

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

RATLARDA DENEYSEL PARASETAMOL TOKSİKASYONUNDA
FOLİK ASİT'İN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

EMRAH AKGÜN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VFT-15084 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Emrah AKGÜN tarafından hazırlanan “**Ratlarda Deneysel Parasetamol Toksikasyonunda Folik Asit’in Koruyucu Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/06/2019

Üye	: Prof. Dr. Ferda AKAR	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye	: Doç. Dr. Fatma KOCASARI	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi	
Üye (T.D)	: Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU'na çok teşekkür ederim. Ayrıca bana her konuda destek olan Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Cavit KUM'a, Prof. Dr. Ferda AKAR'a, Doç. Dr. Selim SEKKİN'e tez çalışmamın deneysel aşamasında hep yanımda olan ve desteğini esirgemeyen Arş. Gör.Dr. Hande Sultan ŞAHİNER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için eşime ayrıca teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Non-Steroid Anti inflamatuvar İlaçlar	3
2.1.1. NSAI İlaçların Etki Şekilleri.....	3
2.1.2. NSAI’ların İstenmeyen Etkileri	3
2.2. Parasetamol.....	4
2.2.1. Parasetamolün Tarihçesi.....	4
2.2.2. Parasetamolün Yapısı ve Özellikleri	4
2.2.3. Parasetamolün Etki Şekli.....	5
2.2.4. Parasetamolün Metabolizması	7
2.2.5. Parasetamolün Terapötik Kullanımı.....	11
2.2.6. Parasetamolün Yan Etkileri	11
2.3. Parasetamol Toksisitesi	12
2.3.1. Klinik Bulgular	13
2.3.2. Karaciğer Toksisitesi.....	14
2.3.3. Böbrek Toksisitesi.....	15
2.3.4. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi	17
2.4. N-Asetil Sistein (NAC)	19
2.5. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres.....	22
2.5.1. Serbest Radikallerin Hücre Membran Lipitlerine Etkileri	25
2.5.2. Serbest Radikallerin Hücre Proteinlerine Etkileri.....	26
2.5.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri	26

2.6. Antioksidanlar.....	26
2.6.1. Antioksidan Savunma Sistemleri	28
2.7. Folik Asit	29
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	32
3.1. Gereç	32
3.1.1. Cihazlar.....	32
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
3.1.3. Hayvan Materyali	33
3.2. Yöntem	35
3.2.1. Kanda Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Analizi.....	35
3.2.1.1. Total Protein analizi	35
3.2.1.2. Hemoglobin (Hb) analizi	35
3.2.1.3. Glutasyon (GSH) analizi	36
3.2.1.4. Katalaz (CAT) analizi.....	36
3.2.1.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) analizi	37
3.2.1.6. Malondialdehit (MDA) analizi.....	37
3.2.2. AST, ALT ,ALP, GGT, Üre, Kreatinin analizi.....	37
3.2.3. Karaciğer ve Böbrek Dokusu Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin analizi.....	38
3.2.3.1 Dokuların homejenizasyonu	38
3.2.3.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) analizi	38
3.2.3.3. Katalaz (CAT) analizi.....	39
3.2.3.4. Glutasyon (GSH) analizi	40
3.2.3.5. Malondialdehit (MDA) analizi.....	40
3.2.3.6. Myeloperoksidaz (MPO) analizi	41
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Canlı Ağırlık	42
4.2. Karaciğer ve Böbrek Dokusu ağırlıkları.....	42
4.3. Serum Biyokimyasal Analizlerine ait bulgular.....	43
4.4. Oksidan ve Antioksidan Parametre Analizlerine ait bulgular	44
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR.....	54
EK (ADÜ-HADYЕК Kararı)	71



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
¹O₂	: Singlet oksijen
2-AG	: 2-araşidonil gliserol
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALP	: <i>Alkalın fosfataz</i>
ALT	: <i>Alanin amino transferaz</i>
AST	: <i>Aspartat amino transferaz</i>
AM404	: N-arakidonoilaminofenol
AST	: Aspartat Amino Transferaz
ATP	: Adenozin trifosfat
CAT	: Katalaz
CYP 450	: Sitokrom P450
dk	: Dakika
dl	: Desilitre
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FA	: Folik asit
g	: Gram
GGT	: <i>Gama glutamil transferaz</i>
GPx	: <i>Glutasyon peroksidaz</i>
GRx	: <i>Glutasyon redüktaz</i>
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Oksitlenmiş glutasyon
GST	: <i>Glutasyon-S-transferaz</i>
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipokloröz asit
JNK	: <i>C-jun-N-terminal kinaz</i>
kg	: Kilogram
L	: Litre
LPO	: Lipit peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit

mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
Mol	: $6,02 \times 10^{23}$ Tanecik
NAC	: N-asetilsistein
NAD	: Nikotinamid adenin dinökleotit
NADPH	: Nikotinamid adenin nükleotid fosfat
NAPQI	: N-asetil-para-benzokinonimin
NAPSQI	: N-asetil-para-benzosemikinonin
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit
NSAII	: Non Steroid Anti İnflamatuvar İlaç
O₂^{•-}	: Süperoksit radikali
OH[•]	: Hidroksil radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
PG	: Prostaglandin
PGE2	: Prostaglandin E2
PGES	: <i>Prostaglandin endoperoksit sentetaz</i>
PGG2	: Prostaglandin G2
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki tur sayısı
sn	: Saniye
SOD	: <i>Süperoksit dismutaz</i>
U	: İnternasyonal ünite

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Parasetamolün moleküler yapısı	5
Şekil 2. COX-1 ve COX-2 enzimlerinin etkileri	6
Şekil 3. Parasetamol konjüгатları	9
Şekil 4. Parasetamolün karaciğerdeki metabolizması	10
Şekil 5. Parasetamolün böbreklerdeki metabolizması	10
Şekil 6. Plazma parasetamol düzeyinin zamana bağlı değişimi ile karaciğer hasarı ilişkisi ...	15
Şekil 7. Parasetamol zehirlenmesinde tedavi protokolü	21
Şekil 8. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu	24
Şekil 9. Serbest radikallerin hücresel hedefleri	25
Şekil 10. Antioksidanların hücredeki etkileri.....	28

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Araştırma kapsamında kullanılan <i>Sprague dawley</i> ratlar ve deneysel gruplar	33
Resim 2. Ratlara gavajla ilaç uygulanmasına ait görüntü.....	34



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Farklı hayvan türlerinde deneysel parasetamol toksikasyonunu önleyici farmakolojik ajanlar	19
Tablo 2. Deneysel gruplara ait çalışma öncesi ve sonrası ortalama canlı ağırlıklar	42
Tablo 3. Deneysel gruplara ait iç organ ağırlıkları	43
Tablo 4 Deneysel gruplara ait serum biyokimyasal parametrelerin düzeyleri	46
Tablo 5. Deneysel gruplara ait serum SOD ve plazma CAT aktiviteleri ile plazma GSH ve serum MDA seviyeleri	46
Tablo 6. Deneysel gruplara ait karaciğer oksidan ve antioksidan parametrelerin düzeyleri...	47
Tablo 7. Deneysel gruplara ait böbrek oksidan ve antioksidan parametrelerin düzeyleri	47



ÖZET

RATLARDA DENEYSEL PARASETAMOL TOKSİKASYONUNDA FOLİK ASİT'İN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

AKGÜN E. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner) Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.

Parasetamol (asetaminofen) veya N-asetil-p-aminofenol (APAP), sentetik non-opioid olan para-aminofenol türevi ve fenasetinin aktif bir metabolitidir. Yaygın olarak kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Akut karaciğer hasarının sebepleri arasında ilk sıralarda yer alan parasetamolün serbest oksijen ve nitrojen radikalleri üretimine neden olmakta, karaciğer ve böbrekte oksidatif hasara yol açmaktadır. B grubu bir vitamin olan folik asit başlıca nöral tüp defektlerinde, homosistein kaynaklı ateroskleroz, tromboembolizm ve vasküler endotel hasarlar ile kanser ve nörolojik hastalıklarda kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, folik asitin serbest radikallere ve reaktif oksijen türlerine karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada parasetamol ile deneysel olarak toksikasyon oluşturulmuş sıçanlarda, oksidatif hasarın önlenmesinde folik asitin etkinliği araştırıldı. Çalışma kapsamında 40 adet dişi *Sprague dawley* rat kullanıldı ve ratlar kontrol, parasetamol, folik asit, parasetamol+folik asit ve parasetamol+N-asetilsistein olacak şekilde 5 gruba ayrıldı (n=8). Parasetamol, folik asit ve N-asetilsistein hayvanlara sırasıyla 3 g/kg/gün, 20 mg/kg/gün ve 150 mg/kg/gün dozda oral yolla verildi. İlaç uygulamasından 24 saat sonra ratlar ötenazi edildi. Kan örnekleri ile karaciğer ve böbrek dokularında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve myeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri ile glutatyon (GSH) ve malondialdehid (MDA) seviyeleri analiz edildi. Ayrıca bazı karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri değerlendirildi. Parasetamol grubuyla karşılaştırıldığında parasetamol+folik asit grubunda serum SOD aktivitesinin yüksek (P=0.001) ve MDA seviyesinin düşük (P=0.001) olduğu belirlendi. Doku örneklerinde parasetamol grubuyla karşılaştırıldığında parasetamol+folik asit grubunda SOD ve CAT aktiviteleri ile GSH seviyesinin (böbrek dokusu hariç) istatistiksel olarak yüksek, MDA seviyesi ve MPO aktivitesinin (karaciğer dokusu hariç) ise istatistiksel olarak düşük olduğu görüldü. Ayrıca parasetamol+folik asit grubunda *alanin aminotransferaz*, kreatinin, üre ve *gama glutamil transferaz* değerlerinin parasetamol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. Bu çalışma sonucunda; parasetamol toksikasyonuna bağlı olarak oluşan oksidatif hasara karşı, folik asitin koruyucu olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Folik asit, oksidan/antioksidan parametreler, oksidatif hasar, parasetamol, rat.



ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF FOLIC ACID ON EXPERIMENTAL PARACETAMOL TOXICATION IN RATS

**AKGUN E. Aydın Adnan Menderes University Health Sciences Institute of
Pharmacology and Toxicology (Veterinary) M.Sc., Program, Aydın, 2019.**

Paracetamol (acetaminophen) or N-acetyl-p-aminophenol (APAP) is an active metabolite of para-aminophenol derivative and phenacetyl, a synthetic non-opioid. It is a widely used analgesic and antipyretic drug. Among the causes of acute liver injury, paracetamol, which is at the top of the list, causes the production of free oxygen and nitrogen radicals and causes oxidative damage in liver and kidney. Folic acid, a vitamin B group, is primarily used in neural tube defects, homocysteine induced atherosclerosis, thromboembolism and vascular endothelial damage in cancer and neurological diseases. Studies have shown, that folic acid is effective against free radicals and reactive oxygen species. In this study, the efficacy of folic acid in the prevention of oxidative damage in rats which were experimentally toxicated with paracetamol was investigated. 40 female *Sprague dawley* rats were used and rats were divided into 5 groups as paracetamol, folic acid, paracetamol+folic acid and paracetamol N-acetylcysteine (n=8). Paracetamol, folic acid and N-acetylcysteine were administered orally at a dose of 3 g/ kg/day, 20 mg/kg/day and 150 mg/kg/day, respectively. 24 hours after drug administration, rats were euthanized. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and myeloperoxidase (MPO) activities and glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels were analyzed in blood and liver tissues. Some liver and kidney function tests were also evaluated. In the paracetamol+folic acid group, serum SOD activity was higher ($P=0.001$) and MDA level was lower ($P=0.001$). In tissue samples compared to paracetamol group, SOD and CAT activities and GSH levels (except kidney tissue) were statistically higher, MDA level and MPO activity (except liver tissue) were statistically lower in paracetamol+folic acid group. In addition, in the paracetamol+folic acid group, alanine aminotransferase, creatinine, urea and gamma glutamyl transferase values were significantly decreased compared to the paracetamol group. As a result of this study; Folic acid is protective against oxidative damage due to paracetamol toxicity.

Key words: Folic acid, oxidant/antioxidant parameters, oxidative damage, paracetamol, rat.

1. GİRİŞ

Parasetamol (Asetaminofen) veya N-asetil-p-aminofenol (APAP) analjezik ve antipiretik olarak sıklıkla kullanılan bir ilaçtır. Ucuz ve kolay ulaşılması sebebiyle yaygın kullanılmaktadır. Beşeri hekimlikte, klinik dozlarda, kullanımı güvenli olsa da literatürler, aşırı doz alınması parasetamol alınması sonucu oluşan toksisitenin başlıca karaciğer ve böbrek hasarına sebep olabileceğini hatta ölüme varan tabloların gelişebileceğini göstermiştir (Ozkaya ve ark, 2010; Waring ve ark, 2010; Guggenheimer ve Moore, 2011). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de tüm akut karaciğer yetmezliğinin % 46'sını, Büyük Britanya ve Avrupa'daki tüm vakaların % 40 ila 70'ini oluşturur (Bernal ve ark, 2010). ABD'de, yılda yaklaşık 500 ölümden sorumlu olan doza bağlı hepatosellüler nekrozun yanı sıra ABD Zehir Kontrol Merkezine 100.000 çağrı yapıldığı, 50.000 acil servis müracatı ve bunun sonucunda da 10.000 hastaya yatış verildiği bildirilmektedir (Lee, 2017).

Ülkemizde, 2010-2015 yılları arasında hastanelerin acil servisine gelen hastalardan zehirlenme tanısı incelendiğinde, 839 müracaatın % 55,4'ünün tıbbi ilaçlardan ve bu oranın da % 46,8'inin çoklu ilaç alımından kaynaklandığı ortaya konmuştur (Sungur ve ark, 2018).

Hawton ve ark (1995) 80 vakada yapmış oldukları çalışmalarda, intihar teşebbüsünde bulunan kişiler sıklıkla parasetamolün kullanılma sebepleri içerisinde % 50'si parasetamole erişimin kolay olduğunu, % 33'lük kısmı ise riskli ve maliyetini düşük bulduklarını belirtmişlerdir.

