



**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ FATİH
SULTAN MEHMET EğİTİM VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ACİL TIP KLİNİğİ**

**SIçANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN AKUT
KARACİğER YETMEZLİğİ MODELİNDE FAVİPİRAVİRİN
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Dr. Abidin Bayram

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL-2022



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ FATİH
SULTAN MEHMET EĞİTİM VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ACİL TIP KLİNİĞİ**

**SIÇANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN AKUT
KARACİĞER YETMEZLİĞİ MODELİNDE FAVİPİRAVİRİN
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Dr. Abidin Bayram

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Tuba Cimilli Öztürk

Uzm. Dr. Cansu Arslan Turan

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL-2022



TEŞEKKÜR

Acil Tıp Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi birikimi ve tecrübeleri ile yol gösteren saygıdeğer hocam ve aynı zamanda tez danışmanım olan, meslek hayatımda her zaman kendime örnek aldığım Sayın Doç. Dr.Tuba Cimilli Öztürk'e,

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk ve onur duyduğum, her zaman yanımda olacağını bildiğim, değerli tez danışmanlarımdan Uzm. Dr. Cansu Arslan Turan'a,

Eğitimim süresince tecrübelerini ve bilgilerini benimle paylaşan, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, kendilerine çok şey borçlu olduğum değerli uzmanlarım abla olarak bildiğim Uzm. Dr. Fatma Sarı Doğan, Uzm. Dr. Ebru Ünal Akoğlu, Uzm. Dr. Burcu Azapoğlu Kaymak, Uzm. Dr. Merve Ekşioğlu ve abilerim Uzm. Dr. Yılmaz Aydın, Uzm. Dr. Mehmet Koçak, Uzm. Dr. Tevfik Patan, Uzm. Dr. Rasim Yorulmaz, Uzm. Dr. Oktay Öcal ve Uzm. Dr. Mazlum Kılıç'a,

Asistanlık sürem boyunca büyük bir ailenin parçası gibi hissettiğim ve kardeşim bildiğim tüm asistan kardeşlerime ve deneyimleriyle bana yol gösteren her zaman yanımda olan abi ve abla bildiğim tüm kıdemlilerime,

Deney sürecinde her türlü desteği sağlayan Vet. Hek. Engin Sümer'e,

Hastanemiz patoloji uzmanı sayın Uzm. Dr. Adnan Somay'a,

Acil tıp uzmanlığına yeni başlayacağım bu dönemde bana kusursuz bir rol model olan, çocukluğumdan beri bu rol modelliği benim için devam eden Acil Tıp Uzmanı Sayın Doç. Dr. Başak Bayram'a,

Sevgileri, fedakarlıkları ve her daim yanımda olup verdikleri destekleri için sevgili babam Fevzi Bayram, annem Kevser Bayram'a, sevgili kardeşlerim Aykut Bayram ve Berkay Bayram'a,

Varlığıyla bana güç veren, her zaman yanımda olup beni destekleyen hayatıma anlam katan güzel eşim Ecem Bayram'a,

Sonsuz şükran ve en içten sevgilerimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iv
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. COVID-19	2
2.1.1. COVID-19 Spesifik Tedavileri	2
2.1.1.1. Favipiravir	3
3. GEREÇ VE YÖNTEM	5
3.1. DENEKLER	6
3.2. DENEY PROTOKOLÜ VE GRUPLAR	6
3.3. DENEYDE KULLANILAN İLAÇLAR	7
3.4. DENEY PROSEDÜRÜ	7
3.5. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	10
3.5.1. Böbrek Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri	11
3.5.2. Karaciğer Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri	12
3.5.3. Akciğer Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri	14
3.5.4. Kalp Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri	15
3.6. İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER	16
4. BULGULAR	17

4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL ANALİZİ	17
4.1.1. Karaciğer Histopatolojik Bulguları ve İstatistiksel Analizi.....	18
4.1.2. Böbrek Histopatolojik Bulguları ve İstatistiksel Analizi.....	23
4.1.3. Kalp Histopatolojik Bulguları ve İstatistiksel Analizi	26
4.1.4. Akciğer Histopatolojik Bulguları ve İstatistiksel Analizi	28
4.2. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER VE İSTATİSTİKSEL ANALİZİ ..	32
4.2.1. Biyokimyasal Ölçümler	32
4.2.2. Biyokimyasal Ölçümlerin İstatistiksel Analizi.....	35
5. TARTIŞMA	40
6. KISITLILIKLAR	44
7. SONUÇ	45
8. KAYNAKLAR.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

AH	: Alveoler hemoraji
ALT	: Alanin aminotransferaz
ARDS	: Akut respiratuar distres sendromu
AST	: Aspartat aminotransferaz
B-B	: Bronşit-bronşiolit bulguları
COVID-19	: Coronavirus hastalığı-2019
DK	: Duktal kolestaz
DSÖ	: Dünya sağlık örgütü
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
F	: Fibrozis
HD	: Hyalin membran oluşumu
HEH	: Havayolu epitel hasarı
HSD	: Hepatoselüler dejenerasyon
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
IVIG	: İntravenöz immünglobulin
İMİ	: İnterstisyel mononükleer iltihap
İÖ	: İnterstisyel ödem
LK	: Lobüler kolestaz
LLİ	: Lobüler lökosit infiltrasyonu
MT	: Mikrotrombüs
N	: Nekroz
NaCl	: Sodyum klorür
PLİ	: Portal lökosit infiltrasyonu
PO	: Per oral
PVMİ	: Perivasküler mononükleer iltihap
QTc	: Düzeltilmiş QT aralığı
RNA	: Ribonükleik asid
S	: Steatoz
SARS Cov-2	: Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2
SD	: Sinuzoidal dilatasyon
T2P	: Tip 2 pnömosit proliferasyonu

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Deney hayvanlarının gruplandırılması.....	6
Tablo 2. Böbrek dokusu skörlama sistemi	11
Tablo 3. Karaciğer dokusu skörlama sistem	13
Tablo 4. Akciğer dokusu skörlama sistemi	14
Tablo 5. Kalp dokusu skörlama sistemi	15
Tablo 6. Karaciğer skörları.....	18
Tablo 7. Hayvanların karaciğer dokularındaki histopatolojik değörlendirmeleri ile gruplar arasında yapılan karşılaştırılma	20
Tablo 8. Böbrek Skörları	23
Tablo 9. Hayvanların böbrek dokularındaki patolojik değörlşiklik skörlarınının gruplara göre karşılaştırılması.....	25
Tablo 10. Kalp Skörları	26
Tablo 11. Hayvanların kalp dokularındaki patolojik değörlşiklik skörlarınının gruplara göre karşılaştırılması.....	27
Tablo 12. Akciğer Skörları	28
Tablo 13. Hayvanların akciğer dokularındaki patolojik değörlşiklik skörlarınının gruplara göre karşılaştırılması.....	30
Tablo 14. Deneyin 0.gününde öölçölen	33
Tablo 15. Deneyin 1. gününde öölçölen	33
Tablo 16. Deneyin 4.gününde öölçölen	34
Tablo 17. Deneyin 6.gününde öölçölen	34
Tablo 18. Grupların dağılımları	35
Tablo 19. Gruplara Göre ALT ve AST Öölçöüm Değörllerinin Karşılaştırılması	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Deney prosedürü	9
Şekil 2. Karaciğer, Grup2, skor3; Hepatositlerde belirgin granülovakuoler degenerasyon ve nekroz. (ok ile sınırlı alan)H&EX200	19
Şekil 3. Karaciğer, Grup3, skor2; Hepatositlerde belirgin steatoz.(ok) H&EX400	19
Şekil 4. Karaciğer, Grup3, skor2; Hepatositlerde steatoz ve nekroz.(ok) H&EX400	19
Şekil 5. Karaciğer, Grup3, skor3; Soluk renkli alanlar halinde granülovakuoler degenerasyon gösteren hepatositler.H&EX100	19
Şekil 6. Karaciğer, Grup4, skor3; Hepatositlerde yaygın steatoz. H&EX400	19
Şekil 7. Böbrek , G3 grup,Skor1; Sınırlı alanda (ok) tubuluslarda granülovakuoler degenerasyon.H&Ex100	24
Şekil 8. Böbrek, Grup2, Skor3; Kortikal tubuluslarda yaygın granülovakuoler degenerasyon. H&Ex100	24
Şekil 9. Böbrek, Grup4, Skor3; Kortikal tubuluslarda yaygın granülovakuoler degenerasyon. H&Ex200	24
Şekil 10. Kalp,G1 grup; Düzenli yapıda kalp kası. H&Ex100.....	27
Şekil 11. Kalp,G4 grup; Myositler arasında minimal mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu (ok) H&Ex200	27
Şekil 12. Grup 1; Küçük büyütmede düzenli görünümde akciğer parenkimi. H&Ex40	29
Şekil 13. Grup 2; parenkimde nötrofillerden zengin mikst iltihabi infiltrasyon . H&Ex200	29
Şekil 14. Grup2; Tip 2 pnömosit proliferasyonu.(ok) H&Ex400.....	29
Şekil 15. Grup3: Örneklerin birinde nispeten düzenli yapıda bronş ve alveolar parenkim dokusu. H&Ex100.....	29
Şekil 16. Grup 4; Perivasküler ve interstisyel yoğun mononükleer iltihabi infiltrasyon. H&Ex200	29
Şekil 17. Grupların dağılımları.....	35
Şekil 18. ALT ölçüm değerlerinin dağılımları	38
Şekil 19. AST ölçüm değerlerinin dağılımları	39

ÖZET

AMAÇ: COVID-19 tüm dünyayı etkileyen bir pandemiye neden olduğundan beri birçok ilacın tedavide etkinliği ve yan etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Bu ilaçlardan biri olan favipiravir hakkında da birçok çalışma yapılmış olup favipiravir kullanımının karaciğer enzimlerini artış yönünde etkilediği sonuçları bazı çalışmalarda gösterilmiş ve bu nedenle karaciğer yetmezliği olan hastalarda tam doz favipiravirin kullanılmaması önerilmiştir. Çalışmamızın primer amacı; favipiravir tedavi dozunun karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp dokuları üzerine patolojik etkilerinin incelenmesidir. Sekonder amaç ise sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş akut karaciğer yetmezliği modelinde favipiravir tedavi dozunun serum transaminazları üzerine etkisinin incelenmesidir.

GEREÇ YÖNTEM: Bu çalışma için oluşturulmak istenen deneysel akut karaciğer yetmezliği modeli, sıçanlar için birçok çalışmada belirlendiği gibi parasetamol 1000 mg/kg per oral (PO) uygulanarak oluşturulmuştur.

Çalışmaya denek olarak katılmak üzere 190-210 g ağırlığında 22 adet Spraque-Dawley cinsi erişkin sıçan alındı, rastgele 4 gruba ayrıldı.

Birinci gruba 20 ml/kg per oral normal salin verilip kontrol grubu olarak belirlendi. İkinci gruba, parasetamol (1000 mg/kg) per oral (PO) verildi. Üçüncü gruba favipiravir (ilk gün 600 mg/kg yükleme dozunu takiben sonraki dört gün 300 mg/kg/gün) per oral (PO) verildi. Dördüncü gruba ilk gün parasetamol (1000 mg/kg) PO verildikten 24 saat sonra favipiravir (ilk gün 600 mg/kg yükleme dozunu takiben sonraki dört gün 300 mg/kg/gün) PO verildi.

0.günde; ilaç verilmeden önce bütün hayvanlardan kan örnekleri alınarak ALT-AST ölçümleri yapıldı. Kontrol grubu olan grup 1'deki hayvanlara 20 ml/kg po izotonik tek doz verildi. Grup 2 ve grup 4 teki hayvanlara parasetamol 1000 mg/kg po verildi.

1.günde; grup 2 ve grup 4 teki hayvanlardan parasetamol uygulaması sonrası 24 saat geçtikten sonra kan alınarak ALT-AST ölçümleri yapıldı. Yine 1.günde grup 3 ve grup 4 teki hayvanlara favipiravir yükleme dozu (600 mg/kg po) verildi.

2., 3., 4., ve 5. günlerde grup 3 ve grup 4 teki hayvanlara favipiravir devam dozu (300 mg/kg/gün po) verildi. 4.günde araştırmaya katılan tüm hayvanlardan kan alınarak ALT-AST ölçümleri yapıldı.

6.günde araştırmaya katılan tüm hayvanlardan kan alınarak ALT-AST ölçümleri yapıldı. Kan alma işleminden sonra tüm hayvanlar derin anesteziye sokularak (yüksek saflıkta karbondioksit ile) dekapite edildi. Hayvanların karaciğer, böbrek, kalp ve akciğerleri makroskopik olarak incelendikten sonra histopatolojik inceleme yapılması için %10' luk formaldehid solüsyonuna konuldu ve deney sonlandırıldı.

BULGULAR: Grupların karaciğer histopatolojik inceleme sonuçları karşılaştırıldığında sadece favipiravir ve parasetamol + favipiravir uygulanan grup 3 ve grup 4' teki sıçanlarda steatoz açısından diğer gruplara göre anlamlı yüksek skorlar saptanmıştır, bunun yanında hepatoselüler dejenerasyon ve nekroz açısından karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar saptanmamıştır. Akciğer dokuları histopatolojik skorları karşılaştırıldığında T2P ve PVMİ skorları açısından sadece favipiravir uygulanan grup 3' teki sıçanlarda diğer gruplara göre anlamlı düşük saptanmıştır. Böbrek ve kalp dokuları histopatolojik skorları karşılaştırıldığında ise gruplar arasında anlamlı hiçbir değişiklik saptanmamıştır.

ALT-AST ölçümleri karşılaştırıldığında sadece favipiravir uygulanan grup 3' teki sıçanlarda ilk gün ile son gün ölçülen değerler arasında anlamlı değişiklik saptanmamıştır, bunun yanında sadece parasetamol uygulanan grup 2 ile parasetamol + favipiravir uygulanan grup 4 arasındaki ölçümler karşılaştırıldığında ALT değerleri grup 4' te anlamlı yüksek saptanmış olup AST değerlerinde anlamlı fark saptanmamıştır.

SONUÇ: Favipiravirin tam doz uygulanmasıyla karaciğer dokusunda patolojik değişikliklere yol açtığını ve bunun steatozla sınırlı kaldığını, nekroz gibi geri döndürülemez boyutta hasarlara neden olmadığı sonucuna varılmıştır. Deneysel olarak oluşturulmuş akut karaciğer yetmezliği modelinde favipiravirin tam doz uygulanmasının serum ALT değerlerini anlamlı derecede yükselttiğini ancak AST değerlerinde anlamlı değişiklik yapmadığını, tek başına favipiravir tam doz uygulamasında ise ALT-AST değerlerinde anlamlı bir yükselme yapmadığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlara dayanarak favipiravirin karaciğer yetmezliği olan hastalarda yakın klinik takiple tedavi dozlarında kullanılabileceği düşünülebilir. Ancak daha fazla denekle yapılacak hayvan deneylerine ve insanlar üzerindeki etkilerini ortaya çıkarabilecek daha fazla klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: favipiravir, akut karaciğer yetmezliği, covid-19, sıçan modeli



ABSTRACT

AIM: Since COVID-19 caused a pandemic that affected the whole world, the efficacy and side effects of many drugs in the treatment began to be investigated. Many studies have also been conducted on favipiravir, one of these drugs, and some studies have shown that the use of favipiravir affects liver enzymes in an increased way, and therefore it is recommended not to use full-dose favipiravir in patients with liver failure.

The primary aim of our study is to examine the pathological effects of favipiravir treatment dose on liver, kidney, lung and heart tissues. The secondary aim is to examine the effect of favipiravir treatment dose on serum transaminases in an experimentally induced acute liver failure model in rats.

MATERIALS AND METHODS: The experimental acute liver failure model desired to be created for this study was created by administering paracetamol 1000 mg/kg per oral (PO) for rats, as determined in many studies.

Twenty-two Spraque-Dawley adult rats weighing 190-210 g were taken to participate in the study as subjects, and they were randomly divided into 4 groups.

The first group was given 20 ml/kg per oral normal saline and determined as the control group. The second group was given paracetamol (1000 mg/kg) per oral (PO). The third group was given per oral (PO) favipiravir (600 mg/kg loading dose on the first day, followed by 300 mg/kg/day for the next four days). The fourth group was given paracetamol (1000 mg/kg) PO on the first day and favipiravir (600 mg/kg loading dose on the first day followed by 300 mg/kg/day PO for the next four days) 24 hours later.

