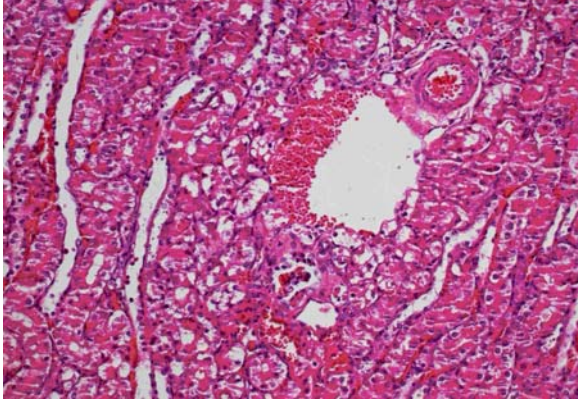
Şekil 1. Alfa-amanitin grubuna ait karaciğer dokusu. HE, x10.



Şekil 2. Alfa-amanitin grubuna ait böbrek dokusu. HE, x20.



Şekil 3. Alfa-pinen grubuna ait böbrek dokusu. HE, x20.



Şekil 4. Silibinin grubuna ait böbrek dokusu. HE, x20.

Tablo 2. Çalışma gruplarının böbrek dokusu hasar oranları

Grup	I	II	III	IV	V	VI	VII
Serum fizyolojik (SF)	-	-	-	-	-	-	-
Alfa-amanitin	+	++	++	+	++	++	+
Silibinin	+	+	+	+	+	+	+
Alfa-pinen	++	+	++	+	++	++	+++

\*I: Konjesyon, II: Hidropik şişme, III: Tubulus lumenlerinde eozinofilik madde, IV: Nekrotik artık ve proteinöz materyal, V: Tubuler nekroz, VI: Mononükleer hücre infiltrasyonu, VII: Tübüler dilatasyon.

## Tartışma ve sonuç

Çalışma sonucu elde edilen bulgular göz önünde bulundurulduğunda; alfa-amanitinın sıçan karaciğeri üzerinde, karaciğer histolojisine yansımayan, ancak biyokimyasal yönden anlamlı olan bir akut karaciğer toksisitesine yol açtığı saptanmıştır. Bu bulgular biyokimyasal enzim düzeyleri yönünden benzer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (4,12). Böbrekler üzerinde ise anlamlı biyokimyasal ve histopatolojik bulgular gözlenmiş olup bu bulgular akut böbrek hasarını açıkça göstermektedir. Elde edilen böbrek bulgularının benzer çalışmalarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir (4,13).

Silibinin, bizim çalışmamızda hem karaciğer hem de böbrekler üzerinde kısmen de olsa tedavi edici etki gösterirken, başka bir çalışmada etkili bulunmadığı bildirilmiştir (12). Bizim çalışmamızda sıçan, diğer çalışmada ise fare kullanılması bunda etkili olabilir. Bunun sebebi ileri bazı çalışmalarla araştırılabilir.

Alfa-pinenin, bir çalışmada karbontetraklorürle oluşturulmuş akut karaciğer toksisitesi üzerinde etkili bulunduğu bildirilmiştir (7). Buna dayanarak alfa-amanitin toksisitesi üzerinde de etkili olabileceği düşüncesiyle bu çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışma bulguları, alfa-pinenin alfa-amanitinın yapmış olduğu akut karaciğer toksisitesi üzerinde kısmen etkili olduğu, ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı yönündedir.

Alfa-amanitinın böbrekler üzerinde yapmış olduğu akut böbrek hasarı üzerine alfa-pinenin etkisine bakıldığında; serum BUN değerlerini düşürdüğü, ancak bunun istatistiksel yönden anlamlı bulunmadığı saptanmıştır. Serum kreatinin değerleri ise alfa-pinen grubunda anlamlı derecede artmıştır. Alfa-pinenle ilgili benzer bir çalışma olmadığı için bu durumun neden kaynaklandığı anlaşılamamıştır. Böbrek histopatolojisi bulguları ise alfa-pinenin akut böbrek hasarı üzerinde anlamlı bir iyileşme yapamadığı yönündedir. Alfa-pinenle ilgili olarak benzer bir çalışmaya literatürde rastlanmamış olduğu için tartışması yapılamamıştır. Çalışma gruplarının vücut ağırlığı kayıpları dikkate alındığında; silibinin ve alfa-pinen grubunun alfa-amanitin grubuna göre daha az vücut ağırlığı kaybına neden oldukları gözlenmiştir.