Terapötik dozlarda, parasetamolün büyük bir kısmı sülfasyon ve glukuronidasyon yollarıyla metabolize edilirken, % 5-9'luk bölümü, *sitokrom p450* (CYP 450) enzimleri tarafından reaktifliği oldukça fazla bir metabolit olan N-asetil-para-benzokinonimine (NAPQI) dönüştürülür (Moyer ve ark, 2011). NAPQI, parasetamol kaynaklı hepatotoksiteden sorumludur (Jaeschke ve Bajt, 2006). NAPQI indirgenmiş GSH ile toksik olmayan aktif bir forma dönüştürülür. Bununla birlikte, glukuronidasyon ve sülfasyon yolları, parasetamol doz aşımında doymuş olduğundan, CYP 450 enzim sistemi ile büyük oranda NAPQI'ya metabolize olur (Mitchell ve ark, 1973). Bu durum, hücre içi GSH depolarının tükenmesine yol açarak NAPQI miktarını artırır ve sonuçta doku hasarı ile mitokondriyal protein alkilasyonu sonucu adenosin trifosfat (ATP) sentezlemesi için azalan kapasiteye ek olarak, endonükleaz G ve apoptoz indükleyici faktör serbest bırakılır ve toksikasyon oluşur (Kon ve ark, 2004; Jaeschke ve Bajt, 2006; Terneus ve ark, 2007).

Parasetamol kaynaklı hepatotoksisitede, serum *aspartat amino transaminaz* (AST) ve *alanin amino transaminaz* (ALT) aktiviteleri 1000 U/L'yi aşar (Kalsi ve ark, 2011).

Parasetamol toksikasyonunda başlıca antidot olarak N-asetilsistein (NAC) kullanılmaktadır. Mevcut araştırmalar NAC'nin karaciğer toksisitesini engellediği belirtilmiştir ve etkinliği kanıtlanmıştır (Prescott ve ark, 1977; Rumack ve ark, 1981; Samuni ve ark, 2013).

Deneyssel parasetamol toksisitesinde NAC başta olmak üzere, çeşitli antioksidanlar kullanılmış olup, folik asit (FA)'in kullanıldığı çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı deneyssel parasetamol toksikasyonunda FA'in kan, karaciğer ve böbrek dokularında oksidan/antioksidan denge üzerine etkileri ile koruyucu etkinliği kanıtlanmış NAC ile FA'in etkilerini karşılaştırmalı olarak araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Non-Steroid Anti İnflamatuvar (NSAI) İlaçlar

Günlük yaşamımızda sıklıkla kullanılmakta olan NSAI ilaçlar genellikle etki şekillerine ve moleküler yapılarına göre sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma opioid (narkotik) yapıdakiler (afyon, morfin vb), analjezik adjuvanlar ve non opioid (narkotik olmayan) olarak yapılmıştır. Non opioid analjezikler (NOAK) steroid yapıda olup olmamalarına göre iki grupta incelenmektedir. Steroid yapıda olmayanlar en sık kullanılan ağrı kesici ilaç grubu olup, bu grup ilaçlar ağrı kesici etkilerine ilaveten yangı giderme ve ateş düşürücü özellikleri de vardır. Ayrıca santral sinir sistemini baskılamama ve bağımlılık yapmama gibi avantajları vardır. En bilindik üyesi aspirinin yanında parasetamol, fenilbutaon, ketoprofen, naproksen, pinoksilam vb diğer üyeleridir (Süzer, 2008; Kaya, 2009).

2.1.1. NSAI İlaçların Genel Etki Şekilleri

Yangı durumlarında prostoglandin (PG), histamin ve serotonin gibi yerel hormonlar açığa çıkmaktadır ve ağrı oluşumuna sebep olmaktadır. Bu gruptaki ilaçlar analjezik, antipiretik ve anti inflamatuvar etkilerini PG sentetazın (siklooksijenaz, COX) etkinliğini engelleyip PG'lerin sentezini azaltarak göstermektedirler (Vane, 1971).

NSAI ilaçlar hipotalamusta bulunan ısı kontrol merkezinde araşidonik asitten PG sentezinin engellenmesi sonucu ateş düşürücü etkilerini gösterirler (Süzer, 2008; Kaya, 2009).

Yangılı bölgede yerel hormon sentezinin azaltılması yangı reaksiyonlarının da azalmasına sebep olmaktadır ve hücre lizozomal zarlarına hasar vermektedir. NSAI ilaçlar lizozomal zarların daha dayanıklı olmasını sağlayarak yangı giderici etki yaparlar (Kurumbail, 2001; Süzer, 2008).

2.1.2. NSAI'ların İstenmeyen Etkileri

Terapötik dozlarda veya aşırı dozda ve uzun süreli kullanımlarında bu grup ilaçlar bazı yan etkiler oluşturabilmektedir. Mide-bağırsak irkiltisi ve ülsera varabilecek ölçüde hasar, bulantı ve kusma etkileri mide mukozası üzerine koruyucu etkileri olan PG'lerin (PGE₂, PGI₂

gibi) sentezinin önlenmesi sonucudur. Görülen bir başka yan etki ise *tromboksan sentetazın* etkinliğinin engellenmesi sonucu trombositlerin bir araya gelmesini ve kümeleşmesini engellerler. PG sentezinin azalması uterus hareketlerini yavaşlatabilir. Akut böbrek yetmezliği yapabilecek ölçüde şiddetli olabilmesinin nedeni, PG'lere bağımlı renal fonksiyonların bozulmasından kaynaklanmaktadır ve bu durum adrenerjik ve renin-anjiyotensin sistemleri bozulmuş olan hastalarda daha çok dikkat çekmektedir. NSAI ilaçlar sık olarak deri reaksiyonlarına (dökülme, ürtiker, ışığa duyarlılık) sebep olurlar (Kaya, 2008).

2.2. Parasetamol

2.2.1. Parasetamolün Tarihçesi

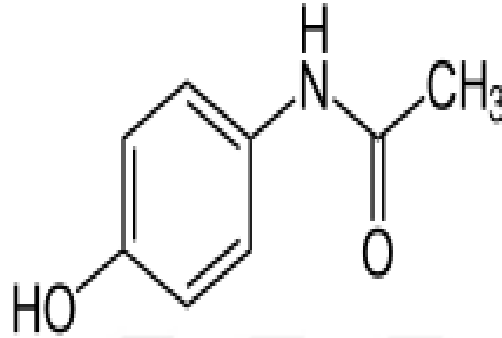
Parasetamol (N-asetil-p-aminofenol, APAP) Morse tarafından 1878'de p-nitrofenolün asetik asitle redüksiyonu sonucu sentez edilmiş ve 1887'de Von Mering tarafından fenasetin ile birlikte klinik kullanıma sunulmuştur (Alfio ve ark, 2006). Fenasetin analjezik karışımlarda nefropati ile ilişkilendirilinceye kadar sık kullanılmıştır. Klinik olarak ilk kez 1893'te Von Mering, nefrotoksisiteye neden olmasından dolayı parasetamolün içinde fenasetin bulunmaması gerektiğini belirten bir makale yayınlamıştır. Böylece fenasetin kimyasal olarak parasetamolden ayrılmıştır. Popülaritesi 1949 yılında asetanilitin ve fenasetinin temel aktif metaboliti olduğunun anlaşılması üzerine artmıştır (Bosch ve ark, 2006).

Parasetamol 1955'li yıllarda 'Tylenol' adıyla ABD'de, 'Panadol' adıyla İngiltere'de ve çocuklar için hazırlanan formu 'Panadol elixir' ise 1958'de kullanıma girmiştir. Analjezik ve antipiretik amaçlı kullanılması hızla artmıştır ve günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (Brodie ve Axelrod, 1948; Kittisupamangkol, 2009).

2.2.2. Parasetamolün Yapısı ve Özellikleri

Kömür katranı analjeziği olarak isimlendirilen, aktif metaboliti fenasetin olan parasetamolün analjezik ve antipiretik etkisi güçlüdür. P-aminofenol türevi sentetik non-opioid parasetamolün kimyasal adı N-(4-hidroksifenil) asetamiddir. Kimyasal yapısının bu şekilde olmasından dolayı asetaminofen olarak adlandırılmaktadır Parasetamol aspirine eşit derecede ağrı kesici ve ateş düşürücü etki gösterir fakat bu ilaçtan farklı olarak yangı giderici etkinliği oldukça düşüktür (Graham ve ark, 2005; Yıldırım, 2007)

Parasetamolün moleküler formülü $C_8H_9NO_2$ (Şekil 1), moleküler ağırlığı 151.17 g/mol, erime noktası 169 °C, yoğunluğu 1.263 g/cm³, sudaki çözünürlüğü 1.4 g/100 ml (20 °C)'dir (Madenoğlu ve Bozoğlu, 2009; Akçam ve Çalışkan, 2014).



Şekil 1. Parasetamolün moleküler yapısı (Madenoğlu ve Bozoğlu, 2009)

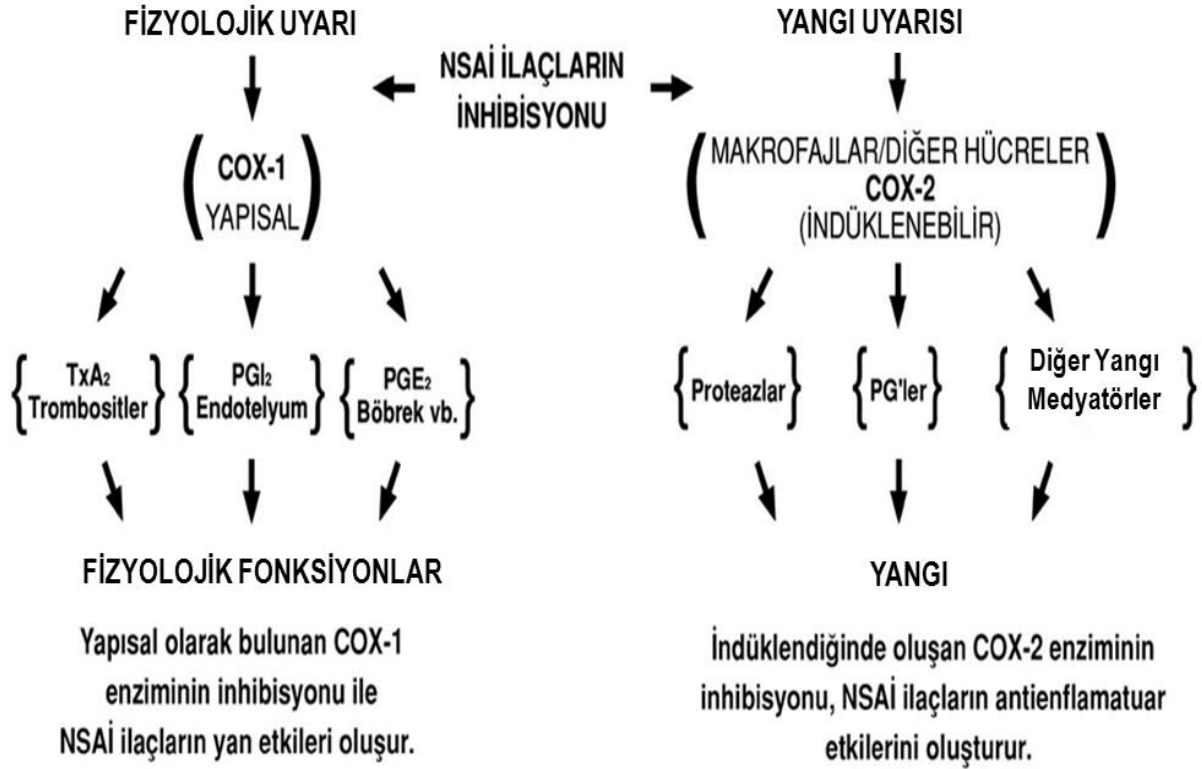
2.2.3. Parasetamolün Etki Şekli

Parasetamolün ilk olarak santral sinir sistemi üzerinde santral COX inhibisyonu yoluyla ve muhtemelen serotonerjik sistem ile indirekt etkileşim yoluyla etki ettiği düşünülse de mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Yıldırım, 2007).

COX inhibisyonu yapan ajanlarla farmakolojik yönden benzer özellikler gösteren parasetamolün antiinflamatuvar özelliğinin zayıf olması periferik inflamasyonlara karşı reaksiyon vermediğini ve tipik COX inhibisyonundan farklı bir etki mekanizmasının olduğunu göstermektedir (Boutaud ve ark, 2002; Swierkosz ve ark, 2002; İlkaya ve ark, 2013).

COX ya da *prostaglandin endoperoksit sentetaz* (PGES), biyosentetik prostaglandin yolunun çalışmasını düzenleyen ve sınırlayan ilk enzimdir. COX-1, birçok dokuda bulunur ve fizyolojik hücre iletişimde görev alır. COX-1 enziminin inhibisyonuna bağlı olarak, NSAII'ların yan etkileri ortaya çıkmaktadır. COX-2, yangının şekillendiği bölgede başlatılır ve yangısal cevapta görevli prostanoidlerin oluşumuna sebep olur (Şekil 2). NSAII'arın analjezik ve antiinflamatuvar etkinliği daha çok COX-2 enziminin inhibe edilmesine bağlıdır (Pairet, 1996; Taylor ve Reide, 2001). Literatürler santral sinir sisteminde COX-3 olarak isimlendirilen enzim varyantı olduğunu göstermiştir. COX-3 enzimi, insan ve rodentlerde COX aktivitesi göstermediğinden PG, ağrı ve ateşte görev almamaktadır. Bu enzim

köpeklerde ise COX aktivitesi göstermekte ve bu etkinin parasetamol aracılığıyla engellendiği bildirilmektedir (Kis ve ark, 2005). COX-1 ve COX-2'den farklı olarak COX-3 enzimini de engellediği düşünülen parasetamolün bu mekanizması üzerinde birçok araştırmacı aynı fikirdedir (Swierkosz ve ark, 2002; Warner ve Mitchell, 2004). Parasetamolün COX enzimini inhibe ettiği kesindir. Fakat bu etki mekanizmasının nasıl olduğu ortaya konamamış ve araştırmalar halen devam etmektedir (İlkaya ve ark, 2013).