On day 0; before drug administration, blood samples were taken from all animals and ALT-AST measurements were made. Animals in group 1, the control group, were given a single dose of 20 ml/kg po isotonic. Paracetamol 1000 mg/kg po was given to the animals in group 2 and group 4.

On the 1st day; ALT-AST measurements were made by taking blood from animals in group 2 and group 4 after 24 hours after paracetamol administration. Again on day 1, animals in group 3 and group 4 were given a loading dose of favipiravir (600 mg/kg po).

On the 2nd, 3rd, 4th, and 5th days, animals in group 3 and group 4 were given a follow-up dose of favipiravir (300 mg/kg/day po). On the 4th day, blood was taken from all animals participating in the study and ALT-AST measurements were made.

On the 6th day, ALT-AST measurements were made by taking blood from all animals participating in the study. After blood collection, all animals were decapitated by deep anesthesia (with high purity carbon dioxide). After examining the liver, kidney, heart and lungs of the animals macroscopically, they were placed in 10% formaldehyde solution for microscopic examination and the experiment was terminated.

RESULTS: When the liver histopathological examination results of the groups were compared, rats in group 3 and group 4 treated with only favipiravir and paracetamol + favipiravir, significantly higher scores were found in terms of steatosis compared to other groups. In addition, no significant differences were found when compared in terms of hepatocellular degeneration and necrosis. When the histopathological scores of the lung tissues were compared, it was found that the rats in group 3, which received only favipiravir, were significantly lower than the other groups in terms of T2P and PVMI scores. When the histopathological scores of kidney and heart tissues were compared, no significant difference was found between the groups.

When ALT-AST measurements were compared, no significant difference was found between the values measured on the first day and the last day in rats in group 3, which were administered only favipiravir. In addition, when the measurements between group 2 administered only paracetamol and group 4 administered paracetamol + favipiravir were compared, ALT values were found to be significantly higher in group 4, and no significant difference was found in AST values

CONCLUSION: It was concluded that favipiravir caused pathological changes in liver tissue with full dose administration, which was limited to steatosis and did not cause irreversible damage such as necrosis. In an experimental model of acute liver failure, full dose administration of favipiravir significantly increased serum ALT values but did not significantly change AST values. It was concluded that favipiravir alone did not cause a significant increase in ALT-AST values in full dose administration. Based on these results, it can be considered that favipiravir can be used

at therapeutic doses in patients with hepatic impairment with close clinical follow-up. However, animal experiments with more subjects and more clinical studies that can reveal the effects on humans are needed.

Keywords: favipiravir, COVID-19, acute liver failure, rat model



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Aralık 2019 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından “SARS-CoV2” olarak tanımlanan zarflı, tek sarmallı RNA virüsü ailesinden olan coronavirüs, DSÖ verilerine göre Ağustos 2022 itibariyle tüm dünyada 6.000.000’ dan fazla kişinin ölümüne neden olmuştur. Tedavide çeşitli ilaçlar denenmekle beraber anti-influenza ilacı olarak Japonya’da geliştirilen Favipiravir’in de pandeminin başında yapılan bazı çalışmalarda etkili olabileceği gösterilmiştir (1). Deneyin yapıldığı Nisan 2021 de favipiravir birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de COVID-19 tedavisinde acil kullanım onayı ile birlikte kullanılmaktaydı ancak güncel olarak yapılan randomize kontrollü çalışmalarla favipiravirin COVID-19 tedavisinde etkili olmadığı gösterilmiş olup tüm dünya ile birlikte ülkemizde de klinik yönetim kılavuzlarından kaldırılmıştır (2). Favipiravirin ayrıca yaşamı tehdit edici Ebola virüs tedavisinde de etkin olduğu gösterilmiştir (3). Favipiravirin influenza ve ebola gibi bazı RNA virüslerine karşı etkinliği bilindiğinden ilerleyen yıllarda yine bir RNA virüsüne bağlı gelişecek olası bir pandemide kullanılması gündeme gelebilir. Bu etkinliğinin yanında yapılan çalışmalar hepatotoksisiteye neden olduğunu ve serum transaminaz değerlerini yükselttiğini göstermiştir (4). Bu durum antiviral etkinliğinden yararlanmayı kısıtlamaktadır. Ayrıca yapılan toksisite çalışmalarında favipiravirin karaciğer, böbrek ve testiste biriktiği gösterilmiştir (5). Karaciğere toksik etkisi ortaya koyulan favipiravirin karaciğer yetmezliği olan hastalardaki metabolize edilişi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar karaciğer yetmezliği olan hastalarda favipiravirin doz azaltılarak kullanılmasını önermektedir (6). Azaltılarak verilen favipiravir dozunun etkin anti viral yanıt oluşturduğuna dair literatürde çalışma yoktur. SARS-CoV2 virüsü ile enfekte edilmiş sıçanlarda favipiravirin uygulanması gereken tam dozu belirlenmiştir (7). Bizim bu çalışmadaki primer amacımız sıçanlarda tam doz favipiravirin karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp dokuları üzerinde histopatolojik etkilerinin incelenmesidir. Sekonder amacımız ise parasetamol ile oluşturulmuş karaciğer yetmezliği sıçan modelinde tam doz favipiravirin serum transaminazları üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Uygulama öncesi ve sonrası serum transaminazlarının seyri ve işlem sonrası karaciğer, akciğer, böbrek ve kalp patolojileri histolojik olarak incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. COVID-19

2019 yılının aralık ayında Çin’de Wuhan kentinde pnömoni saptanan hastalarda bulaşıcılığı çok yüksek bir koronavirüs tespit edildi. Virüs, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2 (SARS-CoV-2) ve neden olduğu hastalık koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) olarak isimlendirildi (8; 9). Çin’in Wuhan kentinde 2019’un sonlarında ilk tespit edilen COVID-19 vakasından bu zamana kadar COVID-19, çok hızlı bir artışla Çin’in her kentine ve sonrasında bütün dünyaya hızla yayılmıştır. SARS CoV-2, Coronaviridae ailesinden Orthocoronavirinae alt familyasına ait pozitif polariteli, tek sarmallı, zarflı bir RNA virüsüdür. Bu virüsün neden olduğu hastalık olan COVID-19’un ana semptomları halsizlik, ateş, miyalji, öksürük ve dispnedir (10). Birçok vakada hipozmi ve anozmi gibi koku duyusunda değişiklikler erken belirtiler olarak bildirilmiştir. Daha nadir olmak üzere bilinç değişikliği, konfüzyon, baş ağrısı gibi nörolojik bulgular ve özellikle çocuk hastalarda kusma, diyare gibi gastrointestinal semptomlar COVID-19’da tanımlanmıştır (11; 12). Ciddi vakalarda akciğerde infiltrasyonlar görülebilmekte olup bu vakalarda hipoksemi oluşabilmekte ve hipoksemiye bağlı nefes darlığı gelişebilmektedir (13). Ağır COVID-19 vakalarında ARDS tablosu gelişebilmekte olup solunum yetmezliği SARS-CoV-2’li hastalarda önde gelen ölüm sebebidir (14).

2.1.1. COVID-19 Spesifik Tedavileri

COVID-19 için kesin olarak kanıtlanmış, etkili ve güvenilir bir antiviral tedavi bulunmamaktadır ancak randomize kontrollü klinik çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. COVID-19 tedavisinde güçlü öneriler için bu çalışmaların sonuçları beklenmekte ancak dünya çapında klinik durumun tehlikeli boyutlarda olması nedeniyle çeşitli tedaviler uygulanmakta ve denemeleri devam etmektedir. Birçok ülkenin COVID-19 ile mücadele etmek için kendi tedavi protokollerine göre kullandığı ilaçların etkililiği ile beraber güvenilir olması da çok önemlidir.

COVID-19 tedavisi esas olarak hastanın solunum fonksiyonunu korumaya hedefli destekleyici bakım ve antikoagülan tedavileri içermekle beraber, glukokortikoidler ve deksametazon, intravenöz immünglobin (IVIG) ve konvelesan plazma, immünmodülatör ilaçlar (IL-1 inhibitörleri; Anakinra gibi ve IL-6

inhibitörleri; Tocilizumab gibi), klorokokin ve hidroksiklorokin, azitromisin, favipiravir, lopinavir/ritonavir, remdesivir, ivermectin gibi ilaçları içermektedir (15). Lopinavir/ritonavir, hidroksiklorokin ve interferonların gözden düşmesiyle, güncel yayınlar tocilizumab, deksametazon ve remdesivir ilaçlarıyla tedavinin şimdiye kadar en etkili ve güvenilir seçenekler olduğunu ileri sürmektedir (16). Tüm bunların yanında tedavide kullanılan bu ilaçların farklı sistemlerde çeşitli advers reaksiyonlara sebep olabileceği akılda tutulmalıdır.

2.1.1.1. Favipiravir

Favipiravir; Japonya'da 2014 yılında diğer standart antiviral tedavilere yanıtı olmayan influenza virüslerine karşı kullanılması onaylanmış olan bir ön ilaçtır. Yalnızca RNA virüslerine karşı etkili olan favipiravir, guanozin nükleotid analogu olup viral transkripsiyonu ve replikasyonu hedefler. Virüs içinde RNA'ya bağımlı RNA polimeraz enzimini inhibe ederek replikasyonu ve transkripsiyonu engeller, bu sayede antiviral etkisini gösterir (17). RNA virüslerine karşı etkili olan geniş spektrumlu bu ilaç influenza ve ebola virüslerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılabildiği gibi diğer birçok RNA virüslerine karşı da etkili bulunmuştur. Batı Nil virüsü, arenavirüs, sarıhumma virüsü, bunyavirüs, flavivirüs ve alfavirüslere karşı da etkili bulunmuş olup nöraminidaz inhibitörlerine karşı dirençli olan virüslere de etkilidir (18). 2020 yılı mart ayında National Medical Products Administration of China tarafından COVID-19 tedavisinde kullanılabilecek ilk minimum yan etkili ilaç olarak onaylanmıştır (19). Ancak güncel randomize kontrollü klinik çalışmalarda COVID-19 tedavisinde etkili olmadığı gösterilmiştir (2). Favipiravir kullanımına bağlı ortaya çıkan bildirilmiş sık görülebilen yan etkiler; diyare, bulantı, kusma, hipertrigliseridemi, hiperürisemi ve ALT, AST başta olmak üzere karaciğer fonksiyon testlerinde artış olup bu veriler sınırlı sayıda yapılan araştırmalara dayanmaktadır.

Favipiravir, COVID-19 pandemisi ile birlikte ön plana çıkmış neredeyse tüm dünyada yeni sayılabilecek bir ilaçtır. Ülkemizde de pandeminin başlarında COVID-19 tedavisinde kullanılmak için yurtdışından getirilmiş, sonrasında ülkemizde de üretimi yapılmaya başlanmış olup güncel veriler ışığında Sağlık Bakanlığı COVID-19 Salgın Yönetimi ve Çalışma Rehberi'nden kaldırılmıştır. Sebep olabildiği yan etkiler ve güvenilirliğiyle ilgili sınırlı sayıda veriler nedeniyle ek izlenmeye ihtiyaç duyulan

bu yeni ilacın ürün bilgisinde bu ihtiyacı belirten siyah ters eşkenar üçgen bulunmaktadır.

Japonya’da yapılan 89 COVID-19 tanılı hastanede yatan hastanın dahil edildiği, erken ve geç favipiravir tedavisine ilişkin prospektif çok merkezli randomize kontrollü klinik çalışmada erken ve geç tedavi grubunda viral yükte anlamlı fark görülmezken, erken tedavi grubunda ateş ölçümleri geç tedavi grubuna göre anlamlı derecede azalma göstermiştir. Erken ve geç favipiravir tedavisi alan tüm bu hastalarda çalışma boyunca (28 gün) klinik kötüleşme ve ölüm gözlenmemiştir. Bu çalışmada erken ve geç tedavi gruplarından toplam 144 yan etki rapor edilmiş olup en yaygın gözlenen hiperürisemi (%84,1) olarak ifade edilmiştir. Serum ürik asit düzeyleri çalışmanın sonunda birçok hastada 7 mg/dl’nin altına normale dönmüş olup en yüksek ölçülen değer 8,8 mg/dl olarak belirtilmiştir. Yine bu çalışmada bildirilen diğer advers etkiler arasında serum trigliserid yükselmesi (%11) ve serum ALT yükselmesi (%8,5) yer almıştır (20).

Şubat 2020 de Çin’de, COVID-19 tanısı kesinleşen 80 hasta ile yapılan non-randomize bir çalışmada hastalar lopinavir/ritonavir ve favipiravir grupları olmak üzere iki farklı tedavi gruplarına ayrılmıştır. Favipiravir uygulanan grupta viral klirensin diğer gruba göre anlamlı derecede daha erken geliştiği gözlenmiştir. Favipiravir grubunda %11,4 oranında yan etki görülmüş olup bunlar 2 hastada ishal, 1 hastada karaciğer hasarı ve 1 hastada kötü beslenme olarak bildirilmiştir. Lopinavir/ritonavir grubunda ise %55,6 oranında yan etki görülmüş olup bunlar 5 hastada ishal, 5 hastada kusma, 6 hastada bulantı, 4 hastada döküntü 3 hastada karaciğer ve böbrek hasarı, 2 hastada diğer yan etkiler olarak bildirilmiştir (21).

Aralık 2017 de yayınlanan bir vaka sunumunda ebola tanısı alan, tedavisinde favipiravir kullanılan bir hastada QTc uzaması saptanmış ve favipiravirin kesilmesinden sonra QTc değeri normal aralıkta saptanmıştır. Bu vakada hastanın tedavisinde favipiravir ile birlikte levofloksasin de kullanılmış olup en uzun QTc ölçümünden üç gün önce levofloksasin kesilmiştir. Levofloksasin yarılanma ömrü 6-9 saat olduğu bilinmektedir. Bu vaka sunumunda, hastaya çok yüksek dozlarda favipiravir (1.günde 6 g ve sonraki günlerde 2,4 g) uygulanmış olup yüksek dozda favipiravir uygulanmasının favipiravirin, daha önce bildirilmemiş bir yan etki olarak QTc uzamasına neden olabileceği düşünülmüştür (22). Ancak 2015 yılında 56 sağlıklı

Japon erişkinle yapılan bir çalışmada favipiravirin 1200 ve 2400 mg tek oral doz kullanımlarında QTc üzerinde favipiravirin hiçbir etkisi bulunamamıştır (23). Yine bir başka çalışmada retrospektif olarak favipiravir ve hidroksiklorokin kullanımlarının QTc üzerine etkisi incelenmiş olup favipiravirin QTc üzerine herhangi bir etkisinin gözlenmediği bildirilmiştir (24).

Tüm bu verilerle beraber Temmuz 2022 de yayınlanan favipiravirin COVID-19 hastaları üzerindeki etkinliği ve yan etkileri üzerine yapılan, 157 çalışma (24 randomize kontrollü çalışma, 1 randomize kontrollü olmayan çalışma, 21 gözlemsel çalışma, 2 vaka serisi ve 106 vaka raporu) dahil edilen bir meta analizde favipiravirin hastanede yatış süresi, taburculuk oranları ve mortalite üzerine bir etkisinin olmadığı saptanmış olup yine aynı çalışmada favipiravirin hiperürisemi ve artmış ALT düzeyleri ile anlamlı ilişkisi ortaya konmuş, artmış AST düzeyleri ile anlamlı ilişki bulunamamıştır (25).

Favipiravir birçok RNA virüsüne karşı etkili geniş spektrumlu bir antiviraldir. Güncel çalışmalar ışığında COVID-19 tedavisinde artık kullanımı olamamakla beraber bazı RNA virüslerine karşı hala kullanılmaktadır. Bununla beraber yine olası bir RNA virüsüne bağlı pandemide kullanılması gündeme gelebilecek bir ilaç olan favipiravir ile ilgili klinik çalışmalar sürmekte olup yan etkileri, güvenliliği, etkililiği ve diğer ilaçlarla etkileşimleri hakkında yapılacak çalışmalara hala ihtiyaç vardır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız tıpta uzmanlık tezi olup Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tez Değerlendirme Kurulu'ndan 184 karar numarası ile tez onayı alınmıştır. Yeditepe Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 02.03.2021 tarihli, 2021-016 protokol numarası ve 2021/03-2 karar numarasıyla onaylanmıştır.