Bu çalışmada alfa-amanitinın sıçanlarda karaciğerden çok böbrekler üzerinde akut bir hasar yaptığı saptanmıştır. Akut böbrek hasarı durumlarında sıvı-elektrolit replasmanının ve zorlu diürez yaptırılmasının önemli olduğu bilinmektedir (14). Bu çalışmanın, yukarıdaki bilgiye dayanarak, ayrıca sıvı-elektrolit replasmanı tedavisi eklenmiş sıçanlarda yapılması anlamlı sonuçlar verebilir.

Sonuç olarak, silibinin alfa-amanitin zehirlenmesinde biyokimyasal ve histo-patolojik yönden karaciğer enzimlerinde ve böbrek histolojisinde anlamlı bir düzelme sağlarken, alfa-pinenin gösterdiği düzelme anlamlı bulunmamıştır. Çalışmanın, sıvı-elektrolit replasmanı yapılmış yeni çalışma gruplarıyla zenginleştirilmesi önerilebilir.

## Kaynaklar

1. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Dokuzuncu baskı, Ankara: Hacettepe-TAŞ Kitapçılık; 2000.
2. Dökmeci İ. Toksikoloji (akut zehirlenmelerde tanı ve tedavi). İstanbul: Fatih Gençlik Matbaası; 1988.

3. Kurtođlu S. Zehirlenmeler (teşhis ve tedavi). Kayseri: Erciyes Üniversitesi Yayınları No: 30; 1992.
4. Vural N. Toksikoloji. Ankara: Ankara Üniv Ecz Fak Yayınları No:73; 1996.
5. Goldfrank LR, Flamenbaum NE, Lewin NA, Weisman RS, Hawland M Ann, Hoffman RS. Goldfrank's toxicologic emergencies. Sixth ed. In: Mushrooms: Toxic and hallucinogenic. Editet by: Goldfrank LR. Printed in USA; 1998, pp: 1207-20.
6. Simándi, B., Deák, A., Rónyani, E., Yanxiang, G., Veress, T., Lemberkovic, et al. Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of Fennel oil. J Agric Food Chem 1999;47:1635-40.
7. Özbek H, Bayram İ, Cengiz N, Uğraş S. Foeniculum vulgare bileşenlerinin letal doz düzeyleri ve akut karaciğer toksisitesi üzerine etkisinin biyokimyasal ve histopatolojik analizi. Türk Farmakoloji Derneđi 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi 28 Eylül-1 Ekim 2005, 40.
8. Bergö M, Wu G, Ruge T, Olivecrona T. Down-regulation of adipose tissue lipoprotein lipase during fasting requires that a gene, separate from the lipase gene, is switched on. J Biol Chem 2002;277:11927-32.
9. Wieland T, Faulstich H. Amatoxins, phallotoxins, phallolysin, and antamanide: the biologically active components of poisonous *Amanita mushrooms*. CRC Crit Rev Biochem 1978;5:185-260.
10. Horváth MÉ, González-Cabello R, Blázovics A, Looij M, Barta I, Müzes G, et al. Effect of silibinin and vitamin E on restoration of cellular immune response after partial hepatectomy. J Ethnopharmacol 2001;77:227-32.
11. Sümbülođlu K, Sümbülođlu V. Biyoistatistik. Sekizinci baskı, Ankara: Hatibođlu Yayınevi; 1998.
12. Tong TC, Hernandez M, Richardson WH, Betten DP, Favata M, Riffenburgh RH, et al. Comparative treatment of amanitin poisoning with N-acetylcysteine, benzylpenicillin, cimetidine, thioctic acid, and silybin in a murine model. Ann Emerg Med 2007; 50:282-8.
13. Wills BK, Haller NA, Peter D, White LJ. Use of amifostine, a novel cytoprotective, in alpha-amanitin poisoning. Clin Toxicol 2005;43:261-7.
14. Tiseo M, Martelli O, Mancuso A, Sormani MP, Bruzzi P, Di Salvia R, et al. Short hydration regimen and nephrotoxicity of intermediate to high-dose cisplatin-based chemotherapy for outpatient treatment in lung cancer and mesothelioma. Tumori 2007;93:138-44.