Şekil 2. COX-1 ve COX-2 enzimlerinin etkileri (Pairet, 1996).

Ağrı yapıcı etkenler, dokudaki tahriş ya da zedelenme, immünolojik reaksiyonlar ve kanserli hücreler; lokal araşidonik asitten (eikosatetraenoik asitten) prostasiklin ve PG'lerin sentezini arttırmırlar. Antiinflamatuvar analjezikler COX enzimini inhibe ederler; böylece sadece COX ürünlerinin sentezini engellerken, *lipooksijenaz* ürünlerinin sentezini ise etkilemezler. Glukokortikoidler narkotik olmayan analjeziklere göre daha belirgin bir COX inhibisyonu yapmaktadırlar, çünkü *fosfolipaz A₂*'nin etkinliğini engellerler (Hernandez ve ark, 2001). Ayrıca yara, yanık iyileşmesi, radyasyon, inflamasyon gibi birçok durumda sitokinler bu bölgeye hasar düzenleyici olarak da göç etmektedirler. Sitokin sentezinin COX-2'ye bağlı

olduğu düşünülürken bu enzimin ne kadar önemli olduğu görülmüştür (Aniya ve ark, 1998).

Analjezik özelliğinin araştırılması sonucunda parasetamolün, endojen kannabinoid sistemini ayarlayarak bu özelliği gösterdiği bildirilmektedir. Endojen kannabinoidler, memeli dokusunda kannabinoid reseptörleri aktive eden endojen bağlardır. Endojen kannabinoidler ve 2-araşidonil gliserol (2-AG) ihtiyaca göre membran fosfolipidlerinden sentezlenirler ve diğer nörotransmitterlerden farklı olarak depolanmazlar. Endojen kannabinoidler lipit yapısındadır ve üretilir üretilmez hücrelerden salınarak, biyolojik cevap oluşturmak amacıyla kannabinoid 1 ve kannabinoid 2 reseptörlerinin aktivasyonunu sağlar ve sonrasında endokannabinoid membran taşıyıcısı ile yeniden hücreye alınarak inaktive edildikten sonra enzimatik yıkıma uğramaktadırlar. Esas olarak endojen kannabinoidler *yağ asidi amid hidrolaz* enzimi tarafından inaktive edilirken, 2-AG ise *monoasilgliserol lipaz* enzimi tarafından inaktive edilir (Piomelli, 2003). Parasetamol kannabinoidlerin ve endojen kannabinoid olan anandamidlerin (araşidonil etanolamin) nöronlar tarafından tutumunu inhibe eden N-Araşidonilaminofenol (AM404)'e metabolize edilir. AM404 geçici reseptör potansiyelinin güçlü bir etkinleştiricisi gibi davranır. Anandamidinin nöronlar tarafından tutulumu, vücudun ana ağrı reseptörünün aktive edilmesi ile oluşur. Bununla beraber AM404 lokal anestezikler gibi (lidokain, prokain vb) analjezik özelliğini de sodyum kanallarını inhibe ederek gösterdiği belirtilmektedir (Goldfrank ve ark, 2006; Muramatsu ve ark, 2016).

2.2.4. Parasetamolün Metabolizması

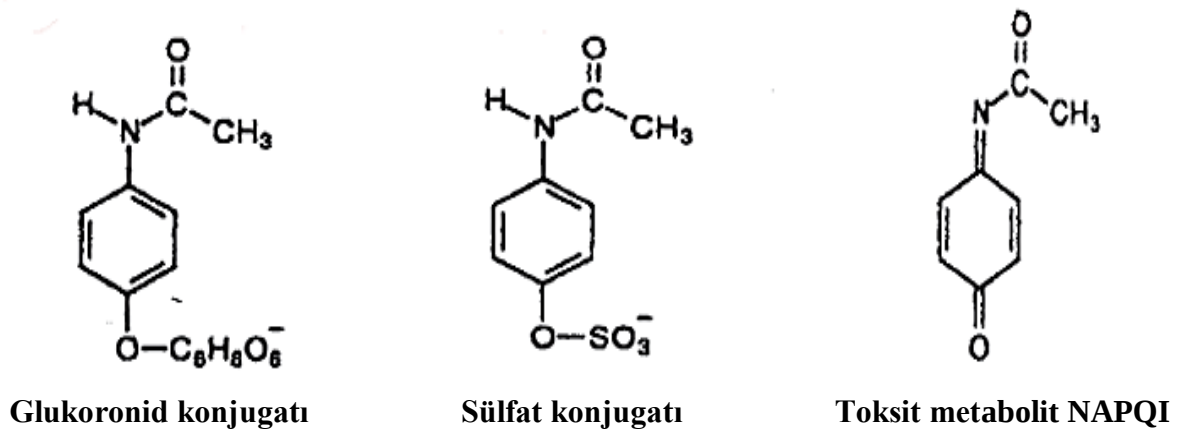
Parasetamol oral yoldan alınmasıyla birlikte gastrointestinal kanaldan hızla emilmektedir. Terapötik etkisi erken başlar; en geç 2 saatte kanda pik kontrasyona ulaşmaktadır (James ve ark, 2003). Terapötik yarı ömrü 1.5-2.5 saattir, toksik dozlarda 8 saate kadar çıkabilir hatta artabilir. Açlık ve tokluğa bağlı olarak parasetamolün absorpsiyonu değişkenlik gösterebilmekte ve absorpsiyon süresi 4. saate kadar uzayabilmektedir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı % 25, dağılım hacmi 0.9 L/kg olarak belirtilmektedir. Plazma yarı ömrünün uzamasında, karaciğer hasarına bağlı olarak ilacın metabolizmasındaki bozulmanın ve konjugasyonun doygunluğa erişmesinin rolü olduğu düşünülse de, alınan dozun büyük kısmının başlangıçta hızlı bir şekilde absorbe edilmesinin, kalan kısmının absorpsiyonunun ise yavaş ve uzamış olmasının asıl önemli etken olduğu belirtilmiştir (Çavuşoğlu, 2000; James ve ark, 2003; Hinson ve ark, 2010). Oral biyoyararlanımı % 60-89 arasındadır. Rektal

yolla alımında da, çok iyi bir şekilde ancak yavaş emildiği ve biyoyararlanımının % 30-40 olduğu belirtilmektedir (Alfio ve ark, 2006).

Parasetamolün % 90'ına yakın kısmı karaciğerde inaktif zararsız metabolitler olan glukoronid ve sülfat konjugatına dönüştürülür. Dönüştürülen glukoronid ve sülfat konjugatlarının bir bölümü safrayla bir bölümü de kan dolaşımına geçer ve idrarla elimine edilir. % 5'ten küçük bir bölümü de değişmeden idrara ulaşmaktadır. % 5-10 arasında değişen bölümü ise karaciğerde CYP450 enzimleri tarafından hücre makromoleküllerine bağlanabilen, reaktif ve toksik NAPQI metabolitine dönüştürülür. Bu metabolit GSH ile hızlıca birleştirildikten sonra oluşturulan kompleks ise, toksik olmayan sistein veya merkaptürik asit konjugatlarına dönüştürülerek idrarla elimine edilir (Bertolini ve ark, 2006).

Terapötik dozda parasetamol alımından sonra, % 47-62'lik kısmı glukoronid konjugatı (glukoronik asit), % 25-36'lık kısmı sülfat konjugatı (sülfürik asit), % 5-8'lik kısmı ise sistein ve merkaptürik asit konjugatı olarak karaciğer konjugasyonundan hemen sonra idrarla elimine edilir. Parasetamolün % 5'inden daha azı da idrarla değişmeden atılır (Bessem ve Vermeulen, 2001).

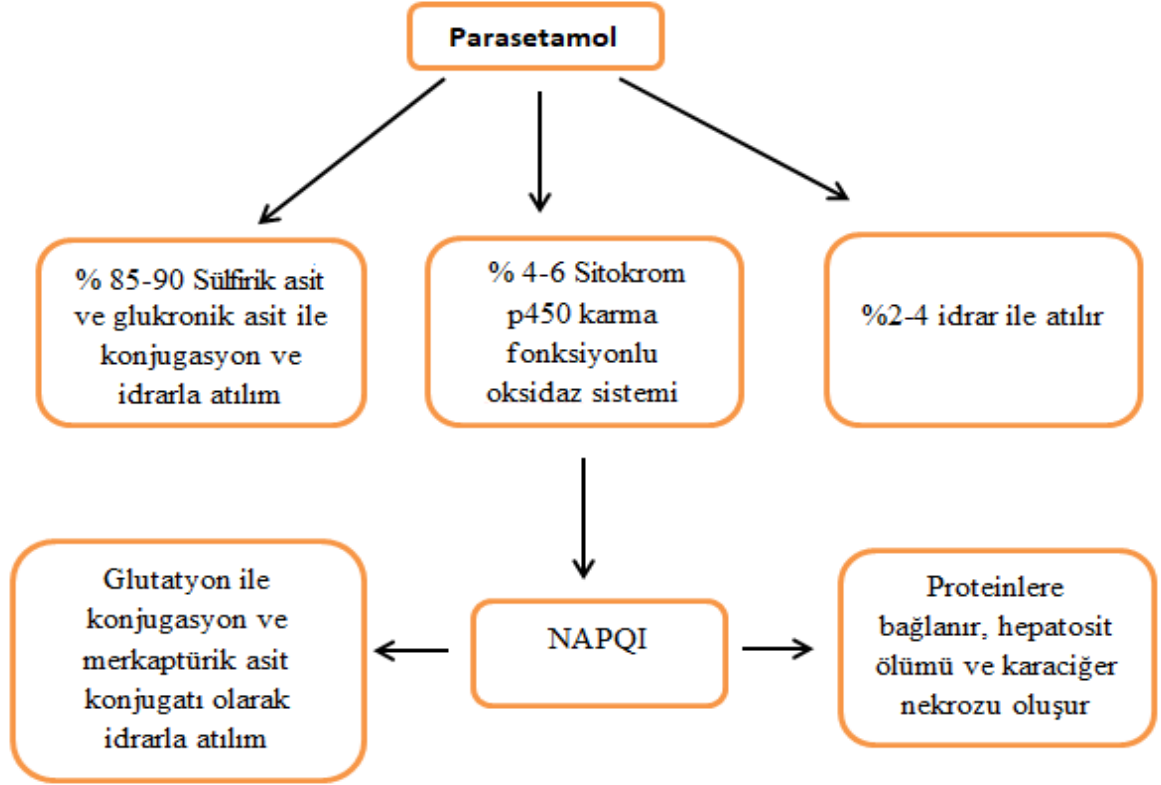
Parasetamolün biyotransformasyonu, çoğunluğu karaciğerde ve bir bölümü de böbrekte olmak üzere üç ana mekanizmayla gerçekleşmektedir. Bu mekanizmalar glukoronidasyon, sülfasyon ve CYP450'ye bağlı mikrozomal oksidasyondur. Bu mekanizmaya göre karaciğere gelen parasetamolün bir bölümü majör yol ile *üridin difosfoglukronil transferaz* enzimiyle parasetamolün glukoronid konjugatına, *sülfotransferaz* enzimi ile de sülfat konjugatına dönüştürülmektedir. Oluşan glukoronid ve sülfat konjugatlarının bir bölümü karaciğerden safraya bir bölümü ise kan dolaşımına geçer. Minör yol ile CYP450 enzim sistemi ile karaciğerde oluşturulan NAPQI toksik metabolitin bir bölümü protein arilasyonu oluşturmaktadır ve bir bölümü de glutatyon konjugatına dönüştürülerek safraya gönderilmektedir (Şekil 3). Oluşturulan glukoronid konjugatının bir bölümü de parasetamolün sisteinilglisin konjugatına ve daha sonra da parasetamolün sistein konjugatına dönüştürülerek sistemik dolaşıma katılmaktadır. Böbreklere ulaşan parasetamol ise COX kullanılarak NAPSQI (N-asetil-p-benzosemikinonin)'ya dönüştürülür. Oluşturulan NAPSQI radikali böbreklerde NAPQI'ya dönüştürülerek karaciğerde minör yolağa katılır (Abukhalaf ve ark, 2004).



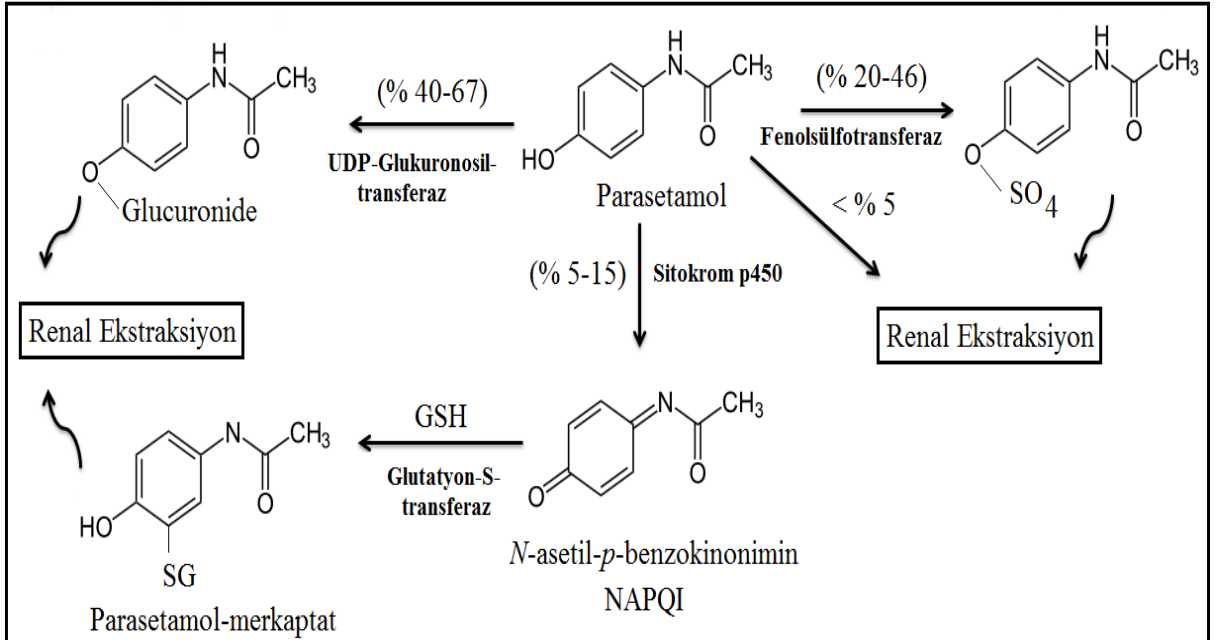
Şekil 3. Parasetamol Konjugatları (Madenöğlu ve Bozoğlu, 2009).