Etik kurulun onaylamasının ardından, 19.04.2021- 25.04.2021 tarihlerinde Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi Laboratuvarı'nda çalışmamız gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamız esnasında herhangi bir maddi destek talep edilmemiş ve alınmamıştır.

3.1. DENEKLER

Çalışmamız için 190-210 g ağırlığında 22 adet Spraque-Dawley cinsi 14 haftalık erişkin sıçan kullanıldı. Tüm denekler $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ortam sıcaklığında, %50-70 bağıl nem barındırılarak 12 saat gece 12 saat gündüz ortamda deney başlangıcına kadar ortama adaptasyonları sağlandı. Tüm deneklere takipleri boyunca su ve standart diyet verildi.

3.2. DENEY PROTOKOLÜ VE GRUPLAR

Tarım ve Orman Bakanlığının deney hayvanlarının refah ve korunmasına dair yönetmeliğinin gerektirdiği gibi mümkün olan en az sayıda hayvan ile deney yapılmıştır. Deney hayvanları etik kurulunun kararı ile bu yönetmeliğe uygun olarak kontrol grubu istatistiksel olarak anlamlı sonuç verebilmesi için gereken en az 4, ilaç uygulaması yapılan diğer gruplar 6' şar denekle oluşturulmuştur.

Sıçanlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı.

1. Grup: 20 ml/kg izotonik PO verilen kontrol grubu (n=4)
2. Grup: parasetamol 1000 mg/kg PO tek doz verilen grup (n=6)
3. Grup: favipiravir ilk gün 600 mg/kg/gün PO yükleme dozunu takiben sonraki 4 gün boyunca 300 mg/kg/gün PO devam dozu verilen grup (n=6)
4. Grup: parasetamol 1000 mg/kg PO tek doz uygulanmasından 24 saat sonra favipiravir 600 mg/kg/gün PO yükleme dozunu takiben sonraki 4 gün boyunca 300 mg/kg/gün PO devam dozu verilen grup (n=6)

Tablo 1. Deney hayvanlarının gruplandırılması

Grup Adı	Denek Sayısı	Verilecek Madde	Doz	Veriliş Yolu	Tekrar
1. Grup	4	%0.9NaCL	20 ml/Kg	Oral	Tek doz
2. Grup	6	Parasetamol	1000 mg/Kg	Oral	Tek doz
3. Grup	6	Favipiravir	İlk gün 600 mg/Kg yükleme dozu + Sonraki 4 gün 300mg/kg/gün	Oral	Tekrarlayan doz
4. Grup	6	Parasetamol+ Favipiravir	Parasetamol 1000 mg/kg PO + Parasetamol uygulamasının 24.saatinde oral 600 mg/Kg/gün Favipiravir, ardından 4 gün oral 300 mg/Kg/gün Favipiravir	Oral	Tek doz Parasetamol + Tekrarlayan doz Favipiravir

3.3. DENEYDE KULLANILAN İLAÇLAR

Deneyde kullanılan favipiravir (FAVİRA® 200 mg film kaplı tablet, Novelfarma İlaç San. ve Tic. Ltd. Şti. Ümraniye/İstanbul) ve parasetamol (Sigma-Aldrich® meets USP testing specifications, 98.0-102.0%, powder) toz formu temin edildi.

3.4. DENEY PROSEDÜRÜ

22 adet erişkin sıçan randomize olarak dört farklı gruba ayrıldı, kontrol grubu 4, diğer gruplar 6'şar adet hayvan ile oluşturuldu. Bunlardan kontrol grubu olarak belirlenen 1. Grup'taki hayvanlara diğer gruplara verilen ilaçlarla aynı hacimde olacak şekilde deneyin ilk günü tek doz %0,9 NaCl 20 ml/kg oral verildi. 2. Grup'taki hayvanlara, akut karaciğer yetmezliği oluşturulması amacıyla parasetamol tek doz 1000 mg/kg per oral (PO) verildi (26; 27; 28; 29). Favipiravirin tedavi dozunun belirlendiği bir hayvan deneyi çalışmasında sıçanlarda favipiravir tam dozu ilk gün yükleme dozu olarak 600mg/kg PO, takiben devam dozları dört gün boyunca 300 mg/kg/gün PO olarak belirlenmiştir, bu nedenle 3. Grup'taki hayvanlara favipiravirin COVID-19 tedavisinde kullanılan dozunda; yükleme dozu ilk gün 600 mg/kg PO takiben devam dozları dört gün boyunca 300 mg/kg/gün PO olmak üzere toplam beş gün uygulandı (7). Parasetamol kaynaklı karaciğer hasarının incelendiği bir hayvan deneyinde sıçanlarda parasetamol uygulaması sonrası 24 saat sonra karaciğer hasarı meydana geldiği gösterilmiştir, bu nedenle 4. Grup'taki hayvanlara parasetamol 1000 mg/kg PO uygulandı, 24 saat sonra üçüncü grupta uygulandığı gibi favipiravir yükleme dozunu takiben devam dozları toplam beş gün uygulandı (27).

Deneye alınan tüm hayvanlar deney boyunca standart bakım ve beslenme koşullarına tabi tutuldu. Deneyde yapılacak her girişimsel işlem öncesinde sedasyon sağlamak amacıyla inhaler izofluran (İzofluran, Isofludem 100 ml, Dem İlaç, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Araştırma boyunca alınacak her kan örneği sedasyon altında vena jugularis eksternadan 5 ml olacak şekilde alındı. Tüm kan örnekleri serum ve plazma eldesi için kullanıldı. Serum için oda ısısında 30 dk bekletilen kan 3000 devirde 20 dk santrifüj edildi. Plazma için EDTA' lı kan tüpüne konulan 1 ml kan 3000 devirde 20 dk santrifüj edildi. Çıkan serumlar ve plazmalar-80 derece buzdolabında muhafaza edildi. Alınan örneklerde ALT ve AST değerleri ölçüldü. PO yoldan verilecek tüm ilaçlar orogastrik tüp aracılığı ile uygulandı.

Araştırma süresince tüm hayvanlar klinik takibe alındı. Klinik durumu bozulan hayvanlar deneyden çıkartıldı.

Deney başlangıç günü 0. gün olarak belirlendi.

0. gün; deneye alınan bütün hayvanlardan sedasyon altında vena jugularis eksternadan kan örnekleri alındı, yukarda belirtildiği şekilde işlemler sonrasında ölçümler yapılmak üzere uygun koşullarda muhafaza edildi. Kan örnekleri alındıktan sonra 1. Gruba tek doz %0,9 NaCl 20 ml/kg oral verildi, 2. Gruba ve 4. Gruba parasetamol 1000 mg/kg PO her bir hayvan için 20 ml/kg olacak şekilde %0,5 karboksi metil selüloz ile sulandırılarak gastrik tüp ile verildi.

1. gün; oluşturmayı planladığımız deneysel akut karaciğer yetmezliğinin etkilerini görebilmek adına parasetamol uygulamasından 24 saat geçtikten sonra 2. Grup ve 4. Grup'taki hayvanlardan sedasyon altında vena jugularis eksternadan 5 ml kan örnekleri alındı, alınan örnekler uygun koşullarda muhafaza edildi. Bu işlemlerden sonra 3. Grup ve 4. Grup'taki hayvanlara favipiravir 600 mg/kg PO yükleme dozu olarak orogastrik tüp aracılığıyla verildi. Tüm hayvanların standart bakım ve beslenmelerine devam edildi, klinik takiplerinde herhangi bir değişiklik gözlenmedi.

2. gün; 3. Grup ve 4. Grup'taki hayvanlara favipiravir 300 mg/kg PO devam dozu olarak orogastrik tüp aracılığıyla verildi. Tüm hayvanların standart bakım ve tedavilerine devam edildi, klinik takiplerinde herhangi bir değişiklik gözlenmedi.

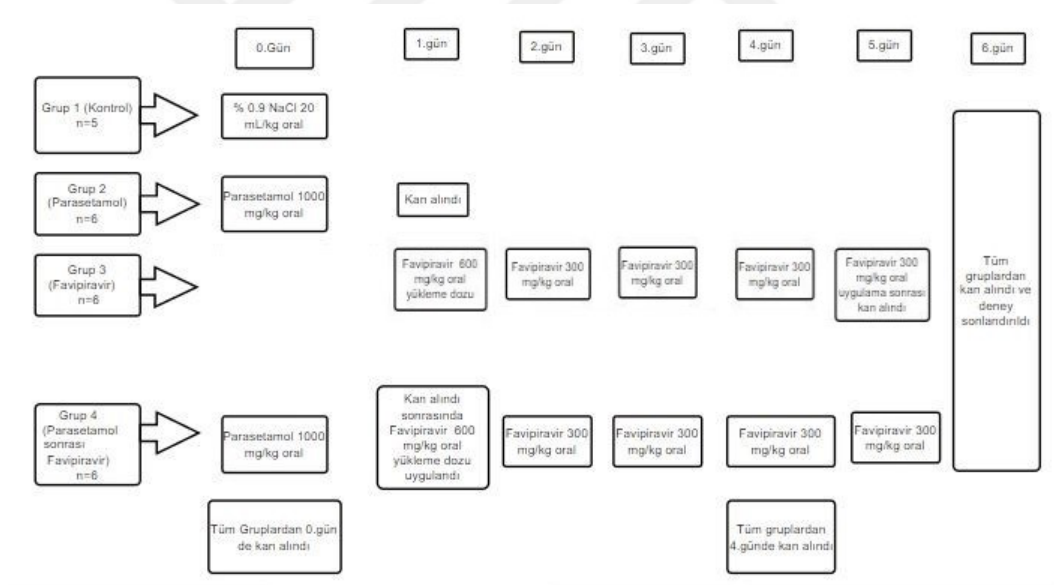
3. gün; 3. Grup ve 4. Grup'taki hayvanlara favipiravir 300 mg/kg PO devam dozu olarak orogastrik tüp aracılığıyla verildi. Tüm hayvanların standart bakım ve tedavilerine devam edildi, klinik takiplerinde herhangi bir değişiklik gözlenmedi.

4. gün; 3. Grup ve 4. Grup'taki hayvanlara favipiravir 300 mg/kg PO devam dozu olarak orogastrik tüp aracılığıyla verildi. Her bir gruptaki bütün hayvanlardan, biyokimyasal ölçümlerdeki değişikliklerin daha iyi anlaşılabilmesi adına ara kontrol amacıyla bir kez daha sedasyon altında vena jugularis eksternadan 5 ml kan örnekleri alındı, alınan örnekler uygun koşullarda muhafaza edildi. Tüm hayvanların standart bakım ve tedavilerine devam edildi, klinik takiplerinde herhangi bir değişiklik gözlenmedi.

5. gün; 4. Grup'taki 2 numaralı hayvan kafesinde ölü olarak bulundu ve deneyden çıkarıldı. 3. Grup ve 4. Grup'taki kalan hayvanlara favipiravir 300 mg/kg PO devam dozu olarak son dozu orogastrik tüp aracılığıyla verildi. Kalan hayvanların

standart bakım ve tedavilerine devam edildi, klinik takiplerde kalan hayvanlarda herhangi bir değişiklik saptanmadı.

6. gün; Her bir gruptaki bütün hayvanlardan, biyokimyasal ölçümlerin seyrini değerlendirmek adına son kez sedasyon altında vena jugularis eksternadan 5 ml kan örnekleri alındı, alınan örnekler uygun koşullarda muhafaza edildi. Tüm hayvanlara sedasyon altında servikal dislokasyon uygulanarak dekapite edildi. Tüm hayvanlardan karaciğer, akciğer, kalp ve böbrek doku örnekleri çıkarıldı, %10' luk formaldehit solüsyonuna konularak histopatolojik inceleme amacıyla numaralandırıldı ve deney sonlandırıldı. Alınan tüm kan örneklerinden belirtilen şekilde santrifüj ile elde edilen serum ve plazma örneklerinde ALT ve AST ölçümleri yapıldı. Alınan doku örnekleri histopatolojik inceleme yapılması için patoloji laboratuvarına teslim edildi. Aşağıdaki şekil 1' de deney prosedürü günler ve gruplara göre şema halinde verilmiştir.



Şekil 1. Deney prosedürü

3.5. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

%10'luk formolde tespit edilen her bir hayvana ait böbrek, kalp, akciğerler ve karaciğer dokuları patoloji uzmanı tarafından örneklendi. Böbrekler uzun eksenli boyunca hilus-korteksi içerecek şekilde birer örnek halinde örneklendi. Karaciğerler en az üç değişik alandan kapsül ve parankimi içerecek vertikal düzlemde örneklendi. Kalpler atrium ve ventrikülleri içerecek iki doku halinde vertikal düzlemde örneklendi. Akciğerler, plevra ve parankimi içerecek şekilde vertikal düzlemde sağ akciğerden iki, sol akciğerden bir doku halinde örneklendi. Örnekler, her bir organa ait tek kasette doku takibine alındı. Dokuların suyunu alma (dehidratasyon) saydamlaştırma ve parafinizasyon işlemi Leica ASP300 S Kapalı Doku Takip Cihazı ile yapıldı. Hazırlanan dokuların her biri Thermo Shendon Histocentre 3 cihazı ile parafin doku bloğu haline getirildi. Her bir parafin bloktan Thermo Rotary Mikrotomda 3 mikron kesitler halinde iki adet lam hazırlanarak bunlardan biri Sakura Tissue-Tek Film Kapalı Sistem Boyama ve Kapama Cihazında hematoksilin-eozin ile boyandı. Diğer lam ise Bio-Optica 04-010802 hazır kit kullanma talimatına uygun manuel olarak Masson trichrome ile boyandı. Boyanmış preparatlar patoloji uzmanı tarafından Olympus CX41 Japan ışık mikroskobunda, aşağıda belirtilen skorum sistemlerine uygun olarak değerlendirilerek skorlandı ve adapte Olympus EP50 kamera ile mikrofotografı alındı.

Skorum sistemleri benzer çalışmalar örnek alınarak oluşturuldu. Bu başlık altında karaciğer, böbrek, kalp ve akciğer dokularının ayrı ayrı hangi skorum sistemleriyle değerlendirildiği, skorlanan her bir parametrenin neyi ifade ettiği aşağıdaki gibi her bir doku nezdinde "histopatolojik değerlendirme kriterleri" alt başlıkları altında açıklanacaktır.

3.5.1. Böbrek Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri

Tüm deneklerin deney sonunda böbrek dokuları yukarıda anlatıldığı şekilde histopatolojik incelemeye alınmıştır. Böbreklerdeki histopatolojik değişikliklerin sayısal verilere dökülüp denekler arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler olup olmadığına karar verebilmek için benzer çalışmalar örnek alınarak aşağıdaki Tablo 2’de verilen skarlama sistemi kullanıldı (30). Bu skarlama sisteminde, böbrek histopatolojisinde görülen tubulointerstisyel değişiklikler (tubuler hasar), interstisyel fibrozis (fibrozis) ve lökosit infiltrasyonu parametreleri değerlendirmeye katıldı ve her bir parametre 0 ile 4 arasında bir skor ile değerlendirildi.

Tablo 2. Böbrek dokusu skarlama sistemi

A-Tubulointerstisyel değişiklikler:	
0	Değişiklik yok
1	Tubuluslarda fokal granulovakuoler dejenereasyon ve nekroz
2	Tubuler epitelyal değişiklikler (nekroz ve deskuamasyon) kolaylıkla görülebilir; fakat kortikal tubullerin yarısından azındadır
3	Kortikal tubulusların yarısından fazlası deskuamasyon ve nekroz göstermektedir
4	Komplet ya da tamama yakın nekroz
B-İnterstisyel fibrozis (Masson trikrom ile bakıldı):	
0	Yok
1	Minimal
2	Hafif
3	Orta
4	Belirgin
C-Lökosit infiltrasyonu:	
0	Yok
1	Ender
2	Hafif derecede
3	Orta derecede
4	Ağır (ileri) derecede

3.5.2. Karaciğer Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri

Tüm deneklerin karaciğer dokuları yukarıda anlatıldığı gibi histopatolojik incelemeye alınmıştır. Değişiklerin istatistiksel olarak analiz edilebilmesi için benzer çalışmalar örnek alınarak aşağıdaki Tablo 3’te verilen skarlama sistemi kullanıldı (30). Bu skarlama sisteminde karaciğer histopatolojisinde görülen HSD (hepatoseluler dejenerasyon; hidropik şişme – asidofilik cisimcik oluşumu), SD (sinüzoidal dilatasyon), N (nekroz), S (steatoz), LLİ (lobuler lökosit infiltrasyonu), PLİ (portal lökosit infiltrasyonu), LK (lobuler kolestaz; kanaliküler ve hepatoselüler bilirubin stazı), DK (düktüler kolestaz), F (fibrozis) parametreleri değerlendirmeye katıldı. Bu parametrelerden SD, LK ve DK 0 ile 3 arasında, diğer tüm parametreler 0 ile 4 arasında bir skor ile değerlendirildi.