Yapılan araştırmalarda, erişkinlerde parasetamolün birincil metabolize yolu, glukuronid konjugasyonuyken, bebeklerde ve çocuklarda ise sülfat konjugasyonu olarak gösterilmektedir. Çocuklarda parasetamolün glukoronidasyon kapasitesi erişkinlerden daha düşüktür (Bessems ve Vermeulen, 2001).

İnsanlarda parasetamolün terapötik doz alımında CYP3A4 iken, intoksikasyon ve daha yüksek dozlarda parasetamol alımında ise CYP2E1 ve CYP1A2 enzimleri parasetamol metabolizmasında işlev gösteren en önemli CYP450 enzimleridir. Parasetamol küçük bir oranda CYP450 enzimleri (CYP2E1 ve CYP1A2 izozimleri) ile N-hidroksilasyona uğramaktadır ve toksit metaboliti olan NAPQI'yı oluşturmaktadır (Bessems ve Vermeulen, 2001; Dargan ve Jones, 2003). Bu metabolit proteinlere kovalent bağla bağlanarak zarar verir. Hepatik hasar oluşturan NAPQI, aracılığıyla inaktif metabolitlerine indirgenir ve toksik etki göstermeden safra yoluyla atılır (Corcoran ve ark, 1985; Bessems ve Vermeulen, 2001). Sistein ve merkaptürik asit ile konjüge olarak sonrasında idrarla elimine edilir (Ioannides ve ark, 1983). Parasetamolün karaciğerdeki metabolizasyonu Şekil 4'te ve böbrekteki metabolizasyonu Şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Parasetamolün karaciğerde metabolizması (Dargan ve Jones, 2003).



Şekil 5. Parasetamolün böbreklerdeki metabolizasyonu (Hung ve ark, 2000).

2.2.5. Parasetamolün Terapötik Kullanımı

Parasetamol terapötik dozlarda iyi tolere edilmektedir. Parasetamolün plazma konsantrasyonunda analjezik etki gücü 10 µg/ml seviyesindedir. Erişkinlerde, oral dozu 500-1000 mg'dır (rektal alımında 650 mg). Günlük alınabilecek maksimum doz 4 g/gün olup bu doz toplam 4 veya 6 defada uygulanabilir. Parasetamol çocuklarda 10-15 mg/kg dozunda her 4-6 saatte bir verilebilir. Çocuklar için, tek doz 40-480 mg'dır. Ağrı giderici amaçla, 5-10 günden fazla kullanılmaması önerilmektedir. Parasetamolün günde 2 g'dan az kronik kullanımı pratikte kronik karaciğer fonksiyon bozukluğuna yol açmaz (Kayaalp ve Süzer, 2009). Yaşa ve kiloya bağlı olmak üzere bir günde 5 dozdan fazla verilmemelidir (Katzung, 1995; Dökmenci, 2000; Kayaalp, 2000; Alfio ve ark; 2006; Ranganathan ve ark, 2006). Oral kullanımında rat ve tavşanlarda 2000 mg/kg, farelerde 400-900 mg/kg, kedilerde 50 mg/kg ve köpeklerde 500 mg/kg dozlarda ölüme yol açabileceği bildirilmektedir (Kaya ve ark, 2002).

2.2.6. Parasetamolün Yan Etkileri

Parasetamol kullanımına bağlı alerjik cilt reaksiyonları (kızarıklık, döküntü) ve ilaç ateşi görülebilmektedir (Insel, 1990). Ayrıca hematolojik bozukluklar, hipoglisemi ve renal yetmezlik de oluşturabilir (Graham ve ark, 2005). Parasetamolün yüksek doz alımında, ölümle sonuçlanabilen karaciğer nekrozu en ciddi yan etkisidir (Insel, 1990).

Tek veya tekrarlanan dozlarda kardiyovasküler ve solunum sistemi ile asit-baz dengesi ve mide mukozası üzerine istenmeyen bir etkisi yoktur (Goldfrank ve ark, 2006; Küçük, 2009).

Analjezik ve antipiretik özelliğinden beşeri hekimlikte sıklıkla yararlanılan parasetamol, her evde bulunması nedeniyle evcil hayvanlarda kaza ile zehirlemeye neden olma olasılığı yüksek bir ilaçtır (Hjelle, 1986). Jones ve ark (1992), çalışmalarında NSAI'lardan meydana gelen zehirlenme olayları arasında parasetamole bağlı olanların oranını % 49.7 olarak belirtmişlerdir ve köpeklerde ilacın kaza ile yenmesini takip eden zehirlenme olayları sık görülürken (% 75), kedilerde hatalı kullanımının (% 56) toksikasyona neden olduğunu bildirmişlerdir.

2.3. Parasetamol Toksisitesi

Parasetamolün akut aşırı dozda, istenmeyen en ciddi etkisi, doza bağlı olarak şekillenebilecek ölümcül karaciğer nekrozudur. Renal tübüler nekroz ve hipoglisemik koma da şekillenebilir. Hepatosellüler hasar ve ölüm yüksek doz parasetamolün toksik reaktif metaboliti olan NAPQI'dan kaynaklanmaktadır. Terapötik doz alımlarda NAPQI, GSH ile konjuge edilerek elimine edildikten sonra merkaptürik asite metabolize edilerek idrarla atılır. Bununla birlikte yüksek dozlarda, vücudun antioksidan savunmasında önemli bir rol oynayan hepatik GSH seviyesi % 70'lerin altına düşmesi sonucunda, reaktif ara ürün olan NAPQI, kovalent bağlara sahip hücre makromoleküllerine bağlanarak enzimatik sistemlerin fonksiyonu engellenmektedir. GSH'a bağlanarak uzaklaştırılamayan NAPQI, dokulardaki sitozol proteinlerine bağlanmak suretiyle hücrel nekroz oluşumuna sebep olur (Goldfrank ve ark, 2006).

Parasetamol kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarının iki farklı mekanizma ile oluştuğu ileri sürülmektedir:

1) Oksidatif stres teorisi: Yüksek doz parasetamol alımında oluşan NAPQI, hücrelerde reaktif oksijen ürünleri oluşumuna, bunlar da lipit peroksidasyonuna (LPO) neden olduğundan, GSH eksikliğine, dolayısıyla karaciğer parankim hücresinde protein sentezi ve hücre içi Ca^{+2} dengesi bozukluğunun ortaya çıkmasına neden olur (Atamer ve ark, 2000).

Hepatik hasarının mekanizması tam anlamıyla bilinmemekle birlikte en fazla oksidatif hasar üzerine yoğunlaşmaktadır. Parasetamolün yüksek doz alımında hepatotoksisite oluşturmadaki temel sebep, onun toksik ve reaktif metaboliti NAPQI'ya dönüştürülmesinden kaynaklanmaktadır. hepatik GSH'ın tükenmesi sonucu NAPQI, hücrel proteinlere (*glutamin sentetaz, glutamat dehidrogenaz, aldehit dehidrogenaz, N-10 tetrahidrofolat dehidrogenaz*) gibi proteinlere kovalent bağla bağlandığından toksik etki görülmektedir (Hinson ve ark, 2010). Hepatik GSH depoları belirli bir miktarın altına düştüğünde (% 80-90) NAPQI detoksifiye edilemediği için hücre hasarı oluşur. Hepatik GSH'ın bitmesi, hepatositlerin içinde reaktif oksijen (ROT) ve nitrojen türlerini (RNT) artırır, nekrotik değişimler görülmeye başlanır. Artan oksidatif stres, intraselüler Ca^{+2} homeostasisinin, sinyal iletiminin ve mitokondriyal geçirgenliğin bozulmasına sebep olur. Mitokondriyal membran potansiyeli kaybolması sonucunda adenozin trifosfat (ATP) üretimi durur ve hücre nekrozu şekillenir (Hinson ve ark, 2010).

GSH kolayca hidrojen iyonu verebilen bir bileşik olduğu için peroksidatif zararlardan dokuları korumakta ve içerdiği sülfür grubuyla da detoksifikasyona katılmaktadır. Amino

asitlerin hücre zarından taşınmasında ve grup translokasyonunda da görev almaktadır. *Glutasyon peroksidaz* (GPx) enzimi ile peroksidatif zararın ortadan kaldırılmasında rol oynamaktadır. Redüksiyonunda ise NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) kullanan GPx enzimi görev yapmaktadır (Bessem ve Vermeulen, 2001).

Parasetamolün neden olduğu hepatotoksisitede, oksidatif stresle aynı anda LPO oluşabilmektedir. CYP450 enzim sistemi ile metabolize edilen parasetamol, NAPQI ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)'in açığa çıkmasına neden olur ve ortamdaki $O_2^{\cdot-}$ artışıyla birlikte hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) de artarak LPO şekillenir (James ve ark, 2003).

Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot-}$), $O_2^{\cdot-}$ ile nitrik oksit (NO)'in etkileşmesi sonucunda açığa çıkar. Parasetamolün neden olduğu hepatotoksisitede $ONOO^{\cdot-}$, GSH ve GPx tarafından yeterli seviyede detoksifiye edilemediği için açığa çıkan $ONOO^{\cdot-}$ 'ler proteinleri nitratlar ve LPO başlar (Sumioka ve ark, 2004; Jongen ve ark, 2006). $ONOO^{\cdot-}$ 'in mitokondride aktive olması, aynı ortamda bulunan c-jun-N-terminal kinaz (JNK)'ın da aktivasyonuna sebep olarak oksidatif stres ve $ONOO^{\cdot-}$ miktarını hızla artırır. Mitokondriyal geçirgenliğin indüksiyonu sonucu mitokondriyal faktörler olan endonükleaz G, apoptoz indükleyici faktör ve sitokrom c salgılanır (Jaeschke ve ark, 2011).

2) Kovalent bağlanma teorisi: Parasetamol yüksek dozda alındığında, karaciğerin detoksifikasyon sistemleri doymuş hale geçeceğinden, bağlayıcı glutasyon bitecek, aşırı NAPQI ortaya çıkacak, bu da DNA ve proteinlerin tiyol gruplarına kovalent bağlanmak suretiyle, hepatositlerde hasar oluşturacaktır (Rajkapoor ve ark, 2008).

2.3.1. Klinik Bulgular

Faz 1 (ilk 24 saat), faz 2 (24-72 saat), faz 3 (72-96 saat) ve faz 4 (96 saat-14 güne kadar) aşamalarından oluşup, semptom farklılıkları göstermektedir. Doz aşımından 4 saat sonra serum parasetamol düzeyi 0,2 mg/ml üzerinde ise karaciğer toksisitesini gösterebilir ve karaciğer hasarının klinik semptomları toksik dozların 2. ila 4. gününde absorbe edilmesine bağlı olarak görülebilir. Plazmadaki karaciğer enzimleri AST, ALT, *laktat dehidrogenaz* (LDH) ve bilirubin konsantrasyonun da artışına bakılarak karaciğer toksisitesinin şiddeti gözlenebilir. Toksikasyon olmuş hastaların % 10'unda hepatik hasar şekillenir. Bu hastaların % 10-20'si de hepatik yetersizlikten ölür (Hung ve ark, 2000).

Faz 1'de klinik semptomlar ayırt edici değildir ve çocuklarda bu aşama sık görülmektedir. Bulantı, kusma, iştahsızlık ve halsizlik en belirgin semptomlardır. Karaciğer enzimlerinde hafif dereceli artışlar görülebilir (Hung ve ark, 2000). Akut parasetamol

toksikasyonunda köpeklerde klinik olarak saptanan mukozalarda siyanoz, depresyon, kusma, yüzde ödem ve hipotermidir (Hjelle, 1986; Schlesinger, 1995).

Faz 2 aşamasında, Faz 1'in bulgularına veya bu bulgulardaki iyileşmeye ek olarak karın sağ üst kadranda ağrı ve karaciğerde büyüme dikkat çekmektedir. Görülen semptomlar çok nadirdir veya hiç görülmemektedir. Karaciğer enzimleri AST, ALT ve serum bilirubin seviyelerinde artış ve protrombin süresinde uzama görülür (Hung ve ark, 2000).

Faz 3 hepatik disfonksiyonun en göze çarptığı evredir ve Faz 1'deki klinik semptomlar bu aşamada da görülebilir. AST, ALT artışı belirgindir ve serum bilirubin konsantrasyonu da artmıştır. Karaciğer ve böbrek yetmezliği bu aşamada görülebilmektedir (Hung ve Nelson, 2000). Renal disfonksiyonuna bağlı olarak proteinüri ve hematüri görülmektedir (Hung ve ark, 2000; Bozoğlu ve Madenoğlu, 2009; Küçük, 2009).

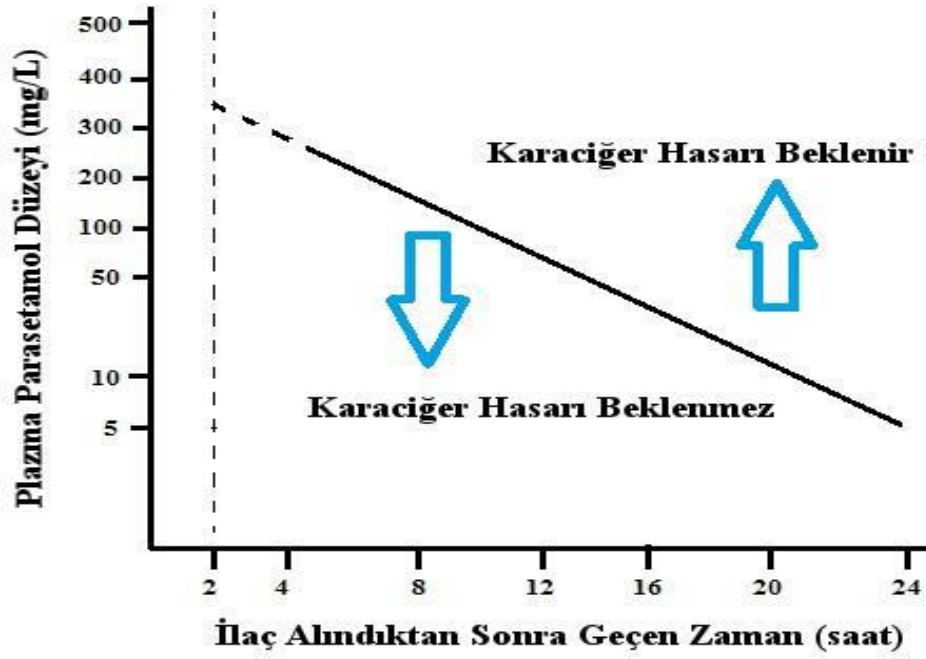
Faz 4 hepatik hasarın iyileştiği yada ölümle sonuçlanan aşamadır. Hepatik fonksiyon iyileşen hastalarda 3 ay içerisinde fizyolojik sınırlara dönmektedir ve parasetamolün neden olduğu hepatotoksisitede kronik hepatik disfonksiyon meydana gelmez (Black, 1980; Laskin ve ark, 1995; Salgia ve Kosnik, 1999; Hung ve ark, 2000).

2.3.2. Karaciğer Toksisitesi

İlaç hasarı sonucunda şekillenen hepatit, akut karaciğer hasarının en çok görülen sebeplerinden biridir. Yapılan araştırmalar sonucunda akut karaciğer yetmezliği vakalarının % 58'inin ilaçlara bağlı olduğu ve parasetamolün % 46 ile bu ilaçlar arasında yüksek bir orana sahip olduğunu göstermektedir (Lee ve Seremba, 2009).

Son yıllarda hızla artış gösteren akut karaciğer yetmezliğinin en yaygın nedeni parasetamoldür (Mazer ve Perrone, 2008). Evlerde sıklıkla kullanılması ve reçetesiz rahatlıkla parasetamol içeren ilaçlara ulaşılabilmesi gibi nedenlerden dolayı, intihar veya kazara ölüm vakaları sıklıkla rapor edilmektedir. Uzun zamandır parasetamolün yüksek doz alımlarında hepatik hasar oluşturduğu, hatta ölümle sonuçlanabildiği bilinmektedir. Bir defada 10-15 g (150-250 mg/kg) parasetamol alındıktan sonra karaciğer toksisitesi şekillenebilir; 20-25 g ve üzerindeki dozlar ölümcül olabilmektedir (Brunton, 2009).

Parasetamol alındıktan sonraki ilk 4 saatin sonunda kan konsantrasyonu 300 mg/L veya 15 saatin sonunda 45 mg/L 'dir ve ciddi karaciğer hasarına neden olmaktadır (Şekil 6) (Brunton, 2009).



Şekil 6. Plazma parasetamol düzeyinin zamana bağlı değişimi ile karaciğer hasarı ilişkisi (Brunton, 2009).

Yüksek doz parasetamol alımına bağlı olarak antioksidan savunma sistemi baskılanmaktadır, GPx ve *katalaz* (CAT) enzim aktivitesi azalmaktadır. Bununla birlikte GSH/okside glutatyon (GSSG) oranındaki azalma kapasitesindeki azalma antioksidan kapasitede de azalmaya sebep olmaktadır (Jaeschke ve ark, 2011).

NAPQI, vücutta depo haldeki GSH ile zararsız hale getirilmeye çalışılırken, depo GSH tükenmeye başlar ve serbest haldeki toksik NAPQI, eritrositlerde ve hepatositlerdeki makromoleküllere demirle bağlanarak sentrilobuler hepatik hasara, methemoglobinemi ve alyuvarlarda hasara sebep olmaktadır. Karaciğer GSH depolarının % 70'inden fazla miktarının kullanılması halinde ise hepatik toksikasyon şekillenebileceği bildirilmiştir (Bessems ve Vermeulen, 2001).

2.3.3. Böbrek Toksisitesi

Yapılan çalışmalarda yüksek dozda parasetamol uygulaması sonrasında hepatik yetmezlik şekillenmeksizin akut böbrek yetmezliğinin de gelişebildiği gösterilmiştir. Ayrıca uzun süreli terapötik dozda parasetamol kullanımı ise kronik böbrek hastalığı riskinde artışa sebep olduğunu göstermiştir (Bessems ve Vermeulen, 2001).

Yüksek doz parasetamol alımından sonra COX, *N-deasetilaz* ve CYP450 enzimlerini içeren yollar renal toksisite mekanizmasında önemli role sahiptir. Toksikasyon sonucu oluşan hasar renal proksimal tübüllerde şekillenmekte olup glomerüler filtrasyon hızı azalmaktadır. Parasetamol karaciğerdeki gibi böbrekte de renal mikrozomlarda CYP450 enzim sistemi ile oksidasyona uğramaktadır. Parasetamol böbreklerde deasetilasyona uğrayarak p-aminofenole dönüşür ve toksik etkisini gösterir. Parasetamol kaynaklı böbrek toksisitesi ve nefrotoksikite oluşumunda GSH konjugatları ile CYP450'nin rol oynadığı, bu enzim sisteminde de CYP2E1'in önemli olduğu düşünülmektedir (Bessemis ve Vermeulen, 2001).

Parasetamolün yüksek doz alımında, NAPQI miktarı artış göstererek GSH bağlama kapasitesini aşar ve tübüler nekroz oluşumuna neden olmaktadır. Oluşan bu nekroz böbrek fonksiyon bozukluğuna sebep olabilmektedir (Mazer ve Perrone, 2008). N-asetilasyon ile renal kortekste oluşan NAPQI ve p-aminofenol, GSH depolarının tükenmesi sonucu birikir. NAPQI hücre membranlarına ve sülfidril proteinlere bağlanarak renal toksisite oluştururken, p-aminofenol de renal makromoleküllere kovalent bağlanmak suretiyle renal hasara neden olmaktadır (Mugford ve Tarloff, 1993). Analjezik nefropati, uzun dönem halinde ve aşırı dozda analjezik kombinasyon kullanımı sonrasında şekillenen ve kronik interstisyel nefrit ve renal papiller nekroz tablosu ile spesifik olan bu duruma en çok sebep olan ilaçlardan birisi parasetamoldür. Zararlı etkilerinin temel mekanizması tam anlamıyla bilinmemekte olup, parasetamolün böbrekte sentez edilen vazodilatör PG'leri azalması sonucunda böyle bir etki yaptığı düşünülmektedir. Böbrekte vazodilatör PG sentezi fizyolojik koşullarda çok olmamakla birlikte; renal vazodilatör PG sentezinin önemli olduğu durumlarda (renal yetmezlik, hipertansiyon, glomerüler hastalıklar, siroz ve konjesif kalp yetmezliği) parasetamolün istenmeyen etkileri daha sık görülmekte olup, bu etkilerini kan basıncı üzerindeki etkiler, akut böbrek hasarı ve kronik böbrek hastalığı olarak sınıflandırılmaktadır (Curhan ve ark, 2004).

Mugford ve Tarloff (1997) yapmış oldukları çalışmada, ratlara parasetamol uygulaması sonucu oluşan böbrek toksisitesinin NAPQI ve p-aminofenol ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Böbreklerde deasetillenen parasetamol p-aminofenol metabolitine dönüştürülmektedir. Bu metabolit nefrotoksindir ve kortikal nekrozların oluşmasına yol açmaktadır.

Farelerde yapılan deneysel çalışmalarda toksik dozdaki parasetamolün metabolize olması sonucunda oluşan NAPQI'nın hücre içinde bağlandığı ilk organelin mitokondriyon olduğu ve sonuçta mitokondriyal solunumu inhibe edildiği bildirilmiştir (Bozoğlu, 2009). Bunun yanı sıra hücre içi kalsiyum (Ca^{+2})'u düzenleyen proteinlerin yüksek doz parasetamol

nedeniyle bozularak, hücre içinde Ca^{+2} 'un aşırı birikmesi ve katabolik enzimlerin artması nedeniyle hücre ölümüne kadar giden tabloların oluştuğu belirtilmiştir. (Waters ve ark, 2001).

GSH yetersizliği parasetamol kaynaklı renal toksisitede önemli bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum hepatorenal sendrom olarak adlandırılmaktadır (Loh ve Ponampalam, 2006). Parasetamol hem böbrek hem de karaciğerde metabolize olurken, nefrotoksisitenin böbrekte GSH kaynağına bağlı olarak oluştuğu, hepatotoksisiteden bağımsız geliştiği bildirilmiştir (Masson ve ark, 2000).

Renal toksisite riski yılda 366 tablet (0.5 g'lık) veya daha fazla kullanan insanlarda 2.1 kez arttığı, yapılan bir araştırmada son dönemdeki renal hastalıkların % 8-10'unun kronik parasetamol kullanımıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Blakely ve McDonald, 1995).

2.3.4. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi

Dünyada ve özellikle yetişkinlerde, parasetamol çoğunlukla aşırı dozda kasıtlı alınarak, ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (Nourjah ve ark, 2006). Doz aşımı olan hastaların nasıl tedavi edileceğine karar vermek için aşağıdaki konular göz önünde bulundurulmalıdır. Öncelikle, parasetamol zehirlenme tedavisinin etkinliği en önemli faktördür. Parasetamol alımından sonraki belirli bir zamanda plazma parasetamol seviyesinin N-asetil sistein (NAC) tedavisinin başlatılması için önemli bir parametre olduğu unutulmamalıdır (Whyte ve ark, 2007; Craig ve ark, 2012).

Parasetamol toksikasyonlarında, öncelik parasetamolün emilimi engellemek olmalı, prognostik değerler izlenmeli ve hastalara uygulanacak destek tedavisi bu değerlere göre yapılmalıdır (Cengiz, 1997; Dökmeci, 2001).

Tedavinin advers etkilerinin yaygınlığı ve şiddeti, tedavinin seçimi için önemlidir. Örneğin, metiyonin parasetamolün antidotu olarak da etkili olabilir ancak parasetamol zehirlenmesinin tedavisinde NAC'den daha az güvenilir olabileceği bildirilmiştir (Prescott ve ark, 1983)

Parasetamolün yüksek doz alımından sonraki 4 saat içinde mideden hızla absorbe olur ve bağırsak absorpsiyonunu azaltmak amacıyla gastirik aspirasyon ve lavaj ya da ipeka şurubu kullanılmasının faydalı olacağı bildirilmektedir. Emilimin engellenmesinde aktif kömür uygulanması da alternatif yöntemlerden birisidir. Oral aktif kömür uygulaması tek doz olarak 1 g/kg dozunda ve alınan parasetamol dozunun 10 katı kadar olması tavsiye edilir ancak pratikte kusma riskini artırmaktadır. Aktif kömürün emme kapasitesi tam olarak bilinmemekle birlikte *in vitro* olarak maksimum emme kapasitesi, aktif kömür g başına

yaklaşık 250 mg parasetamoldür (Underhill ve ark, 1990). Bağırsak lümeni içinde parasetamole bağlanan aktif kömürün emilimi engellemektedir. Parasetamol absorpsiyonu bu yollardan biri kullanılarak büyük oranda engellenir. Parasetamol ile zehirlenmede hedef organlar karaciğer ve böbrek olduğundan bu organların fonksiyonları takip edilmelidir (Cengiz, 1997; Dökmeci, 2001).

Parasetamol toksikasyonlarında kan parasetamol seviyesi en önemli ilk göstergedir. Parasetamol yüksek doz alımından sonraki 4. saate kadar bağırsaktaki ilaç emilimi tamamlanmamış olabileceği için elde edilen kan parasetamol seviyesi toksisite şiddetini güvenilir bir şekilde göstermez (Cengiz, 1997; Dökmeci, 2001).

Hepatik GSH depolarının tükenmesi parasetamol intoksikasyonuna sebep olmaktadır. Uygulanacak tedavi yönteminde, GSH hepatositler içine geçemediği için, hepatik GSH'ı yerine koymak yerine hepatik GSH tüketiminin veya parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI'ya dönüştürülmesinin engellenmesi gereklidir. Toksikasyonda kullanılan antidotlar; N-asetil sistein, sistamin, dimerkaprol ve metionindir. (Cengiz, 1997; Dökmeci, 2001). Ayrıca son yıllarda farklı hayvan türlerinde meydana getirilen parasetamol toksikasyonun önleyici çalışmalar da yapılmış olup olumlu sonuçlar alınmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Farklı hayvan türlerinde deneysel parasetamol toksikasyonunu önleyici farmakolojik ajanlar

Yazarlar	Hayvan Türü	Parasetamol Dozu	Toksikasyon Önleyici
Kalınbacak ve ark, 1997	Köpek	500 mg/kg	NAC
Ahmed ve Khater, 2001	Rat	640 mg/kg/oral	Maritima ekstraktı (Ambrosia maritima)
Waters ve ark, 2001	Rat	800 mg/kg periton içi	Taurin
Şener ve ark, 2003	Rat	900 mg/kg periton içi	Vit E, NAC, Melatonin
Abraham, 2005			Vit C
Yapar ve ark, 2007	Fare	500 mg/kg periton içi	L-karnitin
Terneus ve ark, 2008	Fare	500 mg/kg periton içi	NAC ve S-adesonil-l-Metiyonin
Bozoğlu, 2009	Rat	3 gr/kg oral	Flumazenil
Küçük, 2009	Rat	1 gr/kg oragostrik gavaj	Kaffeik acit fenetil ester (CAPE), NAC
Cekmen ve ark, 2009	Rat	1000 mg/kg periton içi	Zerdeçal
Havare, 2011	Rat	1000 mg/kg periton içi	NAC
Bektur, 2012	Fare	500 mg/kg gastrik gavaj	Silybum marinum (Silimarin)
Pu ve ark, 2016	Fare	200 mg/kg oral	Zileotan
Tzankova ve ark, 2017	Rat	1000 mg/kg oral	Quercetin
Farah ve ark, 2018	Rat	2800 mg/kg oral	Vit C, E, B ₁₂
Matić ve ark, 2019	Rat	300 mg/kg periton içi	Vit C ve β glukan