Tablo 3. Karaciğer dokusu skrolama sistem

A-Hepatoselüler degenerasyon (hidropik şişme – asidofilik cisimcik oluşumu)	
0	Değişiklik yok
1	Lobüllerde fokal hepatoselüler degenerasyon
2	Lobüllerde hepatoselüler degenerasyon kolaylıkla görülebilir; fakat lobüllerin yarısından azındadır
3	Lobüllerin yarısından fazlasında hepatoselüler degenerasyon
4	Komplet ya da tamama yakın hepatoselüler degenerasyon
B- Sinüzoidal Dilatasyon	
0	Yok
1	Fokal mevcut
2	Lobüllerin yarısından azında mevcut
3	Lobüllerin yarısından fazlasında mevcut
C-Nekroz	
0	Yok
1	Fokal mevcut
2	Multifokal az sayıda (birkaç lobülde) nekroz mevcut
3	Multifokal lobüllerin yarısından azında mevcut
4	Multifokal yaygın (lobüllerin yarısından fazlasında mevcut)
D- Steatoz	
0	Yok
1	Fokal mevcut
2	Multifokal az sayıda (birkaç lobülde) steatoz mevcut
3	Multifokal lobüllerin yarısından azında steatoz mevcut
4	Multifokal yaygın (lobüllerin yarısından fazlasında steatoz mevcut)
E-lobüler Lökosit infiltrasyonu	
0	Yok
1	Ender
2	Hafif derecede
3	Orta derecede
4	Ağır (ileri) derecede
F- Portal Lökosit infiltrasyonu	
0	Yok
1	Ender
2	Hafif derecede
3	Orta derecede
4	Ağır (ileri) derecede
G-Lobüler kolestaz (Kanaliküler ve hepatoselüler bilirubin stazı)	
0	Yok
1	Fokal mevcut
2	Lobüllerin yarısından azında mevcut
3	Lobüllerin yarısından fazlasında mevcut
H- Duktuler kolestaz	
0	Yok
1	Fokal mevcut
2	Portal alanların yarısından azında mevcut
3	Portal alanların yarısından fazlasında mevcut
J-Fibrozis (Masson trikrom ile bakıldı):	
0	Yok
1	Minimal
2	Hafif
3	Orta
4	Belirgin

3.5.3. Akciğer Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri

Tüm deneklerin akciğer dokuları yukarıda anlatıldığı gibi histopatolojik incelemeye alınmıştır. Değişikliklerin istatistiksel analizi yapılabilmesi için benzer çalışmalar örnek alınarak aşağıdaki Tablo 4'te verilen skarlama sistemi kullanılmıştır (31). Bu skarlama sisteminde akciğer histopatolojisinde görülen HEH (Havayolu epitel hasarı), HD (Hyalin membran oluşumu), İÖ (İnterstisyel ödem), T2P (Tip2 pnömosit proliferasyonu veya alveolar makrofajlar), PVMİ (Perivasküler mononükleer iltihap), İMİ (İnterstisyel mononükleer iltihap), N (Nötrofil infiltrasyonu), AH (Alveolar hemoraji), B-B (Bronşit- bronşiolit bulguları), MT (Mikrotrombüs ve alveolar kapilarit oluşumu) ve F (İnterstisyel fibrozis) parametreleri değerlendirmeye katıldı. Her bir parametre 0 (normal), 1 (minimal değişiklik), 2 (hafif değişiklik), 3 (orta derecede değişiklik) ve 4 (şiddetli değişiklik) olmak üzere 0 ile 4 arasında bir skor ile değerlendirildi.

Tablo 4. Akciğer dokusu skarlama sistemi

	Her bir parametre için
0	Normal (Değişiklik görülmedi)
1	Minimal Değişiklik (Fokal değişiklik)
2	Hafif Değişiklik (Parenkimin <%25 inde gözlenen lezyon)
3	Orta Derecede Değişiklik (Parenkimin %25-50 sinde gözlenen lezyon)
4	Şiddetli Değişiklik (Parenkimin >%50 sinde gözlenen lezyon)

3.5.4. Kalp Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri

Tüm deneklerin kalp dokuları yukarıda anlatıldığı gibi histopatolojik incelemeye alınmıştır. Değişikliklerin istatistiksel analizi yapılabilmesi için benzer çalışmalar örnek alınarak aşağıdaki Tablo 5'te verilen skarlama sistemi kullanılmıştır (32). Bu skarlama sisteminde kalp histopatolojisinde görülen iltihabi hücre infiltrasyonu, eozinofilik değişiklik, çekirdek irileşmesi, çekirdek kaybı ve nekroz parametreleri değerlendirmeye katıldı. Her bir parametre 0 ile 4 arasında bir skor ile değerlendirildi.

Tablo 5. Kalp dokusu skarlama sistemi

	Her bir parametre için
0	parametre mevcut değil
1	Parametre incelenen alanın %25'ine kadar mevcut
2	Parametre, incelenen alanın %26 ile %50'si arasında mevcut
3	Parametre, incelenen alanın %51 ile %75'inde mevcut
4	Parametre, incelenen alanın %75'inden fazlasında mevcut

3.6. İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER

Biyokimyasal verilerin istatistiksel analizleri için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, birinci çeyreklik, üçüncü çeyreklik, frekans, yüzde, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınanmıştır. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann-Whitney U test kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin ikiden fazla grup arası karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis test ve Dunn-Bonferroni test kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin grup içi karşılaştırmalarında Friedman Test ve ikili karşılaştırmaların değerlendirilmesinde Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon signed-ranks test kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin grup içi karşılaştırmalarında Wilcoxon signed-ranks test kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

Histopatolojik skora verilerinin istatistiksel analizleri için; değişkenlerin normal dağılıma uygunluğuna Shapiro-Wilk testi ile bakılmıştır. Kategorik değişkenler ise frekans (n) ve yüzde (%) değerleri ile ifade edilmiştir. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Fisher-Freeman-Halton testi kullanılmıştır. İstatistiksel analizler için SPSS (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0) programı kullanılmış olup istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR VE İSTATİSTİKSEL ANALİZİ

Çalışmada 4 farklı grup olarak alınan hayvanlar değerlendirilmiştir. Birinci grup kontrol grubu olup 4 hayvan, diğerlerinde ise 6'şar hayvan mevcuttur. Ancak dördüncü grupta 1 hayvan deney sürecinde öldüğü için değerlendirilmemiştir ve bu sebeple örneklem sayısı 5 alınmıştır. İkinci grup parasetamol uygulanan grup, üçüncü grup favipiravir uygulanan grup ve dördüncü grup parasetamol+ favipiravir uygulanan gruptur. Her hayvandan karaciğer, akciğer, kalp ve böbrek dokuları histopatolojik olarak analiz edilmiştir ve görülen patolojik değişiklikler skorlanarak tablo haline getirilmiştir. Her farklı doku temelinde analiz edilen her bir patolojik değişikliklerin, grupların birbiri ile karşılaştırılmasında anlamlı değişiklik olup olmadığını anlamak için yapılan analiz sonuçları aşağıdaki tablolarda raporlanmıştır.

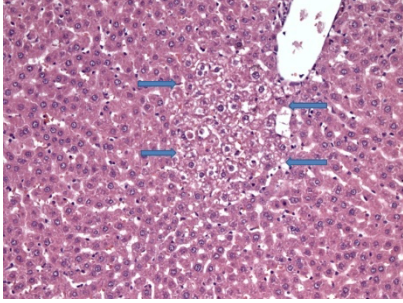
4.1.1. Karaciğer Histopatolojik Bulguları ve İstatistiksel Analizi

Yukarıda “GEREÇ VE YÖNTEM” ana başlığı altında tarif edilen karaciğer dokusu skorumu sistemine göre tüm deneklerin karaciğer dokularındaki histopatolojik değişikliklerinin aldığı skorlar aşağıdaki Tablo 6’ da belirtilmiştir.

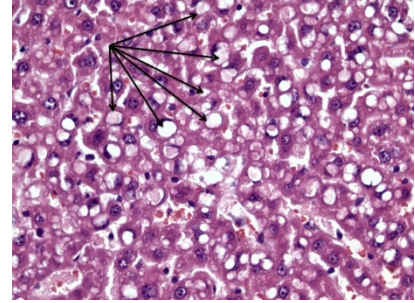
Tablo 6. Karaciğer skorları

G1 GRUBU									
<u>olgu no</u>	<u>HSD</u>	<u>SD</u>	<u>N</u>	<u>S</u>	<u>LLİ</u>	<u>PLİ</u>	<u>LK</u>	<u>DK</u>	<u>F</u>
1	1	1	0	0	0	1	0	0	0
2	1	1	0	0	1	0	0	0	0
3	0	1	0	0	1	1	0	0	0
4	0	1	0	0	1	0	0	0	0
G2 GRUBU									
<u>olgu no</u>	<u>HSD</u>	<u>SD</u>	<u>N</u>	<u>S</u>	<u>LLİ</u>	<u>PLİ</u>	<u>LK</u>	<u>DK</u>	<u>F</u>
1	2	1	2	0	1	1	1	0	0
2	3	1	1	0	2	1	0	0	0
3	3	1	3	0	2	1	0	0	0
4	3	1	2	2	1	1	0	0	0
5	3	2	1	1	1	1	0	0	0
6	3	2	2	1	1	1	0	0	0
G3 GRUBU									
<u>olgu no</u>	<u>HSD</u>	<u>SD</u>	<u>N</u>	<u>S</u>	<u>LLİ</u>	<u>PLİ</u>	<u>LK</u>	<u>DK</u>	<u>F</u>
1	1	1	0	2	1	1	0	0	0
2	1	1	1	2	1	1	0	0	0
3	1	1	0	1	1	1	0	0	0
4	2	1	1	2	3	1	0	0	0
5	1	1	0	1	1	1	0	0	0
6	3	1	0	1	1	1	0	0	0
G4 GRUBU									
<u>olgu no</u>	<u>HSD</u>	<u>SD</u>	<u>N</u>	<u>S</u>	<u>LLİ</u>	<u>PLİ</u>	<u>LK</u>	<u>DK</u>	<u>F</u>
1	2	1	1	2	2	1	0	0	0
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	2	1	1	2	1	1	0	0	0
4	2	1	0	1	1	0	0	0	0
5	1	2	1	3	1	0	0	0	0
6	1	2	0	2	1	1	0	0	0

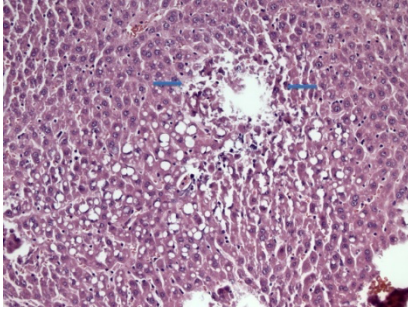
Karaciğer dokularının histopatolojik incelemesinde elde edilen bazı mikroskopik görüntüler aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.



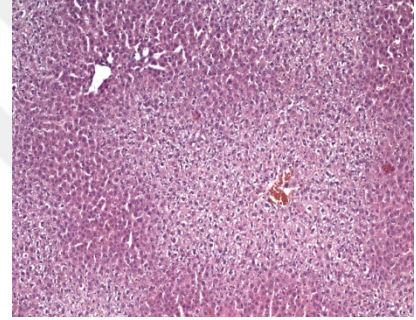
Şekil 2. Karaciğer, Grup2, skor3; Hepatositlerde belirgin granülovakuoler degenerasyon ve nekroz. (ok ile sınırlı alan)H&EX200



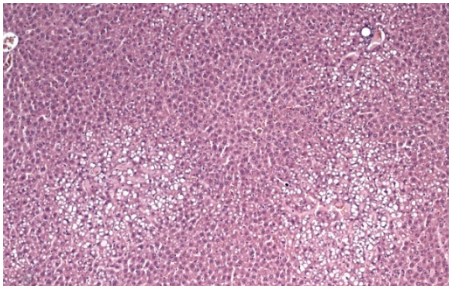
Şekil 3. Karaciğer, Grup3, skor2; Hepatositlerde belirgin steatoz.(ok) H&EX400



Şekil 4. Karaciğer, Grup3, skor2; Hepatositlerde steatoz ve nekroz.(ok) H&EX400



Şekil 5. Karaciğer, Grup3, skor3; Soluk renkli alanlar halinde granülovakuoler degenerasyon gösteren hepatositler.H&EX100



Şekil 6. Karaciğer, Grup4, skor3; Hepatositlerde yaygın steatoz. H&EX400

Tablo 7’de karaciğer dokularında görülen patolojik değişiklik skorlarının gruplar arasında karşılaştırılmasına ait sonuçlar verilmiştir.

Tablo 7. Hayvanların karaciğer dokularındaki histopatolojik değerlendirmeleri ile gruplar arasında yapılan karşılaştırılma

	G1	G2	G3	G4	p ^a değeri
HSD					
<i>Değişiklik yok</i>	2(%50)	0	0	0	0,002
<i>Degenerasyon</i>	2(%50)	0	4(%66,6)	2(%40)	
<i>Degenerasyon(YA)</i>	0	1(%16,7)	1(%16,7)	3(%60)	
<i>Degenerasyon(YF)</i>	0	5(%83,3)	1(%16,7)	0	
SD					
<i>Mevcut</i>	4(%100)	4(%66,7)	6(%100)	3(%60)	0,235
<i>Azında mevcut</i>	0	2(%33,3)	0	2(%40)	
N					
<i>Yok</i>	4(%100)	0	4(%66,7)	2(%40)	0,014
<i>Fokal mevcut</i>	0	2(%33,3)	2(%33,3)	3(%60)	
<i>Az sayıda mevcut</i>	0	3(%50)	0	0	
<i>YA mevcut</i>	0	1(%16,7)	0	0	
S					
<i>Yok</i>	4(%100)	3(%50)	0	0	0,015
<i>Fokal mevcut</i>	0	2(%33,3)	3(%50)	1(%20)	
<i>Az sayıda mevcut</i>	0	1(%16,7)	3(%50)	3(%60)	
<i>YA mevcut</i>	0	0	0	1(%20)	
LLİ					
<i>Yok</i>	1(%25)	0	0	0	0,587
<i>Ender</i>	3(%75)	4(%66,7)	5(%83,3)	4(%80)	
<i>Hafif</i>	0	2(%33,3)	0	1(%20)	
<i>Orta</i>	0	0	1(%16,7)	0	
PLİ					
<i>Yok</i>	2(%50)	0	0	2(%40)	0,054
<i>Ender</i>	2(%50)	6(%100)	6(%100)	3(%60)	
LK					
<i>Yok</i>	4(%100)	5(%83,3)	6(%100)	5(%100)	<0,99
<i>Mevcut</i>	0	1(%16,7)	0	0	

Değişkenler n(%) ile ifade edilmiştir. YA: Yarisından az, YF: Yarisından fazla, T: Tamamına yakın,

a: Fisher-Freeman-Halton testi

Tablo 7’ye bakıldığında, gruplar arasında hayvanların karaciğer dokularında incelenen hepatoselüller degenerasyon (HSD), nekroz (N) ve steatoz (S) değerleri bakımından anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir (sırasıyla p=0,002, p=0,014, p=0,015). Bu farklılıkları belirlemek için gruplar arasında ikili olarak karşılaştırmalar

yapılmıştır. Kontrol grubu (G1) ve parasetamol uygulanan grup (G2) arasında hepatoselüller degenerasyon (HSD) değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmekte olup ($p=0,005$), kontrol grubunun %50'inde karaciğer dokularında hepatoselüller degenerasyonda (HSD) değişiklik yok iken, parasetamol uygulanan grubun %83,3'ünde karaciğer dokularında yarisından fazlasında hepatoselüller degenerasyon olduğu görülmektedir. Parasetamol uygulanan grup (G2) ve favipiravir uygulanan grup (G3) arasında hepatoselüller degenerasyon (HSD) değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmekte olup ($p=0,028$), parasetamol uygulanan grubun %83,3'ünde karaciğer dokularında yarisından fazlasında hepatoselüller degenerasyon olduğu görülmekte iken, favipiravir uygulanan grubun %66,6'sında karaciğer dokularında lobüllerde fokal hepatoselüller degenerasyon söz konusudur. Parasetamol uygulanan grup (G2) ve parasetamol + favipiravir uygulanan grup (G4) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmekte olup ($p=0,015$), parasetamol uygulanan grubun %83,3'ünde karaciğer dokularında yarisından fazlasında hepatoselüller degenerasyon olduğu görülmekte iken, parasetamol + favipiravir uygulanan grubun %60'ında karaciğer dokularında lobüllerde hepatoselüller degenerasyon kolaylıkla görülebilir; fakat lobüllerin yarisından azında olduğu görülmektedir. Diğer gruplar arasında incelenen hepatoselüller degenerasyon (HSD) değerleri bakımından farklılık elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Kontrol grubu (G1) ve parasetamol uygulanan grup (G2) arasında nekroz (N) varlığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmekte olup ($p=0,010$), kontrol grubunun tamamında (%100) karaciğer dokularında nekroz (N) yok iken, parasetamol uygulanan grubun %50'sinde karaciğer dokularında multifokal az sayıda (birkaç lobülde) nekroz (N) mevcut olduğu görülmektedir. Diğer gruplar arasında incelenen nekroz (N) varlığı bakımından farklılık elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Kontrol grubu (G1) ve favipiravir uygulanan grup (G3) arasında steatoz (S) varlığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmekte olup ($p=0,005$), kontrol grubunun tamamında (%100) karaciğer dokularında steatoz (S) yok iken, favipiravir uygulanan grubun %50'sinde karaciğer dokularında multifokal az sayıda (birkaç lobülde) steatoz (S) mevcut olduğu, %50'sinde ise multifokal lobüllerin yarisından azında steatoz mevcut olduğu görülmektedir. Kontrol grubu (G1) ve

parasetamol + favipiravir uygulanan grup (G4) arasında steatoz (S) varlığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmekte olup ($p=0,024$), kontrol grubunun tamamında (%100) karaciğer dokularında steatoz (S) yok iken, parasetamol + favipiravir uygulanan grubun %60'ında karaciğer dokularında multifokal lobüllerin yarısından azında steatoz (S) mevcut olduğu tespit edilmiştir. Diğer gruplar arasında incelenen steatoz (S) varlığı bakımından farklılık elde edilmemiştir ($p>0,05$).



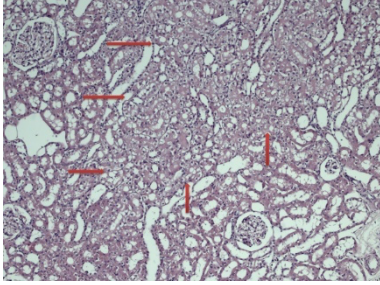
4.1.2. Böbrek Histopatolojik Bulguları ve İstatistiksel Analizi

Yukarıda “GEREÇ VE YÖNTEM” ana başlığı altında tarif edilen böbrek dokusu skora sistemine göre tüm deneklerin böbrek dokularındaki histopatolojik değişikliklerinin aldığı skorlar aşağıdaki Tablo 8’ de belirtilmiştir.

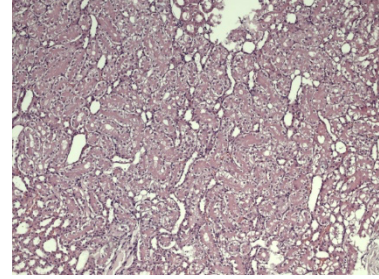
Tablo 8. Böbrek Skorları

G1 GRUBU			
<u>olgu no</u>	<u>tubuler hasar</u>	<u>fibrozis</u>	<u>lökosit infiltrasyonu</u>
1	0	0	0
2	0	0	0
3	1	0	0
4	0	0	0
G2 GRUBU			
<u>olgu no</u>	<u>tubuler hasar</u>	<u>fibrozis</u>	<u>lökosit infiltrasyonu</u>
1	1	0	0
2	2	0	0
3	3	0	1
4	2	0	0
5	3	0	0
6	3	0	0
G3 GRUBU			
<u>olgu no</u>	<u>tubuler hasar</u>	<u>fibrozis</u>	<u>lökosit infiltrasyonu</u>
1	2	0	0
2	1	0	0
3	2	0	0
4	1	0	0
5	1	0	0
6	2	0	0
G4 GRUBU			
<u>olgu no</u>	<u>tubuler hasar</u>	<u>fibrozis</u>	<u>lökosit infiltrasyonu</u>
1	2	0	0
2	-	-	-
3	2	0	0
4	2	0	0
5	2	0	0
6	3	0	0

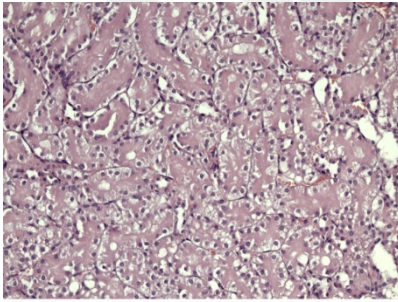
Böbrek dokularının histopatolojik incelemesinde elde edilen bazı mikroskopik görüntüler aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.



Şekil 7. Böbrek , G3 grup,Skor1; Sınırlı alanda (ok) tubuluslarda granülovakuoler degenerasyon.H&Ex100



Şekil 8. Böbrek, Grup2, Skor3; Kortikal tubuluslarda yaygın granülovakuoler degenerasyon. H&Ex100



Şekil 9. Böbrek, Grup4, Skor3; Kortikal tubuluslarda yaygın granülovakuoler degenerasyon. H&Ex200

Tablo 9’da böbrek dokularında görülen patolojik değişiklik skorlarının gruplar arasında karşılaştırılmasına ait sonuçlar verilmiştir.

Tablo 9. Hayvanların böbrek dokularındaki patolojik değişiklik skorlarının gruplara göre karşılaştırılması

	G1	G2	G3	G4	p ^a değeri
Tubuler Hasar					
<i>Değişiklik yok</i>	3(%75)	0	0	0	0,007
<i>Degeneasyon ve nekroz</i>	1(%25)	1(%16,7)	3(%50)	0	
<i>Deskuamasyon ve nekroz(YA)</i>	0	2(%33,3)	3(%50)	4(%80)	
<i>Deskuamasyon ve nekroz(YF)</i>	0	3(%50)	0	1(%20)	
Lökosit					
<i>Yok</i>	4(%100)	5(%83,3)	6(%100)	5(%100)	>0,99
<i>Ender</i>	0	1(%16,7)	0	0	

Değişkenler n(%) ile ifade edilmiştir. YA: Yarısından az, YF: Yarısından fazla a: Fisher-Freeman-Halton testi

Tablo 9 incelendiğinde, hayvanların böbrek dokularında tubuler hasar durumları ile gruplar arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir (p=0,007). Kontrol grubu (G1) ve parasetamol uygulanan grup (G2) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmekte olup (p=0,043), kontrol grubunun %75’inde böbrek dokularından elde edilen tubuler hasar değişiklik yok iken, parasetamol uygulanan grubun %50’sinde böbrek dokularında tubuler hasarda yarısından fazlası deskuamasyon ve nekroz görülmektedir. Kontrol grubu (G1) ve parasetamol + favipiravir uygulanan grup (G4) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmekte olup (p=0,024), kontrol grubunun %75’inde böbrek dokularından elde edilen tubuler hasar değişiklik yok iken, parasetamol + favipiravir uygulanan grubun %80’ninde böbrek dokularında tubuler hasarda yarısından azında deskuamasyon ve nekroz görülmektedir. Diğer gruplar arasında tubular hasar durumları bakımından farklılık elde edilmemiştir (p>0,05).

Gruplar arasında hayvanların böbrek dokularından elde edilen patolojik değişiklik sonucu olan lökosit değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (p>0,99).

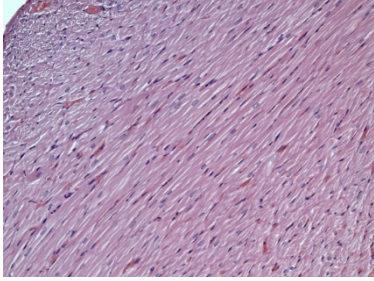
4.1.3. Kalp Histopatolojik Bulguları ve İstatistiksel Analizi

Yukarıda “GEREÇ VE YÖNTEM” ana başlığı altında tarif edilen kalp dokusu skorumu sistemine göre tüm deneklerin kalp dokularındaki histopatolojik değişikliklerinin aldığı skorlar aşağıdaki Tablo 10’ da belirtilmiştir.

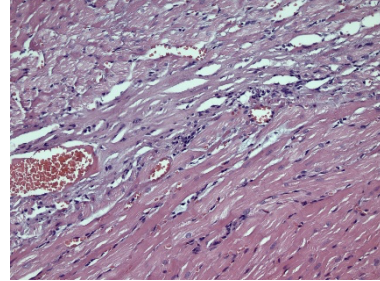
Tablo 10. Kalp Skorları

G1 GRUBU					
<u>olgu no</u>	<u>iltihabi hücre infiltrasyonu</u>	<u>eozinofilik değişiklik</u>	<u>çekirdek irileşmesi</u>	<u>çekirdek kaybı</u>	<u>nekroz</u>
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	1	0	0	0
G2 GRUBU					
<u>olgu no</u>	<u>iltihabi hücre infiltrasyonu</u>	<u>eozinofilik değişiklik</u>	<u>çekirdek irileşmesi</u>	<u>çekirdek kaybı</u>	<u>nekroz</u>
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	1	0	0	0
6	0	0	0	0	0
G3 GRUBU					
<u>olgu no</u>	<u>iltihabi hücre infiltrasyonu</u>	<u>eozinofilik değişiklik</u>	<u>çekirdek irileşmesi</u>	<u>çekirdek kaybı</u>	<u>nekroz</u>
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
G4 GRUBU					
<u>olgu no</u>	<u>iltihabi hücre infiltrasyonu</u>	<u>eozinofilik değişiklik</u>	<u>çekirdek irileşmesi</u>	<u>çekirdek kaybı</u>	<u>nekroz</u>
1	0	0	0	0	0
2	-	-	-	-	-
3	1	0	0	0	0
4	1	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0

Kalp dokularının histopatolojik incelemesinde elde edilen bazı mikroskopik görüntüler aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.



**Şekil 10. Kalp, G1 grup;
Düzenli yapıda kalp kası.
H&Ex100**



**Şekil 11. Kalp, G4 grup;
Myositler arasında minimal
mononükleer iltihabi hücre
infiltrasyonu (ok) H&Ex200**

Tablo 11’de kalp dokularında görülen patolojik değişiklik skorlarının gruplar arasında karşılaştırılmasına ait sonuçlar verilmiştir.

Tablo 11. Hayvanların kalp dokularındaki patolojik değişiklik skorlarının gruplara göre karşılaştırılması

	G1	G2	G3	G4	p ^a değeri
İltihabi Hücre İnfil.					
Yok	4(%100)	6(%100)	6(%100)	3(%60)	0,076
%25 alanda	0	0	0	2(%40)	
Eozinofilik Değişiklik					
Yok	3(%75)	5(%83,3)	6(%100)	5(%100)	0,543
%25 alanda	1(%25)	1(%16,7)	0	0	

Değişkenler n(%) ile ifade edilmiştir. a: Fisher-Freeman-Halton testi

Tablo 11’e bakıldığında, hayvanların kalp dokularında elde edilen patolojik değişiklik sonuçları olan iltihabi hücre infiltrasyonu ve eozinofilik değişiklik değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmektedir (sırasıyla p=0,076, p=0,543).

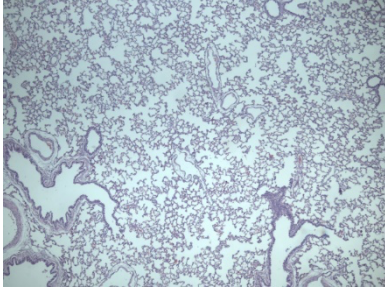
4.1.4. Akciğer Histopatolojik Bulguları ve İstatistiksel Analizi

Yukarıda “GEREÇ VE YÖNTEM” ana başlığı altında tarif edilen akciğer dokusu skorumaya sistemine göre tüm deneklerin akciğer dokularındaki histopatolojik değişikliklerinin aldığı skorlar aşağıdaki Tablo 12’ de belirtilmiştir.

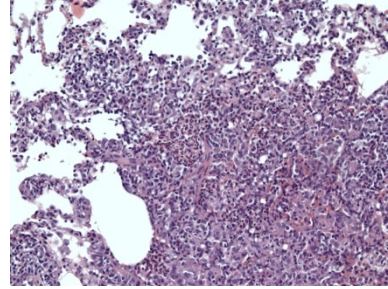
Tablo 12. Akciğer Skorları

G1 GRUBU											
olgu no	HEH	HM	İÖ	T2P	PVMİ	İMİ	N	AH	B-B	MT	F
1	3	0	1	2	3	2	0	1	2	0	0
2	2	0	1	1	2	2	0	0	2	1	0
3	2	0	1	1	2	1	2	0	2	1	0
4	2	0	0	1	2	1	1	1	1	1	0
G2 GRUBU											
olgu no	HEH	HM	İÖ	T2P	PVMİ	İMİ	N	AH	B-B	MT	F
1	2	0	0	1	2	1	2	0	1	0	0
2	2	0	1	1	2	1	1	0	1	0	0
3	3	0	1	2	2	2	1	0	2	1	0
4	2	0	1	1	2	1	1	2	1	1	0
5	2	0	1	1	2	1	1	0	1	0	0
6	2	0	0	1	1	1	0	0	2	1	0
G3 GRUBU											
olgu no	HEH	HM	İÖ	T2P	PVMİ	İMİ	N	AH	B-B	MT	F
1	2	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
2	2	0	1	0	1	2	0	0	1	0	0
3	2	0	1	0	1	2	1	0	2	0	0
4	3	0	1	0	1	2	0	0	1	0	0
5	3	0	1	2	3	2	0	0	3	1	0
6	2	0	1	0	1	1	1	0	2	0	0
G4 GRUBU											
olgu no	HEH	HM	İÖ	T2P	PVMİ	İMİ	N	AH	B-B	MT	F
1	4	1	1	2	4	2	1	2	4	1	0
2											
3	2	0	0	2	2	2	1	0	2	0	0
4	3	0	0	1	2	2	1	0	2	1	0
5	3	1	1	2	2	2	1	1	2	1	0
6	2	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0

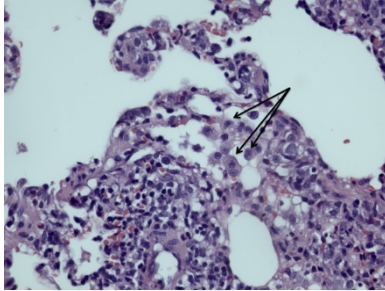
Akciğer dokularının histopatolojik incelemesinde elde edilen bazı mikroskopik görüntüler aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.