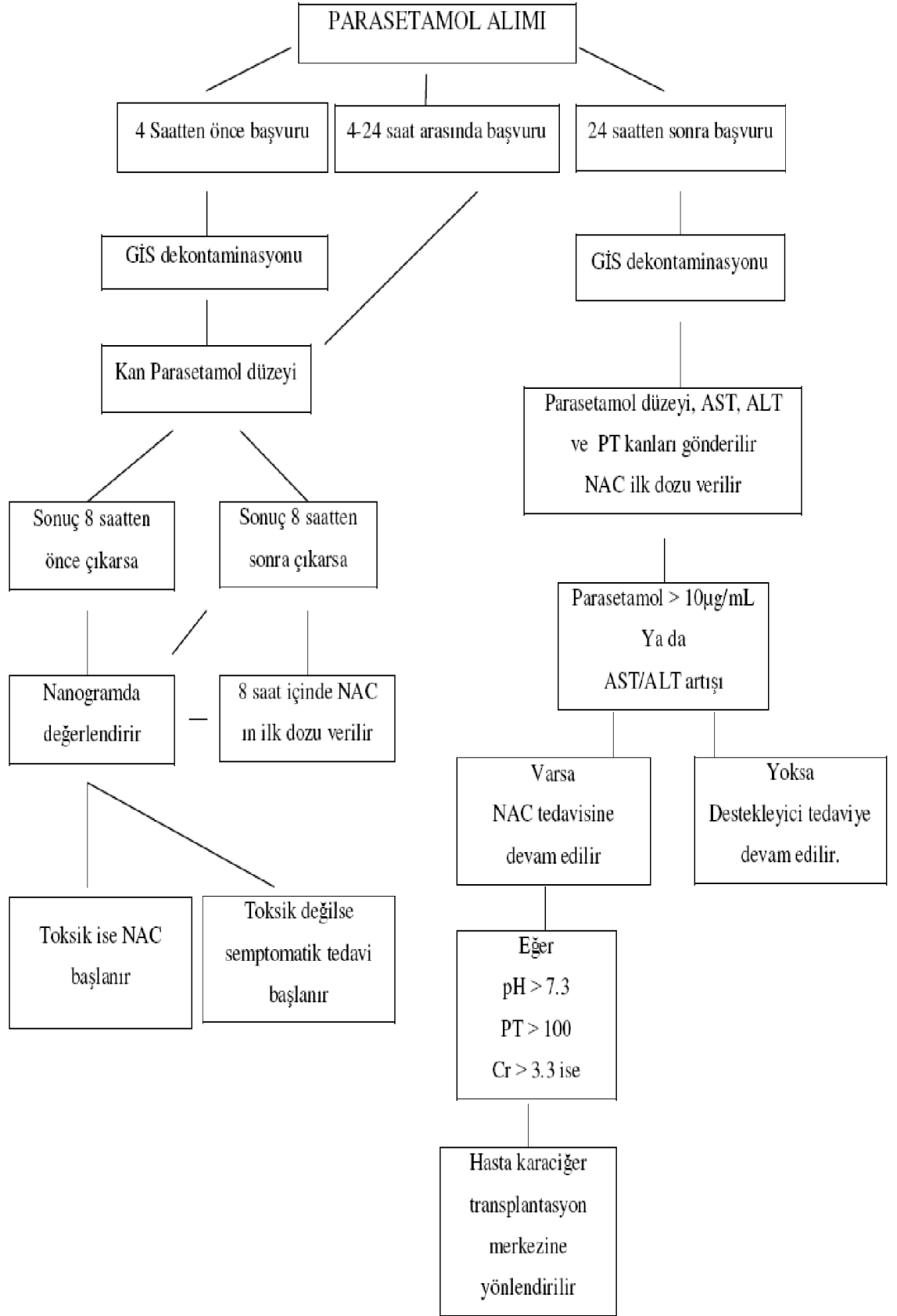
2.4. N-Asetil Sistein (NAC)

Parasetamol kaynaklı hepatotoksisiteyi önlemenin en etkili yolu, antidot N-asetilsistein (NAC)'nin zamanında verilmesidir. Prescott ve ark (1977) yaptıkları çalışmada NAC'nin parasetamol toksikasyonunda kullanılabileceğini göstermiş ve aynı yıl içinde 15 hasta üzerinde etkinliğini ispatlamışlardır.

Yapılan deneyler, doz arttıkça NAC'nin de etkinliğinde artış olduğunu göstermiştir. parasetamol alınmasından hemen sonra parasetamole eşit dozda uygulanan NAC, büyük ölçüde toksisiteyi engellemektedir (Rayle ve ark, 2006). Parasetamol alınması ile NAC

başlanması arasındaki süre arttıkça ölüm ve toksisite riski de artmaktadır. 11195 vaka ile yapılmış olan araştırmada; parasetamol alınmasını takiben ilk 10 saat içinde uygulanan NAC tedavisinde % 6.1, 10-24 saatleri arasındaki tedavide ise % 26.4 hepatotoksisite oranı bulunmuş olup, uygulama yolları ile etkisi arasında bir fark bulunmamıştır (Kozer ve Koren, 2001). Parasetamol zehirlenmesinde uygun görülen tedavi protokolü Şekil 6'da gösterilmiştir.

Bir asetillenmiş sistein kalıntısı olan NAC, glutatyonun bir öncüsüdür ve NAC hepatik GSH konsantrasyonlarında artışa neden olmaktadır (Samuni ve ark, 2013). 1970'li yıllarda, NAC ile yapılan deneyler ve denemeler, diğer sistein türevlerine göre çoğunlukla daha az yan etki açısından üstünlüğünü göstermiştir. NAC uygun zamanda ve yeterli dozda verilirse, parasetamole bağlı hepatik ve renal hasarları büyük oranda önleyebilmektedir (Kozer ve Koren, 2001). Birleşik Krallıkta ve Kanada'da, NAC tedavisi intravenöz (IV) uygulama olarak başlamışken, ABD'de oral uygulama tercih edilmiştir (Rumack ve Bateman, 2012).



Şekil 7. Parasetamol zehirlenmesinde tedavi protokolü (Oliver, 2004).

2.5. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest radikaller, molekül fragmanları olarak düşünülebilen ve genellikle çok reaktif olan eşleşmemiş bir elektrona sahip kimyasal türlerdir (Cheeseman ve Slater, 1993). Ekzojen ve endojen faktörlere bağlı olarak hücrelerde serbest radikaller oluşmaktadır.

Ekzojen faktörler arasında ilaçlar (parasetamol, doksorubisin, aminotriazol, bleomisin, 3,4-metilendioksimetamfetamin, klonazin, siprofloksasin, trisiklik antidepresanlar gibi), metal iyonları (civa, bakır, nikel, demir, kadmiyum, krom), kirleticiler (karbon monoksit, NO, kükürt dioksit, ozon, asbest lifleri, mineral tozlar, silika, toksinler, hipoklorit, yangın), radyasyon (x ışını, ultraviyole ışık) bulunmaktadır (Abdollahi ve ark, 2004).

Endojen kaynaklı etmenler arasında;

- 1) Küçük moleküllerin radikal zincir reaksiyonu: Tiyo, hidrokinolon, katekolamin ve flavin gibi bileşikler radikal zincir reaksiyonları ile serbest radikalleri oluşturmaktadırlar (Baccanari, 1978; Freeman ve Crapo, 1982).
- 2) Enzimler ve proteinler: *Aldehit oksidaz*, *triptofan dioksijenaz* ve *ksantin oksidaz* gibi enzimler, serbest radikal üretimine sebep olurlar (Aust ve ark, 1985).
- 3) Mitokondriyal elektron taşıması: Elektron taşıma sisteminden sızan elektronlar hücrelerde en büyük serbest radikal kaynağıdır. Mitokondriyal elektron taşıma sisteminde elektron iki yerde; *NADPH-dehidrogenaz* ve koenzim Q ya da ubikinon basamağında elektron sızmaktadır. Bu sistemin son basamağında oksijenin elektronlara taşınmasında görevli *sitokrom oksidaz* enzimi, oksijenin % 97-99'unu harcar ve suya redükte eder. Elektron taşıma zincirinden sızan elektronlarla bir araya gelen oksijenin % 1-3'ü, $O_2^{\cdot-}$ radikalinin üretimini arttırır (Ku ve ark, 1993).
- 4) Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron taşıma sistemleri: Serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların yükseltgenmesinden kaynaklanmaktadır. CYP450 doymamış yağ asitleri ve ksenobiyotiklerin indirgenmesine neden olurken dioksijen ve diğer substratların da yükseltgenmesine neden olurlar (Bayır, 2008).
- 5) Peroksizomlar: Hücre içi çok önemli H_2O_2 kaynağıdır. Bu organeldeki *L-hidroksilizin oksidaz*, *ürat oksidaz*, *D-aminoasit oksidaz* ve *yağ asidi açıl-CoA oksidaz* gibi oksidazlar $O_2^{\cdot-}$ üretmeden, H_2O_2 üretimine neden olmaktadır. Fakat bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği, CAT aktivitesi çok yüksek olduğu için bilinmemektedir (Akkuş, 1995; Bayır, 2008).
- 6) Plazma membranı: Ekstraselüler olarak üretilen serbest radikaller plazma membranını geçtikten sonra diğer hücre komponentlerine ulaşır. Bu geçiş sırasında membranda toksik reaksiyonlara da sebep olabilirler. Fosfolipit, glikolipit, gliserid gibi membranda yer alan

proteinler serbest radikallerden etkilenirler. LPO veya yapısal proteinlerin oksidasyona uğraması sonucu membran geçirgenliğinde bozukluklar meydana gelmektedir (Jana ve ark, 1990; Ersoy ve Dilek, 1999).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve eşleşmemiş elektron bulundurdıklarından dolayı oldukça reaktif maddeler olup, 3 yolla şekillenmektedir. Bunlar; moleküldeki bağların yüksek sıcaklıklarda kovalent bağlarda homolitik kırılma, normal bir elektronun elektron kaybetmesi ve normal bir moleküle elektron aktarılması sonucunda şekillenmektedir (Akkuş, 1995; Kılınç ve Kılınç, 2002)

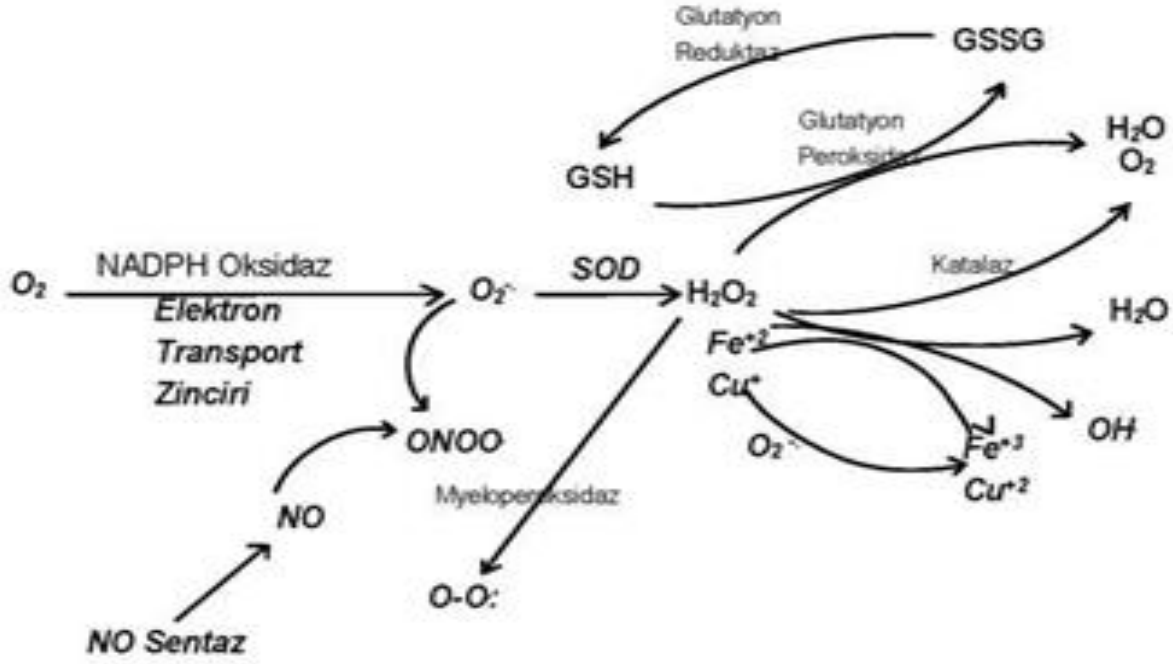
Serbest radikallerin üretimine neden olan bir çok ksenobiyotiğin toksisitesi, sadece kendileri için toksik olmayan aynı zamanda birçok hastalığın patofizyolojisine de dahil olması ile ilişkilidir. Kadmiyum ve kurşun gibi birçok çevresel kimyasallara uzun süre maruz kalma, biyolojik sistemdeki olumsuz etkilerin altında yatan bir mekanizma olarak oksidatif strese neden olabilir (Abdollahi ve ark, 2003; Abdollahi ve ark, 2004).

Oksidatif stres, serbest radikallerin üretimi ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna sebep olan ve vücudun antioksidan savunması arasındaki dengeyi bozması olarak tanımlanabilir (Abdollahi ve ark, 2004). Radikallerin saldırısı sonucu hücreye verilen zarar da oksidatif hasar şeklinde tanımlanmaktadır (Ardağ, 2008).

Antioksidanlar, oksidanları nötralize etmede yetersiz kalırsa oksidan/antioksidan arasındaki denge antioksidanların aleyhine bozulur. Bilindiği gibi fizyolojik şartlarda oksidan/antioksidan denge antioksidanların üstünlüğüyle sürdürülür (Rikans ve Hornbrook, 1997; Clarkson ve Thompson 2000). Bu dengenin oksidanların lehine bozulması literatürde oksidatif stres olarak ifade edilen doku hasarına yol açmaktadır ve Şekil 10'da gösterilmiştir (Yeum ve ark, 2004; Burnaz, 2013). Oksidatif hasarın artmasında DNA, proteinler ve lipidlerin hücresel regülasyon işlemlerinin aksamasına neden olan redoks dengesizliğinden kaynaklanmaktadır (Yu, 1999).