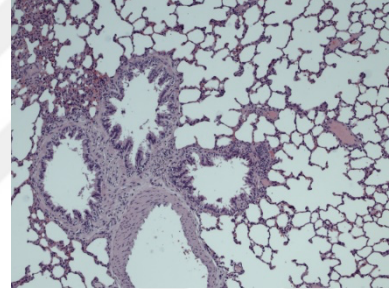
Şekil 12. Grup 1; Küçük büyütmede düzenli görünümde akciğer parenkimi. H&Ex40



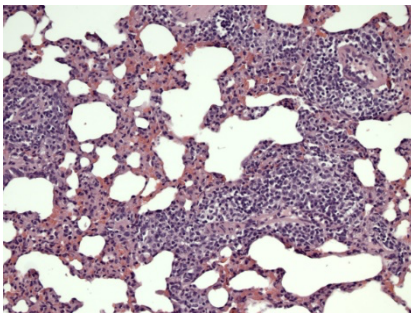
Şekil 13. Grup 2; parenkimde nötrofillerden zengin mikst iltihabi infiltrasyon . H&Ex200



Şekil 14. Grup2; Tip 2 pnömosit proliferasyonu.(ok) H&Ex400



Şekil 15. Grup3: Örneklerin birinde nispeten düzenli yapıda bronş ve alveolar parenkim dokusu. H&Ex100



Şekil 16. Grup 4; Perivasküler ve interstisyel yoğun mononükleer iltihabi infiltrasyon. H&Ex200

Tablo 13’de akciğer dokularında görülen patolojik değişiklik skorlarının gruplar arasında karşılaştırılmasına ait sonuçlar verilmiştir.

Tablo 13. Hayvanların akciğer dokularındaki patolojik değişiklik skorlarının gruplara göre karşılaştırılması

		G1	G2	G3	G4	p ^a değeri
HEH						
	Hafif	3(%75)	5(%83,3)	4(%66,7)	2(%40)	0,775
	Orta	1(%25)	1(%16,7)	2(%33,3)	2(%40)	
	Şiddetli	0	0	0	1(%20)	
HM						
	Normal	4(%100)	6(%100)	6(%100)	3(%60)	0,076
	Minimal	0	0	0	2(%40)	
İÖ						
	Normal	1(%25)	2(%33,3)	1(%16,7)	3(%60)	0,586
	Minimal	3(%75)	4(%66,7)	5(%83,3)	2(%40)	
T2P						
	Normal	0	0	5(%83,3)	0	0,002
	Minimal	3(%75)	5(%83,3)	0	2(%40)	
	Hafif	1(%25)	1(%16,7)	1(%16,7)	3(%60)	
PVMİ						
	Normal	0	0	1(%16,7)	0	0,026
	Minimal	0	1(%16,7)	4(%66,7)	1(%20)	
	Hafif	3(%75)	5(%83,3)	0	3(%60)	
	Orta	1(%25)	0	1(%16,6)	0	
	Şiddetli	0	0	0	1(%20)	
İMİ						
	Minimal	2(%50)	5(%83,3)	2(%33,3)	1(%20)	0,194
	Hafif	2(%50)	1(%16,7)	4(%66,7)	4(%80)	
N						
	Normal	2(%50)	1(%16,7)	4(%66,7)	1(%20)	0,334
	Minimal	1(%25)	4(%66,7)	2(%33,3)	4(%80)	
	Hafif	1(%25)	1(%16,7)	0	0	
AH						
	Normal	2(%50)	5(%83,3)	6(%100)	3(%60)	0,178
	Minimal	2(%50)	0	0	1(%20)	
	Hafif	0	1(%16,7)	0	1(%20)	
B-B						
	Minimal	1(%25)	4(%66,7)	3(%50)	1(%20)	0,569
	Hafif	3(%75)	2(%33,3)	2(%33,3)	3(%60)	
	Orta	0	0	1(%16,7)	0	
	Şiddetli	0	0	0	1(%20)	
MT						
	Normal	1(%25)	3(%50)	5(%83,3)	2(%40)	0,338
	Minimal	3(%75)	3(%50)	1(%16,7)	3(%60)	

Değişkenler n(%) ile ifade edilmiştir. a: Fisher-Freeman-Halton testi

Tablo 13 incelendiğinde, gruplar arasında hayvanların akciğer dokularında incelenen tip2 pnömosit proliferasyonu veya alveolar makrofajlar (T2P) ve perivasküler mononükleer iltihap (PVMİ) değişiklikleri bakımından anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,026$). Bu farklılıkları belirlemek için gruplar arasında ikili olarak karşılaştırmalar yapılmıştır. Kontrol grubu (G1) ve favipiravir uygulanan grup (G3) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmekte olup ($p=0,010$), kontrol grubunun %75'inde akciğer dokularında tip2 pnömosit proliferasyonu veya alveolar makrofajlar minimal değişiklik söz konusu iken, favipiravir uygulanan grubun %83,3'ünde akciğer dokularında tip2 pnömosit proliferasyonu veya alveolar makrofajlar normal değişiklik meydana gelmektedir. Parasetamol uygulanan grup (G2) ve favipiravir uygulanan grup (G3) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmekte olup ($p=0,004$), parasetamol uygulanan grubun %83,3'ünde akciğer dokularında tip2 pnömosit proliferasyonu veya alveolar makrofajlar minimal değişiklik söz konusu iken, favipiravir uygulanan grubun %83,3'ünde akciğer dokularında tip2 pnömosit proliferasyonu veya alveolar makrofajlar normal değişiklik söz konusudur. Favipiravir uygulanan grup (G3) ve parasetamol + favipiravir uygulanan grup (G4) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmekte olup ($p=0,015$), favipiravir uygulanan grubun %83,3'ünde akciğer dokularında tip2 pnömosit proliferasyonu veya alveolar makrofajlar normal değişiklik gözlenirken, parasetamol + favipiravir uygulanan grubun %60'ında akciğer dokularında tip2 pnömosit proliferasyonu veya alveolar makrofajlar hafif değişiklik (<25 'inde lezyon kaybı) olduğu gözlemlenmiştir. Diğer gruplar arasında incelenen tip2 pnömosit proliferasyonu veya alveolar makrofajlar (T2P) değişiklikleri bakımından farklılık elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Kontrol grubu (G1) ve favipiravir uygulanan grup (G3) arasında perivasküler mononükleer iltihap (PVMİ) değişiklikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmekte olup ($p=0,019$), kontrol grubunun %75'inde akciğer dokularında perivasküler mononükleer iltihap (PVMİ) hafif değişiklik söz konusu iken, favipiravir uygulanan grubun %66,7'sinde akciğer dokularında perivasküler mononükleer iltihap (PVMİ) minimal değişiklik söz konusudur. Parasetamol uygulanan grup (G2) ve favipiravir uygulanan grup (G3) arasında perivasküler mononükleer iltihap (PVMİ) değişiklikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı

farklılık elde edilmekte olup ($p=0,026$), parasetamol uygulanan grubun %83,3'ünde akciğer dokularında perivasküler mononükleer iltihabında (PVMİ) hafif değişiklik gözlemlenirken, favipiravir uygulanan grubun %66,7'sinde akciğer dokularında perivasküler mononükleer iltihabında (PVMİ) minimal değişiklik olduğu gözlemlenmiştir. Diğer gruplar arasında incelenen perivasküler mononükleer iltihap (PVMİ) değişiklikleri bakımından farklılık elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Gruplar arasında hayvanların akciğer dokularında incelenen HEH, HM, İÖ, İMİ, N, AH, B-B ve MT değişiklikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

4.2. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER VE İSTATİSTİKSEL ANALİZİ

4.2.1. Biyokimyasal Ölçümler

Deneyde kullanılan hayvanlar yukarıda anlatıldığı gibi 4 gruba ayrılmış olup bunlardan birinci grup (G 1) sadece izotonik uygulanan kontrol grubudur ve bu grubun denek sayısı 4' tür. Diğer gruplar 6' şar denek ile oluşturulmuş olup ikinci grup (G 2) sadece parasetamol uygulanan, üçüncü grup (G 3) sadece favipiravir uygulanan, dördüncü grup (G 4) ise parasetamol uygulaması sonrası favipiravir uygulanan gruptur. Deneyin başlangıcında yani 0. günde tüm deneklerden bazal bir değerlendirme olması amacıyla kan örnekleri alınıp bu örneklerde ALT ve AST ölçümleri yapılmıştır. Yine 0.günde G2 ve G4 gruplarındaki hayvanlara bazal kanlarının alınması sonrası akut karaciğer yetmezliği oluşturulması amacıyla parasetamol uygulaması yukarıda belirtilen şekilde ve dozda verilmiştir, deneyin sonraki gününde yani 1. günde G 2 ve G 4 gruplarındaki hayvanlardan parasetamol uygulamasının etkilerini görebilmek adına kan örnekleri alınıp aynı ölçümler yapılmıştır. Deneyin devamında 4.günde klinik seyre yardımcı olması açısından tüm hayvanlardan kan örnekleri alınıp aynı ölçümler yapılmıştır. Deneyin son günü olan 6.günde hayvanlar öldürülmeden önce tüm deneklerden kan örnekleri alınıp yine aynı ölçümler yapılmıştır. Ancak 5.günde G4 grubunda ki 2 numaralı hayvan (G4-2) kafesinde ölü olarak bulunduğu son gün alınan kan örnekleri ölçümlerine katılamamıştır.

0.gün, 1.gün, 4.gün, ve 6.gün alınan kan örneklerinden yapılan biyokimyasal ölçümler günlere ayrılarak tablo halinde aşağıda verilmiştir.

**Tablo 14. Deneyin 0.gününde ölçülen
bazal biyokimyasal ölçümler**

0. GÜN		
hayvan	ALT	AST
G1-1	53,5	69,7
G1-2	48,5	69,1
G1-3	48,7	66,3
G1-4	57,2	65,5
G2-1	53,8	78,1
G2-2	57,3	78,8
G2-3	68,2	67,7
G2-4	59,4	65
G2-5	55,3	71,2
G2-6	54,9	69,5
G3-1	53,8	112,9
G3-2	43,3	65,4
G3-3	34,5	63,7
G3-4	47,4	57,7
G3-5	47,8	64,1
G3-6	44,7	60,6
G4-1	44,7	61,7
G4-2	46,5	76,4
G4-3	65,5	75
G4-4	43,8	66,4
G4-5	46,5	82
G4-6	60,1	72

**Tablo 15. Deneyin 1. gününde ölçülen
biyokimyasal ölçümler**

1. GÜN		
hayvan	ALT	AST
G2-1	69,2	94,2
G2-2	78,6	98,9
G2-3	82	84,3
G2-4	76,2	79,6
G2-5	74,2	88,4
G2-6	64,6	89,7
G4-1	85,1	73
G4-2	78,4	86,2
G4-3	69,8	81
G4-4	64,3	77,7
G4-5	77,3	93,4
G4-6	67,1	87,2

**Tablo 16. Deneyin 4.gününde ölçülen
biyokimyasal ölçümler**

4. GÜN		
hayvan	ALT	AST
G1-1	59,6	70,5
G1-2	50,4	62
G1-3	58,5	72,9
G1-4	52,2	61,1
G2-1	56,6	100,4
G2-2	43,6	67
G2-3	42,9	58,7
G2-4	51,6	77,4
G2-5	52,4	66,6
G2-6	42,2	53,8
G3-1	62,2	87,1
G3-2	72,5	97,9
G3-3	46,9	96,2
G3-4	74,6	100
G3-5	75	91,8
G3-6	55,6	61,8
G4-1	51,9	70,1
G4-2	52,4	96,1
G4-3	84,7	92,8
G4-4	64,4	82,2
G4-5	83,5	94,4
G4-6	77,1	87,5

**Tablo 17. Deneyin 6.gününde ölçülen
biyokimyasal ölçümler**

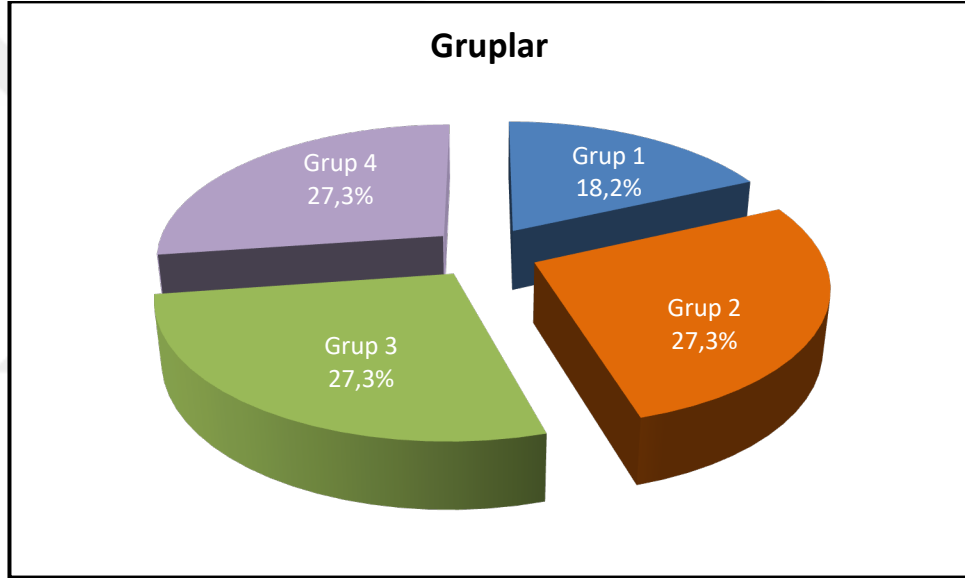
6. GÜN		
hayvan	ALT	AST
G1-1	46,4	67,7
G1-2	54,2	90,3
G1-3	50,6	69,9
G1-4	55,5	61,5
G2-1	38,9	61,8
G2-2	40,7	60,1
G2-3	45,7	53,1
G2-4	43,9	58,1
G2-5	46,3	57,9
G2-6	51,4	60
G3-1	37,4	93,5
G3-2	72,6	95,7
G3-3	33,8	100,4
G3-4	50,5	99,6
G3-5	86,9	80,4
G3-6	40,6	95
G4-1	107,2	113,9
G4-2	ölü	ölü
G4-3	63,9	75,9
G4-4	33,2	69,5
G4-5	57,1	66,9
G4-6	57,6	67

4.2.2. Biyokimyasal Ölçümlerin İstatistiksel Analizi

Deneklerin gruplara dağılımı aşağıdaki Tablo 10 ve Şekil 1 belirtilmiştir.

Tablo 18. Grupların dağılımları

	n (%)
Grup 1	4 (18,2)
Grup 2	6 (27,3)
Grup 3	6 (27,3)
Grup 4	6 (27,3)



Şekil 17. Grupların dağılımları

Biyokimyasal ölçümlerden ALT ve AST' nin günlere ve gruplara göre değişimlerinin istatistiksel analizi aşağıdaki Tablo 19' da verilmiştir.

Tablo 19. Gruplara Göre ALT ve AST Ölçüm Değerlerinin Karşılaştırılması

		Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
ALT						
0.gün	Ort±Ss	51,98±4,18	58,15±5,31	45,25±6,39	51,18±9,22	^a 0,032 *
1.gün	Ort±Ss	-	74,13±6,35	-	73,67±7,90	^d 0,873
4.gün	Ort±Ss	55,18±4,56	48,22±6,08	64,47±11,58	69,00±14,91	^a 0,031 *
6.gün	Ort±Ss	51,68±4,08	44,48±4,44	53,63±21,46	63,80±26,94	^a 0,293
	p	^c 0,779	^c 0,030*	^c 0,115	^c 0,041*	
Değişim Δ						
0.gün-1.gün	Ort±Ss	-	15,98±4,05	-	22,48±14,51	^d 0,423
	p	^c 1,000	^c 0,518	^c 0,518	^c 0,518	
0.gün-4.gün	Ort±Ss	3,20±6,35	-9,93±9,74	19,22±9,59	17,82±11,25	^a 0,002 **
	p	^c 1,000	^c 0,250	^c 0,130	^c 0,046*	
0.gün-6.gün	Ort±Ss	-0,30±5,45	-13,67±6,58	8,38±21,27	11,68±29,40	^a 0,040 *
	p	^c 1,000	^c 0,028*	^c 0,447	^c 1,000	
AST						
0.gün	Ort±Ss	67,65±2,06	71,72±5,61	70,73±20,84	72,25±7,29	^a 0,168
1.gün	Ort±Ss	-	89,18±6,87	-	83,08±7,32	^d 0,150
4.gün	Ort±Ss	66,63±5,95	70,65±16,66	89,13±14,16	87,18±9,80	^a 0,078
6.gün	Ort±Ss	72,35±12,48	58,50±3,01	94,10±7,23	78,64±20,05	^a 0,002 **
	p	^c 1,000	^c 0,005**	^c 0,135	^c 0,033*	
Değişim m Δ						
0.gün-1.gün	Ort±Ss	-	17,47±2,25	-	10,83±2,98	^d 0,006 **
	p	^c 1,000	^c 0,705	^c 0,300	^c 0,300	
0.gün-4.gün	Ort±Ss	-1,03±6,05	-1,07±15,05	18,40±25,71	14,93±4,03	^a 0,076
	p	^c 1,000	^c 1,000	^c 0,250	^c 0,042*	
0.gün-6.gün	Ort±Ss	4,70±11,46	-13,22±4,36	23,37±22,67	7,22±26,11	^a 0,042 *
	p	^c 1,000	^c 0,044*	^c 0,250	^c 1,000	

^aKruskal Wallis Test

^cFriedman Test & ^{cc}Wilcoxon Düzeltmeli İkili Karşılaştırmalar

^dMann Whitney-U Test

*p<0,05

**p<0,01

Tablo 19 incelendiğinde;

ALT

Gruplara göre olguların 0.gün ALT ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,032; p<0,05). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde; Grup2'deki olguların ALT ölçüm değerleri, Grup 3'teki olgulardan anlamlı yüksektir (p=0,021; p<0,05).