Oksidatif stres, son yıllarda olası bir toksisite mekanizması olarak toksikolojik araştırmalara konu olmuştur. Serbest radikaller, ROT olarak; $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $OH^{\cdot}$ radikali, hipokloröz asit (HOCl), 1O_2 ve reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak da NO ve ONOO⁻ olup, RNT'ler vücudun normal metabolik reaksiyonları sırasında az miktarda üretilirler (Freeman ve Crapo, 1982; Cochran, 1991). Oksijenden oluşan radikaller, serbest radikallerin en önemlisidir. Oksijen, bazı demir-kükürt içeren redoks enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle $O_2^{\cdot-}$ grubuna indirgenir. $O_2^{\cdot-}$ grubu çok etkilidir ve hücre hasarına yol açarak bakırlı bir enzim olan *süperoksit dismutaz* (SOD) tarafından H_2O_2 ve $OH^{\cdot}$ radikallerine dönüştürülür. H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$

grubundan daha zayıf etkiye sahiptir ve dokularda bulunan CAT ve GPx enzimleriyle su ve oksijen gibi daha az etkili ürünlere dönüştürülerek inaktif hale getirilir. SOD'un aktivitesini inhibe eden dietilditiyokarbamat gibi maddeler, LPO'nu hızlandırırken $O_2^{\bullet-}$ gruplarının etkisiz hale getirilmesini sınırlandırır. Ayrıca CAT'nin aktivitesini inhibe eden maddeler (aminotriazol gibi herbisidler) de aktif oksijen gruplarına veya bu grupları oluşturan maddelere duyarlılığı artırır (Kaya, 1998; Mates, 2000). Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu Şekil 8'de gösterilmiştir.



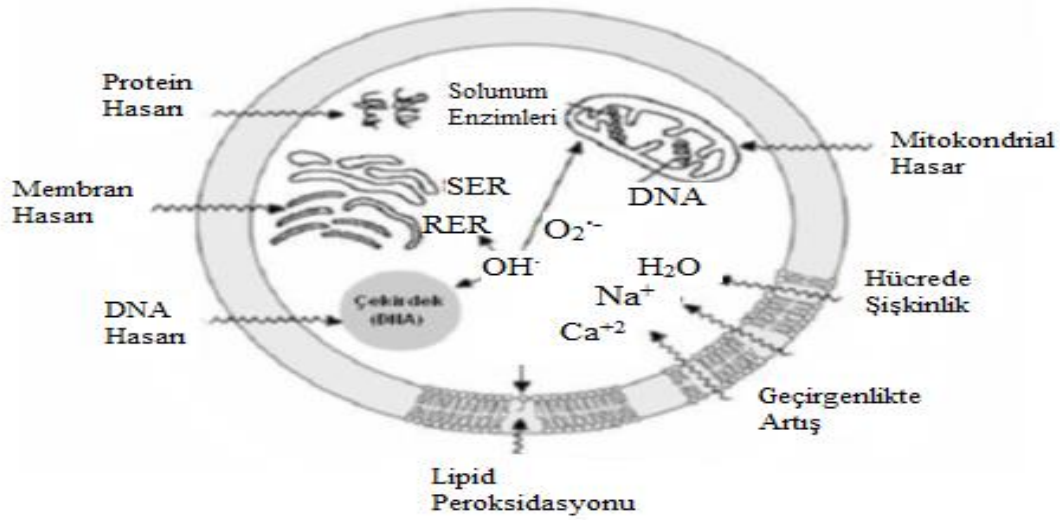
Şekil 8. Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu (Vincent ve ark, 2004).

Serbest oksijen radikallerinin, ağır metal nefrotoksitesisi, glomerulonefritis, Vit E noksanlığı, tümör, amfizem, bronkopulmoner displazi, pankreatitis, romatoid artrit, karsinogenez ve yaşlanma gibi birçok klinik hastalıkta önemli patolojik mediatörler olduğu belirtilmiştir (Cross ve ark; 1987; Facchinetti ve ark, 1998).

$O_2^{\bullet-}$ gruplarının hızlı oluşturulan 1O_2 , hücre membranlarında glikolipid, fosfolipid, gliserid ve doymamış yağ asitleriyle tepkimeye girerek alkoller, aldehitler, peroksitler ve hidroksi yağ asitleri gibi çeşitli LPO ürünlerini oluşturur. Her ne kadar LPO'lar GSH'ye bağlı selenyum GPx tarafından lipid alkollere inaktive edilmiş olsalar da, ortamdaki $O_2^{\bullet-}$ grupları ile büyük miktarda LPO'nun oluşturulması ve selenyum noksanlığı ile birlikte GSH'nin tükenmesine sebep olabilecek dioksin ve dietilmaleat varlığı LPO'dan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak lipid gruplarını oluşturur.

Oksidatif hasara karşı en hassas bölge beyindir. Santral sinir sisteminin patolojik durumlarının çoğunda, doğrudan doku hasarına neden olan serbest radikallerdir. Serbest oksijen türleri ekzitotoksisite, metabolik fonksiyon bozukluğu ve Ca^{+2} 'un hücre içi dengesinin bozulma gibi çoğul mekanizmalarla doku hasarına neden olurlar (Cross ve ark; 1987; Kaya, 1998; Mates, 2000; Güven ve ark, 2003).

Endojen ve ekzojen olarak oluşan serbest radikaller Şekil 9'da gösterildiği gibi hücrelerin protein, karbonhidrat, lipid, DNA ve enzim gibi tüm önemli ana bileşenlerine etki etmektedirler (Akkuş, 1995; Önat ve ark, 2002).



RER: Granüllü endoplazmik retikulum, SER: Granülsüz endoplazmik retikulum, DNA: Deoksiribonükleik asit, $O_2^{\bullet-}$: Süperoksit radikali, $OH^{\bullet}$: Hidroksil radikali, Na: Sodyum, Ca: Kalsiyum, H_2O : Su

Şekil 9. Serbest radikallerin hücresel hedefleri (Önat ve ark, 2002).

2.5.1. Serbest Radikallerin Hücre Lipitlerine Etkileri

Hücre zarında bulunan serbest oksijen radikalleri yağ asitleri üzerine etki eder ve LPO'yu başlatır. LPO, poli-doymamış yağ asitlerinin radikaller ile yükseltgenmesi sonucu başlayan ve oto katalitik zincir reaksiyonları olarak devam eden, birçok organizmada hasarlara neden olan reaksiyonlar sürecidir (Davies ve Goldberg, 1987). Malondialdehid (MDA) LPO'nun en önemli ürünüdür. MDA, üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşur ve hücre zarlarındaki iyon değişimini etkileyerek

zardaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak, iyon geçirgenliği ve enzim aktivitesinin değişimi gibi istenmeyen sonuçlara sebep olurlar. Bu özelliği nedeniyle MDA, DNA'nın azot bazları ile tepkimeye girebilir ve hücre için karsinojenik, mutajenik ve genotoksik olabilir (Porter 1984; Niki 1987; Placerve ark, 1990; Kehrer 1993). LPO reaksiyonu ya süpürücü antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır veya oto katalitik yayılma reaksiyonlarıyla devam eder (Gutteridge, 1995).

2.5.2. Serbest Radikallerin Hücre Proteinlerine Etkileri

Proteinlerin radikallerden etkilenme dereceleri, içerdikleri aminoasit bileşimine bağlıdır. Oluşan doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden (metiyonin, sistein, histidin, tirozin, fenilalanin vb.) üretilmiş proteinler serbest radikallerden daha hızlı etkilenmektedirler. Serbest radikallerle tepkimeye giren proteinler, karbon merkezli radikaller ile sülfür radikallerini oluşturur. Oksidatif hasarın ölçülebilmesi için karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi gerekir (Akkuş, 1995).

2.5.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri

Hücre ölümünün temel nedeni, nükleik asitlerin serbest oksijen radikalleriyle reaksiyonudur. Bu reaksiyon sonucunda DNA'da mutasyon ve hücre ölümü şekillenmektedir. LPO sonucu oluşan MDA'nın nadir de olsa DNA'da mutasyona sebep olduğu, kansere ve bazı genetik hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir (Marnett, 2002).

2.6. Antioksidanlar

Oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar denir. Başka bir deyişle, ROT oluşumunu engelleyebilen veya bu türlerin toksik etkilerini inhibe edebilen, serbest radikalleri yakalayabilen ve nötralize edebilen maddelere antioksidanlar denir. (Elliot, 1999). Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile etkilerini göstermektedirler (Akkuş, 1995).

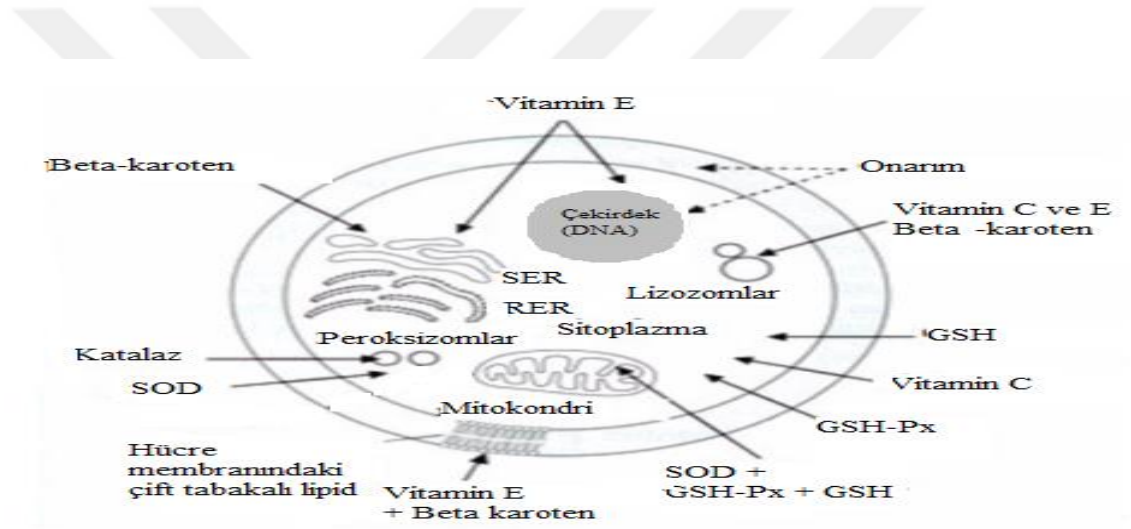
- 1- Temizleme etkisi: Enzimlerin bu etkisi, oksidanların zayıf bir moleküle dönüşümü olarak tanımlanabilir.
- 2- Baskılama etkisi: Vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılan bu etki, hidrojeni oksidanlara aktararak inaktivasyon biçimindedir.
- 3- Onarma etkisi: Antioksidanlar tarafından serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği

hasarın onarılması etkisidir.

4- Zincir koparma etkisi: Hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılan bu etki gibi bağlayıcı oksidanların işlevini inhibe etme biçimindedir.

Oksidanlara karşı savunmanın ilk seviyesi olarak hücre, antioksidan savunma sistemi ile donatılmıştır. Antioksidanlar elektronlarını oksidanlara eşleştirebilirler ve bunun sonucunda reaktivitelerini kontrollü koşullar altında azaltarak onları hücresel makromoleküllere çevirirler yani zararsız hale getirirler. Antioksidanlar böylece radikallerin kendileri haline gelir, ancak bunlar çok daha kararlıdır ve hücresel hasara neden olamazlar (Lykkesfeldt ve Svendsen, 2006).

Antioksidanlar Şekil 9'da görüldüğü gibi hücrenin pekçok organelinde ortaya çıkan oksidatif hasarı asgari düzeye indirmek için etki etmektedir.



RER: Granüllü endoplazmik retikulum, SER: Granülsüz endoplazmik retikulum, DNA: Deoksiribo nükleik asit, SOD: Süperoksit dismutaz, GSH: Glutasyon, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz

Şekil 10. Antioksidanların hücredeki etkileri (Engin, 2007).

Antioksidanlar, doğal ve sentetik olmak üzere iki ana başlık altında incelenmektedir. Doğal antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik olarak iki gruba gruba ayrılır (Akagün, 2009). Enzimatik antioksidanlar, oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürmektedirler. Antioksidan enzimlerin organizmada en etkili olanları SOD, CAT ve GPx'tir (Cheeseman ve Slater, 1993).

Nonenzimatik antioksidanlar endojen ve ekzojen antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Lobo ve ark, 2010). Endojen antioksidanlara; glutatyon, metiyonin, sistein, melatonin, ürat, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, albümin, ve bilirubin örnek verilebilir. Ekzojen antioksidanlara da vitaminler, ilaç ve gıda kaynaklı antioksidanlardır. Ekzojen vitamin antioksidanlar α -tokoferol (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), β karoten ve folik asittir. Ekzojen antioksidan olarak kullanılan ilaçlar nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH), oksidaz inhibitörleri (adenozin, yerel anestezikler, NSAII, kalsiyum kanal blokörleri, ksantin oksidaz inhibitörleri (oksipurinol, tungsten), rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-C (α -tokoferol analogu), nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin), sitokinler (TNF ve IL-1) ve barbitüratlardır (Engin, 2007). Sentetik antioksidanlar renk, , koku, tat ve kaliteyi korumak, raf ömrünü uzatmak amacıyla gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Gallatlar, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), tersiyer bütillhidrokinon (TBHQ), ve nordihidroguareyetik asit (NDGA) sentetik antioksidanlara örnek olarak verilebilir (Yavaşer, 2011).