Gruplara göre olguların 4.gün ALT ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,032; p<0,05). Farklılığın kaynağını belirlemek

amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde; Grup 4'teki olguların ALT ölçüm değerleri, Grup 2'deki olgulardan anlamlı yüksektir ($p=0,035$; $p<0,05$).

Gruplara göre olguların 1.gün ve 6.gün ALT ölçüm değerleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Grup 1 için;

Grup 1'deki olguların 0.gün, 4.gün ve 6.gün ALT ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Grup 2 için;

Grup 2'deki olguların 0.gün, 1.gün, 4.gün ve 6.gün ALT ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,030$; $p<0,05$).

Olguların 0.güne göre 6.gün ALT ölçümlerindeki ortalama $13,67\pm6,58$ birimlik azalış istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,028$; $p<0,05$).

Olguların 0.güne göre 1.gün ve 0.güne göre 4.gün ALT ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır ($p>0,05$).

Grup 3 için;

Grup 3'teki olguların 0.gün, 4.gün ve 6.gün ALT ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Grup 4 için;

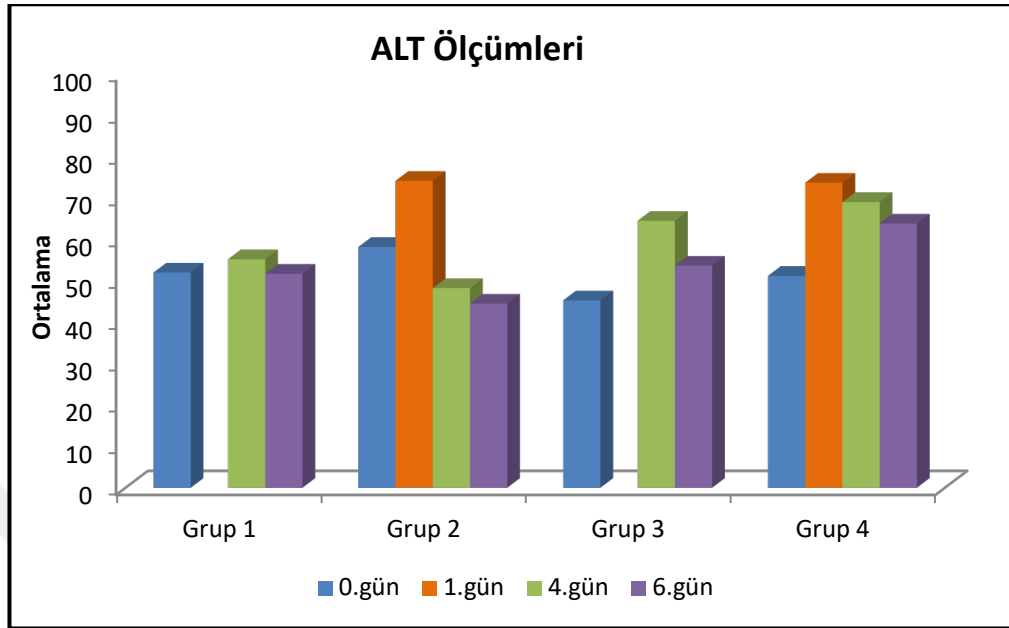
Grup 4'teki olguların 0.gün, 1.gün, 4.gün ve 6.gün ALT ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,041$; $p<0,05$).

Olguların 0.güne göre 4.gün ALT ölçümlerindeki ortalama $17,82\pm11,25$ birimlik artış istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,046$; $p<0,05$).

Gruplara göre olguların 0.güne göre 4.gün ALT ölçümlerindeki değişim oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,002$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde; Grup 2'deki olguların ALT ölçüm değerleri, Grup 3 ve Grup 4'teki olgulardan anlamlı düşüktür ($p=0,013$; $p=0,004$; $p<0,05$).

Gruplara göre olguların 0.güne göre 6.gün ALT ölçümlerindeki değişim oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,040$; $p<0,05$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde; Grup 3'teki olguların ALT ölçüm değerleri, Grup 2'deki olgulardan anlamlı düşüktür ($p=0,016$; $p<0,05$).

Gruplara göre olguların 0.güne göre 1.gün ALT ölçümlerindeki değişim oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 18. ALT ölçüm değerlerinin dağılımları

AST

Gruplara göre olguların 6.gün AST ölçüm değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,002$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde; Grup 3'teki olguların AST ölçüm değerleri, Grup 2'teki olgulardan anlamlı yüksektir ($p=0,001$; $p<0,01$).

Gruplara göre olguların 0.gün, 1.gün ve 4.gün AST ölçüm değerleri, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Grup 1 için;

Grup 1'deki olguların 0.gün, 4.gün ve 6.gün AST ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Grup 2 için;

Grup 2'deki olguların 0.gün, 1.gün, 4.gün ve 6.gün AST ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,005$; $p<0,01$).

Olguların 0.güne göre 6.gün AST ölçümlerindeki ortalama $13,22 \pm 4,36$ birimlik azalış istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,044$; $p<0,05$).

Olguların 0.güne göre 1.gün ve 0.güne göre 4.gün AST ölçümlerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır ($p>0,05$).

Grup 3 için;

Grup 3'teki olguların 0.gün, 4.gün ve 6.gün AST ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Grup 4 için;

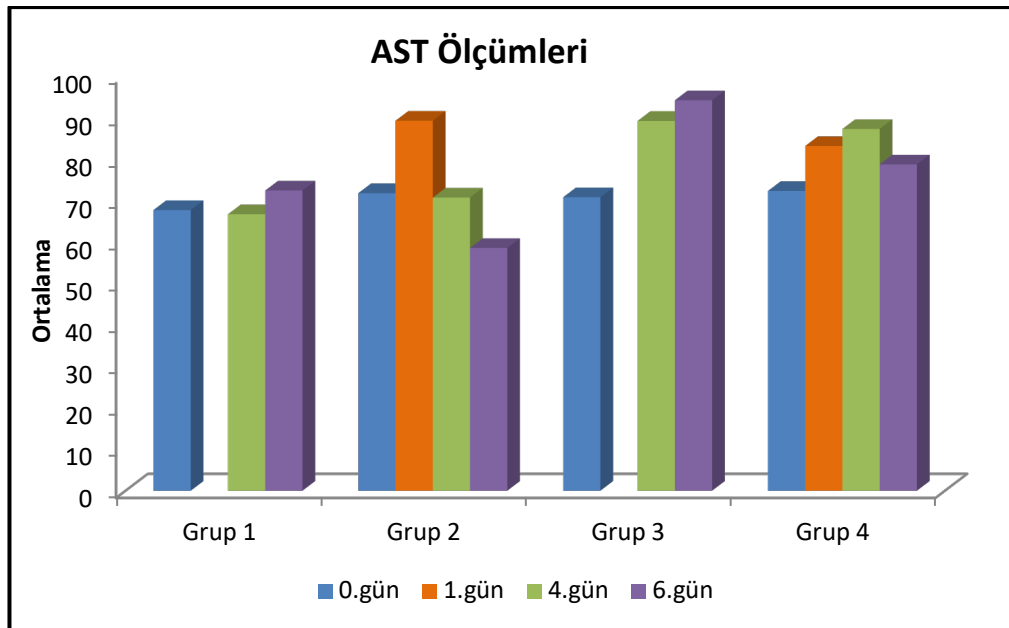
Grup 4'teki olguların 0.gün, 1.gün, 4.gün ve 6.gün AST ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,033$; $p<0,05$).

Olguların 0.güne göre 4.gün AST ölçümlerindeki ortalama $14,93\pm4,03$ birimlik artış istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,042$; $p<0,05$).

Grup 2'deki olguların 0.güne göre 1.gün AST ölçümlerindeki değişim oranları, 4.gruptaki olgulardan istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptanmıştır ($p=0,006$; $p<0,01$).

Gruplara göre olguların 0.güne göre 6.gün AST ölçümlerindeki değişim oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,002$; $p<0,01$). Farklılığın kaynağını belirlemek amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar neticesinde; Grup 3'teki olguların AST ölçüm değerleri Grup 2'deki olgulardan anlamlı yüksektir ($p=0,036$; $p<0,05$).

Gruplara göre olguların 0.güne göre 4.gün AST ölçümlerindeki değişim oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 19. AST ölçüm değerlerinin dağılımları

5. TARTIŞMA

Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş akut karaciğer yetmezliği modelinde favipiravir uygulamasının etkilerinin belirlenmesi çalışmamızda primer amacımız favipiravir tedavi dozunun karaciğer, böbrek, akciğer ve kalp dokuları üzerine histopatolojik etkilerini gözlemlemektir. Sekonder amacımız ise sıçanlarda parasetamol ile deneysel olarak oluşturulmuş akut karaciğer yetmezliği modelinde favipiravir tedavi dozunun serum transaminazları üzerine etkisinin incelenmesiydi

Çalışmamızdaki sıçanları 6.güne kadar takip ettik. Parasetamol sonrası favipiravir tedavi dozu alan Grup 4 ten bir hayvan deney sürecinde öldüğü için kalan 21 hayvan 6.günün sonunda servikal dislokasyon ile öldürüldü. Hayvanların karaciğer, akciğer, kalp ve böbrek dokuları çıkarıldı, histopatolojik olarak incelendi. Beklenildiği gibi deneysel karaciğer yetmezliği oluşturmak için parasetamol uygulaması yapılan grup 2 de istatistiksel olarak anlamlı hepatosellüler dejenarasyon ve nekroz gözlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur (33). Karaciğer steatozu açısından yapılan karşılaştırmada ise sadece favipiravir uygulanan grup 3 te %50 steatoz görülürken parasetamol sonrası favipiravir uygulanan grup 4 te %60 steatoz görülmüş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Favipiravirin steatozu artırıcı etkisi göz önünde bulundurularak; karaciğer yetmezliği durumunda tedavi dozunda favipiravir uygulanırsa mevcut karaciğer steatozunu daha da arttıracakını söylemek mümkün. Daha önceki çalışmalarda da favipiravirin karaciğerde steatoza neden olduğu histopatolojik olarak gösterilmiştir (34). Sonuç olarak parasetamolün anlamlı derecede nekroz ve hepatosellüler dejenarasyona neden olduğu, favipiravirin ise bu parametrelerde anlamlı değişiklik yapmadığı ancak steatoz parametreleri açısından bakıldığında favipiravirin anlamlı derecede steatoza neden olduğunu söylemek mümkün. Favipiravir tedavi dozunda uygulandığında karaciğer histopatolojisinde anlamlı olarak sadece steatoza neden olmuştur diyebiliriz.

Böbrek dokusunun histopatolojik incelemesinde, sadece parasetamol uygulanan grup 2'deki hayvanlarda %50' sinde tubuler hasar, daha fazla oranda da deskuamasyon ve nekroz görülmüştür. Parasetamolün karaciğer hasarı etkisi üzerinde durulsa da daha önceki çalışmalar böbrek hasarı da yapabileceğini göstermiştir (35). Sadece favipiravir uygulanan grupta böbrek dokularında histopatolojik olarak anlamlı değişim gözlenmezken parasetamol sonrası favipiravir uygulanan grupta %80 den

fazla tubuler hasar oluşturduğu görüldü. Bunun da böbrek tubullerine parasetamolün mevcut hasarının favipiravir ile potansiyelize olması olarak yorumlamaktayız. Sadece favipiravir uygulanan grupta bu hasarın görülmemesi bu görüşümüzü desteklemektedir.

Kalp dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde incelenen tüm parametrelerde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Hiçbir grupta anlamlı bir kardiyak hasar oluşmadığı görüldü. Yanagida ve ark.'nın 2021' de yaptığı, COVID-19 tedavisinde kullanılan ilaçların kardiyotoksitesini değerlendirmek amacıyla insan kaynaklı pluripotent kök hücre türevli kardiyomiyositleri üzerinde yaptıkları çalışmada da favipiravirin kardiyotoksik bir etkisi gözlenmemiştir (36).

Akciğer dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde sadece favipiravir alan grup 3'te anlamlı değişiklikler saptanmıştır. T2P ve PVM  parametreleri incelendiğinde sadece favipiravir alan grup 3'te anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Buna dayanarak favipiravirin akciğer dokularında perivasküler inflamasyonu baskıladığını ve inflamatuvar hücre sayısını azalttığını söyleyebiliriz. Kaptein ve ark.'nın 2020'de SARS-CoV-2 ile enfekte hamsterlarda favipiravir ile hidroklorokinin etkilerini karşılaştırdığı çalışmada, favipiravirin özellikle yüksek dozlarda uygulandığında histopatolojik olarak akciğer dokularında perivasküler inflamasyonu baskıladığı ve bronş duvarlarında inflamatuvar hücre miktarını azalttığı saptanmıştır (7).

Çalışmamızın sonucunda  l  len AST ve ALT değerleri karşılaştırıldığında beklendiği gibi sadece parasetamol alan grup 2 de ve parasetamol sonrası favipiravir alan grup 4'te ilk ve son gün ölçümleri arasında anlamlı fark saptandı ($p<0.005$). Daha önce yapılan bazı çalışmalarda favipiravire bağlı AST-ALT yüksekliğinden bahsedilirken biz çalışmamızda sadece favipiravir alan grup 3' te ilk ve son gün AST-ALT  l  mleri arasında anlamlı fark saptamadık (4).

Bizim  alışmamızda gözlemlediğimiz gibi Bayram ve ark.'nın 2020 Türkiye'de yaptıkları çalışmada da favipiravir tedavi dozunun serum transaminazları yükselttiği ancak bunun anlamlı bir yükseklik olmadığı saptanmıştır (37). Bayram ve ark.'ın 2020 de Türkiye'de yaptıkları çalışmaya göre COVID-19 tanısı ile hastaneye yatırılan hastalardan favipiravir alan 454, favipiravir almayan 113 hasta çalışmaya dahil edilmiş, yatış başlangıcı ile 5 günlük tedavi sonrası serum transaminazları

karşılaştırılmış, favipiravir alan ve almayan gruplarda AST yüksekliği sırasıyla 133 (%29,3), 32 (%28,3; $p=0,100$), ALT yüksekliği 112 (%24,7), 35 (%29,3; $p=0,100$) bulundu. Favipiravir alan grupta 26 (%5,7) hastada serum AST ve 33 (%7,2) hastada serum ALT üst sınırın iki katından fazla yükseldi. Bunun yanı sıra favipiravir almayan grupta serum AST' si dört (%3,5) hastada ve serum ALT' si altı (%5,3) hastada üst sınırın iki katından fazla yükseldi. Serum transaminaz yükselme oranları açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Hastaların hiçbirinde ciddi serum transaminaz yüksekliği (normalin üst sınırının beş katından fazla) ve karaciğer yetmezliği gelişmedi (37).

Yine bir başka çalışma olan Pilkington ve ark.'nın 2020 de yaptığı favipiravirin COVID-19 tedavisinde kullanımının güvenliliği hakkında yapmış olduğu çalışmada düşük doz ve yüksek doz favipiravirin plasebo grubuna göre daha az serum transaminazlarını yükselttiği görülmüş olup bu açıdan favipiravir güvenli bulunmuştur (38).

Kısıtlılıklarımızdan birisinin, grup 2 ve grup 4 teki sıçanlara parasetamol sonrası karaciğer yetmezliğinin uygunluğunun gösterilmesi adına 1.günde transaminaz ölçümünün yapılıp diğer gruplara yapılmamasının olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızın bu kısıtlılığını da göz önünde bulundurarak bu gruplarda ALT değeri 1.gün en yüksek değerlere ulaşip daha sonra düşme eğilimine girerken sadece favipiravir uygulanan grup 3 teki ölçümlerde en yüksek ALT değerlerine 4.gün ulaşılmıştır. Daha sonra grup 3 dışındaki tüm gruplarda bu değerler düşmeye başlamıştır. Parasetamol ile karaciğer hasarı oluşturulduktan sonra favipiravir verilen grup 4'te ise diğer gruplara göre transaminaz ölçümlerinde gerileme daha az olmuştur. Sadece favipiravir uygulanan grup 3 teki ALT değerleri, sadece parasetamol uygulanan grup 2 ye göre anlamlı düşüktür ($p=0,016$). Bu sonuçlardan yola çıkarak favipiravirin tedavi dozunun, daha önce karaciğer yetmezliği yaptığı kanıtlanmış dozda parasetamol uygulaması kadar ALT değişimi yapmadığını söylemenin mümkün olduğu kanısındayız. Tüm bu verilerle parasetamole bağlı karaciğer hasarının 24.saatte, favipiravire bağlı karaciğer hasarının daha sonrasında oluştuğunu kabul edebiliriz (39). Ayrıca parasetamol ile karaciğer hasarı oluşturulduktan sonra favipiravir verilen grup 4 ün ALT değerlerinin sadece parasetamol verilen grup 2'nin ALT değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır. Grupların AST

değerleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark olması üzerine bunun sebebini görmek için grup karşılaştırmasında sadece favipiravir alan grup 3 ün AST değerlerinin, sadece parasetamol uygulanan grup 2 ye göre anlamlı yüksek olduğunu gördük ($p=0,036$). Anlamlı olarak sadece favipiravir alan grup 3 de AST yükselmesi devam ederken diğer gruplarda 4.günden sonra düşmeye başlamıştır. AST ve ALT Karaciğer hepatositlerinden salınan intrasellüler enzimlerdir ve hepatosit hasarında kan seviyeleri artışa geçer. AST karaciğer dışı dokularda da sıklıkla bulunurken ALT' nin karaciğer özgüllüğü daha yüksektir (40). Tüm bu verilerle parasetamole bağlı karaciğer hasarının 24.saatte, favipiravire bağlı karaciğer hasarının daha sonrasında oluştuğunu kabul edebiliriz (41).

Favipiravir aslında tüm dünya için yeni bir ilaçtır ve COVID-19 pandemisi ile birlikte kullanımı, bilinirliği ve hakkında yapılan çalışmalar ciddi artış göstermiştir. Pandemi başında COVID-19 tedavisinde favipiravirin kullanımı kılavuzlarda önerilmiş olup yaygın kullanılmaya başlanmıştır. Bu yaygın kullanımla beraber acil servislerde de saptadığımız özellikle COVID-19 pnömonisi olan hastalarda favipiravir tedavi protokollerinde sıkça kullandığımız bir ilaç haline gelmiştir. Bu çalışmamız favipiravir tedavisinin halen kılavuzlarda olduğu ve yaygın olarak kullanıldığı 2021 Nisan ayında yapılmıştır, bilindiği gibi güncel çalışmalar ışığında favipiravirin COVID-19 tedavisinde rutin kullanımı artık önerilmemektedir ancak favipiravirin birçok RNA virüslerine karşı etkisinin kanıtlandığı bilinmekle birlikte ilerleyen yıllarda tüm dünyayı ilgilendirecek olan RNA virüslerinin neden olacağı yeni pandemiler öngörülmektedir ve bu nedenle favipiravir etkilerinin belirlenmesi amacıyla yaptığımız bu çalışmayı bu açıdan değerli görmekteyiz (42).

6. KISITLILIKLAR

Çalışmamızın en önemli kısıtlılıklarından biri hayvan deneyi modeli olmasıdır. Bu çalışmada gözlenen etkiler insanlar üzerinde benzer şekilde görülmeyebilir.

Etik kurul onayı alınabilmesi için hayvan sayısı olabilecek en az sayıda tutulduğundan kısıtlı sayıda denek çalışmaya alınmıştır, bu nedenle elde ettiğimiz sonuçlar genele yayılması için yetersiz kalmıştır. Kontrol grubu olan grup 1 de bu nedenle 4 hayvanla oluşturulmuş, diğer gruplar 6'şar hayvanla oluşturulmuştur.

Parasetamol etkisinin görülebilmesi adına deneyin 1.gününde sadece grup 2 ve grup 4'teki hayvanlardan kan örnekleri alınıp diğerlerinden alınmaması biyokimyasal parametreleri süreç içinde değerlendirmede bir diğer kısıtlılığımızı oluşturmuştur. Hayvan refahının düşünülmesi ve teknik yetersizliklerden dolayı parasetamol uygulanmayan diğer gruplardan kan örneği alınamamıştır.

AST ölçümlerinin alınan kan örneklerinde meydana gelmiş olabilecek hemoliz reaksiyonlarından kolay etkilenecek olması bu ölçümlerin analizinde bir kısıtlılık oluşturmuştur.

7. SONUÇ

Histopatolojik verileri incelediğimizde favipiravirin tedavi dozunda uygulanmasının karaciğer dokularında belirgin derecede steatoza neden olduğunu ancak anlamlı derecede hepatoselüler dejenerasyon ve nekroza neden olmadığını sonucuna vardık. Böbrek ve kalp dokuları incelendiğinde favipiravirin tek başına tedavi dozunun uygulanmasının anlamlı bir patolojik değişime neden olmadığını gözlemledik. Akciğer dokuları incelendiğinde ise favipiravirin dokudaki inflamasyonu baskıladığını gözlemledik.

Biyokimyasal parametreleri incelediğimizde, deneysel olarak oluşturulmuş akut karaciğer yetmezliği modelinde favipiravirin serum ALT değerlerini anlamlı derecede yükselttiğini ancak AST değerlerinde anlamlı değişiklik yapmadığını saptadık.

Sonuç olarak favipiravirin karaciğer dokusunda geri döndürülemez boyutta patolojik hasarlara neden olmadığı, bu nedenle karaciğer yetmezliği olan hastalarda yakın klinik takiple tedavi dozlarında kullanılabileceği düşünülebilir. Ancak daha fazla denekle yapılacak hayvan deneylerine ve insanlar üzerindeki etkilerini ortaya çıkarabilecek daha fazla klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. KAYNAKLAR

1. Wang, M., Cao, R., Zhang, L., Yang, X., Liu, J., Xu, M., ... & Xiao, G. (2020). *Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro*. *Cell research*, 30(3), 269-271.
2. Bosaeed, M., Alharbi, A., Mahmoud, E., Alrehily, S., Bahlaq, M., Gaifer, Z., ... & Alaskar, A. (2022). *Efficacy of favipiravir in adults with mild COVID-19: a randomized, double-blind, multicentre, placebo-controlled clinical trial*. *Clinical Microbiology*.
3. Shiraki, K., & Daikoku, T. (2020). *Favipiravir, an anti-influenza drug against life-threatening RNA virus infections*. *Pharmacology & therapeutics*, 209, 107512.
4. Olry, A., Meunier, L., Délire, B., Larrey, D., Horsmans, Y., & Le Louët, H. (2020). *Drug-induced liver injury and COVID-19 infection: the rules remain the same*. *Drug safety*, 43(7), 615-617.
5. Avigan Tablet 200 mg. *Report on the Deliberation Results*. (2014). *Evaluation and Licensing Division, Pharmaceutical and Food Safety Bureau. Ministry of Health. Labour and Welfare. March, 4*.
6. Li, L., Wang, X., Wang, R., Hu, Y., Jiang, S., & Lu, X. (2020). *Antiviral agent therapy optimization in special populations of COVID-19 patients*. *Drug design, development and therapy*, 14, 3001.
7. Kaptein, S. J., Jacobs, S., Langendries, L., Seldeslachts, L., Ter Horst, S., Liesenborghs, L., ... & Delang, L. (2020). *Favipiravir at high doses has potent antiviral activity in SARS-CoV-2-infected hamsters, whereas hydroxychloroquine lacks activity*. *P*.
8. Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., ... & Feng, Z. (2020). *Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia*. *New England journal of medicine*.
9. Yi, Y., Lagniton, P. N., Ye, S., Li, E., & Xu, R. H. (2020). *COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease*. *International journal of biological sciences*, 16(10), 1753.
10. Riou, J., & Althaus, C. L. (2020). *Pattern of early human-to-human transmission of Wuhan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), December 2019 to January 2020*. *Eurosurveillance*, 25(4), 2000058.
11. Guan, W. J., Ni, Z. Y., Hu, Y., Liang, W. H., Ou, C. Q., He, J. X., ... & Zhong, N. S. (2020). *Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China*. *New England journal of medicine*, 382(18), 1708-1720.
12. Wang, C., Horby, P. W., Hayden, F. G., & Gao, G. F. (2020). *A novel coronavirus outbreak of global health concern*. *The lancet*, 395(10223), 470-473.
13. Phan, L. T., Nguyen, T. V., Luong, Q. C., Nguyen, T. V., Nguyen, H. T., Le, H. Q., ... & Pham, Q. D. (2020). *Importation and human-to-human transmission of a novel coronavirus in Vietnam*. *New England Journal of Medicine*, 382(9), 872-874.

14. Ruan, Q., Yang, K., Wang, W., Jiang, L., & Song, J. (2020). Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive care medicine*, 46(5), 846-848.
15. Song, Y., Zhang, M., Yin, L., Wang, K., Zhou, Y., Zhou, M., & Lu, Y. (2020). COVID-19 treatment: close to a cure? A rapid review of pharmacotherapies for the novel coronavirus (SARS-CoV-2). *International journal of antimicrobial agents*, 56(2), 106080.
16. Mallah, S. I., Ghorab, O. K., Al-Salmi, S., Abdellatif, O. S., Tharmaratnam, T., Iskandar, M. A., ... & Al-Qahtani, M. (2021). COVID-19: breaking down a global health crisis. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 20(1), 1-36.
17. Coomes, E. A., & Haghbayan, H. (2020). Favipiravir, an antiviral for COVID-19?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(7), 2013-2014.
18. Furuta, Y., Gowen, B. B., Takahashi, K., Shiraki, K., Smeets, D. F., & Barnard, D. L. (2013). Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral research*, 100(2), 446-454.
19. Tu, Y. F., Chien, C. S., Yarmishyn, A. A., Lin, Y. Y., Luo, Y. H., Lin, Y. T., ... & Chiou, S. H. (2020). A review of SARS-CoV-2 and the ongoing clinical trials. *International journal of molecular sciences*, 21(7), 2657.
20. Doi, Y., Hibino, M., Hase, R., Yamamoto, M., Kasamatsu, Y., Hirose, M., ... & Kondo, M. (2020). A prospective, randomized, open-label trial of early versus late favipiravir therapy in hospitalized patients with COVID-19. *Antimicrobial agents and chemother.*
21. Cai, Q., Yang, M., Liu, D., Chen, J., Shu, D., Xia, J., ... & Liu, L. (2020). Experimental treatment with favipiravir for COVID-19: an open-label control study. *Engineering*, 6(10), 1192-1198.
22. Chinello, P., Petrosillo, N., Pittalis, S., Biava, G., Ippolito, G., Nicastri, E., & INMI Ebola Team. (2017). QTc interval prolongation during favipiravir therapy in an Ebolavirus-infected patient.
23. Kumagai, Y., Murakawa, Y., Hasunuma, T., Aso, M., Yuji, W., Sakurai, T., ... & Kaneko, A. (2015). Lack of effect of favipiravir, a novel antiviral agent, on QT interval in healthy Japanese adults. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therape.*
24. Çap, M., Bilge, Ö., Işık, F., Burak, C., Karagöz, A., İnci, Ü., ... & Baysal, E. (2020). The effect of favipiravir on QTc interval in patients hospitalized with coronavirus disease 2019. *Journal of Electrocardiology*, 63, 115-119.
25. Hung, D. T., Ghula, S., Aziz, J. M. A., Makram, A. M., Tawfik, G. M., Abozaid, A. A. F., ... & Huy, N. T. (2022). The efficacy and adverse effects of favipiravir on COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis of published clinical trials and .
26. Venkatesan, P. S., Deecaraman, M., Vijayalakshmi, M., & Sakthivelan, S. M. (2014). Sub-acute toxicity studies of acetaminophen in Sprague Dawley rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, b14-00066.

27. Kuznietsova, H., Lynchak, O., Dziubenko, N., Herheliuk, T., Prylutsky, Y., Rybalchenko, V., & Ritter, U. (2019). Water-soluble pristine C60 fullerene attenuates acetaminophen-induced liver injury. *BioImpacts: BI*, 9(4), 227.
28. Hamid, A., Lee, L. S., Karim, S. R., & Jufri, N. F. (2018). Hepatoprotective effects of zerumbone against paracetamol-induced acute hepatotoxicity in rats. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS*, 25(2), 64.
29. Abraham, P. (2004). Increased plasma biotinidase activity in rats with paracetamol-induced acute liver injury. *Clinica chimica acta*, 349(1-2), 61-65.
30. Turan, C. A., Ozturk, T. C., Akoglu, E. U., Ak, R., Aygun, K., Sahiner, A., ... & Onur, O. E. (2018). The role of intralipid emulsion in the rat model of digoxin intoxication. *Cardiovascular Toxicology*, 18(4), 329-336.
31. Turan, İ., ERGENÇ, M., ERDEM, S., ÖZAÇMAK, V. H., & ÖZAÇMAK, H. S. Sıçanlarda İntestinal İskemi Reperfüzyon ile Oluşan Akut Akciğer Hasarında Metforminin Koruyucu Etkileri. *Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi*, 2(3), 119-124.
32. Molh, A. K. S., Ting, L. C., Khan, J., Al-Jashamy, K., Jaafar, H., & Islam, M. N. (2008). Histopathological studies of cardiac lesions after an acute high dose administration of methamphetamine. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS*, 15(1), 23.
33. Yousef, M. I., Omar, S. A., El-Guendi, M. I., & Abdelmegid, L. A. (2010). Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat.
34. Kara, A., Yakut, S., Caglayan, C., Atçalı, T., Ulucan, A., & Kandemir, F. M. (2022). Evaluation of the toxicological effects of favipiravir (T-705) on liver and kidney in rats: biochemical and histopathological approach. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-11.
35. Sümer, E., Senturk, G. E., Demirel, Ö. U., & Yesilada, E. (2020). Comparative biochemical and histopathological evaluations proved that receptacle is the most effective part of *Cynara scolymus* against liver and kidney damages. *Journal of ethnopharmacology*.
36. Yanagida, S., Satsuka, A., Hayashi, S., Ono, A., & Kanda, Y. (2021). Comprehensive cardiotoxicity assessment of COVID-19 treatments using human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Toxicological Sciences*, 183(1), 227-239.
37. Bayram, M., Yildirim, O., Ozmen, R. S., Soyulu, B., Dundar, A. S., Koksall, A. R., ... & Tabak, O. (2021). Elevation of serum transaminase levels due to favipiravir use in the treatment of COVID-19. *Cureus*, 13(9).
38. Pilkington, V., Pepperrell, T., & Hill, A. (2020). A review of the safety of favipiravir—a potential treatment in the COVID-19 pandemic?. *Journal of virus eradication*, 6(2), 45-51.
39. Kumar, P., Kulkarni, A., Sharma, M., Rao, P. N., & Reddy, D. N. (2021). Favipiravir-induced liver injury in patients with coronavirus disease 2019. *Journal of clinical and translational hepatology*, 9(2), 276.
40. Xu, Q., Higgins, T., & Cembrowski, G. S. (2015). Limiting the testing of AST: a diagnostically nonspecific enzyme. *American journal of clinical pathology*, 144(3), 423-426.

41. *Kawasuji, H., Tsuji, Y., Ogami, C., Takegoshi, Y., Kaneda, M., Murai, Y., ... & Yamamoto, Y. (2021). Association between high serum favipiravir concentrations and drug-induced liver injury. medRxiv.*

42. *Furuta, Y., Komeno, T., & Nakamura, T. (2017). Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. Proceedings of the Japan Academy, Series B, 93(7), 449-463.*