2.6.1. Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlılar, gerek hücre içerisinde gerekse hücre zarında serbest radikallerin zararlı etkilerini inhibe etmek için çok sayıda korunma mekanizması geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar aracılığı ile serbest radikallerin üretimini engellemekte ve oluşan bu radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktadır. GSH, GST, GRx, SOD ve CAT canlı dokularda en çok bilinen önemli antioksidanlardandır. GSH, birçok hücrede bulunan L-glutamat, L-sistein ve glisinden oluşan tripeptittir. GSH aktif bölgesinde selenyum içeren GPx enzimi katalizörlüğünde, H_2O_2 ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki gösterir ve H_2O_2 'i hücrelerden uzaklaştırır. GSH, H_2O_2 'i veya organik oksitleri kimyasal olarak nontoksik hale getirir ve hücreleri serbest oksijen radikallerinin hasarından korur (Murray ve ark, 2000; Akbari ve ark, 2018). Hidroperoksitlerin hücrelerden uzaklaştırılmasından sorumlu diğer bir antioksidan enzim GPx'dir. GPx, intraselüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Hidroperoksitlerin indirgenmesiyle oluşan GSSG, GRx'ın katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH'a dönüşür (Tsai, 1975).

GST'lar, GSH'ı sisteinin sülfür atomu üzerinden çeşitli elektrofillere aktaran proteinlerdir. GST'lar antioksidan aktivitelerinin yanı sıra, çok önemli biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Katalitik olarak, yabancı maddeleri GSH'daki sistine ait -SH

grubu ile bağlayarak, onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve suda daha fazla çözünebilir hale getirirler. GST, özellikle araşidonik ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere selenyumdan bağımsız GPx aktivitesi ile LPO'na karşı koruyucu bir mekanizma oluştururlar (Halliwell, 1994).

GRx GSSG'ı, redükte (GSH) hale çeviren bir enzimdir. Bu indirgenme işlemi sırasında NADPH'dan gelen elektronlar, GSSG'un disülfid bağına doğrudan transfer edilmezler. Sıklıkla önce NADPH'dan sıkıca bağlı bulunan flavin adenin difosfata transfer edilirler ve alt birimlerde bulunan iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilerek GSSG'a aktarılmış olurlar. Alyuvarlardaki pentoz fosfat yolu, GRx'in GSSG'ı GSH'a dönüştürmesi için gereken NADPH'ı sağlar (Murray ve ark, 2000).

SOD hemen hemen bütün canlılarda bulunmaktadır. Memelilerde üç tip SOD bulunmaktadır. SOD'nin tüm çeşitleri $O_2^{\bullet-}$ 'in dismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilir (Buettner ve ark, 2006). Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkiyi engellemek için, SOD enziminin CAT katalaz enzimi ile birlikte araştırılması gerektiği düşünülmektedir. Çünkü SOD ile katalizlenen reaksiyon sonucunda üretilen H_2O_2 , toksik oksijen türlerinden biridir ve CAT enzimi vasıtasıyla birikimi önlenmektedir (Mao ve ark, 1993).

CAT, tüm canlı hücrelerde değişik seviyelerde bulunan antioksidan bir enzimdir. Adından da anlaşılacağı üzere bu enzim H_2O_2 'yi moleküler oksijen ve suya katalize eder. CAT enzimi peroksizomlarda daha çok lokalizedir. Karaciğer, böbrek, kan, kemik iliği ve mukoz membranlarda yüksek miktarlarda bulunmaktadır (Czeczot ve ark, 2006).

2.7. Folik Asit

Pteroylmonoglutamik asit (PteGlu1); iki halkalı pteridin çekirdeği ile para-aminobenzoik asitten oluşan pteroik asidin, glutamik asit ile yaptığı amid türevidir. Besinler içinde daha çok pteroylpoliglutamalar halinde bulunur. Bunların folik asitten farkları moleküllerinde birden fazla glutamik asit içermeleridir (Kayaalp, 1993). Folik asit (Folat-Polisin) bir B grubu vitamindir. Yeşil yapraklı bitkilerde sıklıkla bulunduğu (latinceye yaprak anlamına gelen folum) dolayı bu isim verilmiştir. 1950'li yıllarda ilk kez bira mayasından ve karaciğerden üretilmiştir. Folik asit metabolizması B12 vitamini metabolizması birbiriyle ilişkilidir. İnce bağırsağın ilk kesiminde emilir ve karaciğerde metabolize edilir. En fazla yeşil yapraklı sebzeler, bira mayası, karaciğer, böbrek, yumurta, tahıllar, ceviz, fındık, mercimek, ıspanak, yonca, nane, baklagiller ve tohumlu gıdalarda bulunmaktadır (Fidaner, 2001). Tek karbon transferi reaksiyonlarında koenzim rolü

oyunmaları en önemli fizyolojik görevidir. Bu özellikleri nedeniyle DNA, RNA, aminoasit ve lipid sentezinde önemli rol oynarlar (Jacob, 2000). Vücutta, kırmızı kan hücrelerinin ve diğer birçok yeni hücrenin yapımına yardımcı olmak için folik asit kullanır. Ayrıca bir metil grubu donörü olan FA, B12 vitaminine bağlı bir *metiyonin sentetaz* tarafından katalize edilen metiyonine homosisteinin remetilasyonunda da önemli bir rol oynar (Stokstad, 1990). Yapılan çalışmalarda serbest radikallere ve ROT'ne karşı folik asitin etkili olduğunu göstermektedir (Shalaby ve ark 2010; Singh ve ark 2011; Mohammadi ve ark 2012).

B6 ve B12 vitaminlerinin dualistik eksiklikleriyle birlikte FA, kanser, diyabet, kardiyovasküler bozukluklar ve Alzheimer hastalığı gibi çeşitli kronik dejeneratif hastalıkların patogenezinde etiyolojik faktör olarak ve serbest radikallerin başlattığı oksidatif ve nitroztatif stres olarak kabul edilmiştir ve ortaya çıkan bu kronik dejeneratif hastalıkların temel nedenidir (Kim, 1990; Trachootham ve ark, 2008). Joshi ve ark (2001) FA'in $CCl_3O_2^{\bullet}$ (peroksil radikal modeli) ile $O_2^{\bullet-}$ ve $OH^{\bullet}$ gibi oksidan türlerle doğrudan reaksiyonunu araştırmışlardır (reaksiyonu hızlandırmaktadır) ve serbest radikal temizleyici özelliklere sahip olabileceğini gösteren ilk makaleyi bildirmişlerdir. Ayrıca, FA'in, $OH^{\bullet}$ oluşumunu baskılamak için dolaylı olarak katkıda bulunabilecek bir fenton modülatörü görevi görebileceğini de göstermiştir ve çeşitli serbest radikalleri etkili bir şekilde temizleme kabiliyetine dayanan bir antioksidan olduğu sonucuna varmışlardır (Patro ve ark, 2006).

FA eksikliğinde, homosisteinin remetilasyonu engellenebilir. Bu arada, homosisteinin ve serin ile vitamin B6'ya bağımlı bir *sistatinyonin P-sentaz* oluşturmak için homosistein ve serinin konjugasyonunu içeren transsulfürasyon reaksiyonunun başarısızlığı, çeşitli ROT'nin aşırı üretimine yol açan homosistein birikimine neden olacaktır (Huang ve ark, 2001; Hsu ve ark, 2013).

En önemlisi FA'in GSH biyosentezini düzenleyen, GSH taşıma sistemini etkileyen ve mitokondriyal GRx aracılı mitokondriyal GSH geri dönüşüm süreci için gerekli olan GSH/GSSG ve NADPH/NADP⁺ dahil olmak üzere hücre içi redoks çiftlerini modüle eden mitokondriyal redoks homeostazında önemli bir efektör olduğunu göstermiştir. Bu verilere dayanarak, FA'in mükemmel bir redoks regülatörü olduğu sonucuna varılmıştır (Kun-Goung ve ark, 2017).

Sonuç olarak, FA'in ROT ile mücadelede yeni bir rol oynayan temel bir mikro besin olduğu fikrini güçlendirmek için literatüre yeni veriler eklenmiştir. Bu nedenle ROT'nin çöktürücü proteinlerinin yeniden düzenlenmesi ve redoks homeostazının uygun şekilde düzenlenmesi yoluyla GSH biyosentezi, GSH taşıma sistemi ve mitokondriyal GSH geri

dönüşüm için doğru şekilde düzenlenmesi ve mitokondriyal GSH tükenmesinin önlenmesi yoluyla bir redoks regülatörü görevi görmektedir (Kun-Goung ve ark, 2017).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Cihazlar

Çalışmada spektrofotometre (Shimadzu UV-1601), buzdolabı/derin dondurucu (Samsung RL62ZBSW), distile su cihazı (Nüve NS 112), etüv (Nüve FN 500), vortex (Nüve NM 110), ısıtmalı manyetik karıştırıcı (Nüve MK 418), teflon başlıklı homojenizatör cihazı (IKA Overhead Stirrer), santrifüj cihazı (Hettich Micro 200R), su banyosu (Memmit WNB10), digital pHmetre (Denver 225), inkubatör (Nüve ES 110), terazi (Shimadzu EB-2200 HU), hassas terazi (Shimadzu AX120), mikropipetler (Eppendorf 10 µl, 10-100 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl, 1000-5000 µl), balon joje (Isolab 10, 25, 50, 100 ml), farklı boyutlarda deney tüpü (Isolab 5, 10, 15 ml), beher glas (Isolab 10, 25, 50, 100 ml) ve cerrahi eldiveninden (Beybi) kullanıldı ve Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı imkanlarından yararlanıldı. Bununla birlikte dokuların saklama işlemi için de ADÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda bulunan -80 °C'den (NU 9668E, Nuaire, Japonya) yararlanıldı.

Deneyisel çalışma kapsamında ratlardan alınan kan, karaciğer ve böbrek dokuları biyokimyasal enzim testleri için Prestige 24İ cihazından yararlanıldı ve kit olarak da Cormay-Chronolab kullanıldı. İgili testlerin analizi hizmet satın alınarak İzmir İlinde özel bir firmada yaptırıldı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışma kapsamında parasetamol (Sigma A7085), folik asit (Sigma A7250), N-asetil sistein (Sigma F7876), PBS (Sigma P4417), EDTA (Sigma EDS-500G), meta fosforik asit (Merck 1.00546), NaCl (Sigma S9625), Na₂HPO₄ (Sigma-Aldrich-S9763), KH₂PO₄ (Sigma-Aldrich-04243), HTAB (Sigma H9151), Na₂HPO₄·2H₂O (Sigma-Aldrich 71643), H₂O₂ (Merck 1.08597), ksantin oksidaz (Sigma X1875), EDTA (Sigma E 5134), ksantin (Sigma x0626), Na₂CO₃ (Sigma-Aldrich S7795), CuCl₂ (Sigma-Aldrich A 7906), NBT (Sigma-Aldrich N6876), etanol (Merck 1.11727), kloroform (Sigma-Aldrich 24216), NaOH (Sigma-

Aldrich 06203), HCl (Carlo Erba Reagent 302626), TBA (Sigma-Aldrich S74258-149), TCA (Sigma-Aldrich 27242), DTNB (Sigma D8130) ve sodyum sitrat (Sigma-Aldrich S4641) kullanıldı.

3.1.3. Hayvan Materyali

Çalışmada kullanılan ve ağırlıkları 291-307 g arasında değişen 5 aylık 40 adet dişi *Sprague dawley* rat kullanıldı. Deneysel çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 22.05.2017 tarih ve 2017/041 sayılı onayı ile gerçekleştirildi. Ratlar, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edildi. Ratları seçerken sağlıklı olmalarına ve öncesinde hiçbir çalışmada kullanılmamış olmasına özen gösterildi. Ratlar, 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta 22-24 °C oda sıcaklığında kalacak şekilde şeffaf kafeslerde tutuldu (Resim 1). Ratlara çalışma süresince standart rat yemi ve çeşme suyu *ad libitum* verildi. Ratlar rastgele 5 gruba ayrıldı (n=8). Deneysel gruplar kontrol, parasetamol, folik asit, parasetamol+folik asit, parasetamol+ N-asetil sistein olacak şekilde adlandırıldı. Ratların 2 hafta öncesinden ortama adaptasyonu sağlandı ve kimyasal maddelerin gavajla ne kadar uygulanacağını hesaplanabilmesi için, ratlar bireysel olarak tartılıp pikrik asitle boyandı.



Resim 1. Araştırma kapsamında kullanılan *Sprague dawley* ratlar ve deneysel gruplar (n=8).

Çalışma süresinin 1 gün olarak belirlendiği tez kapsamında ratlara oral gavaj (16G, Harvard Apparatus) yoluyla ilaç uygulaması yapıldı. Kontrol grubundaki ratlara, diğer gruplarda oluşturulacak deneysel parasetamol toksikasyonunun karaciğer ve böbrekteki etkilerini karşılaştırabilmek için sadece % 0.9 NaCl verildi. Parasetamolün toksik etkilerinin araştırıldığı parasetamol uygulanan gruplardaki ratlara 3 g/kg/gün dozunda parasetamol verildi. Folik asit grubuna yalnızca 20 mg/kg/gün dozda folik asit verildi. Parasetamolün toksik etkilerini önlemek amacıyla parasetamol+folik asit grubundaki ratlara 20 mg/kg/gün dozda folik asit ve Parasetamol+N-asetil sistein grubundaki ratlara verilecek olan N-asetil sistein ise 150 mg/kg/gün dozlarında verildi (Şener ve ark, 2003; Yousef ve ark, 2010; Mohammadi ve ark, 2012; Sudheesh ve ark, 2013; Mahmoud ve Mahmoud, 2016). Gruplardaki folik asit ile N-asetil sistein uygulaması, parasetamol uygulamasından 1.5 saat sonra oral gavaj yoluyla uygulandı (Resim 2).



Resim 2. Ratlara gavajla ilaç uygulanmasına ait görüntü.

İlaç uygulamasından 24 saat sonra 5 mg/kg ksilazin (Atafen Alfazyne %2, Alfason) ve 50 mg/kg ketamin (Alfamine %10) anestezisi altında kardiyak punksiyon yöntemiyle kalpten kan alınarak, oksidan ve antioksidan parametreler ile biyokimyasal analizler için serum/plazma tüplerine aktarıldı ve ratlar daha sonra servikal dislokasyon ile uyutuldu. Karaciğer ve böbrek dokusu örneklerinde oksidan ve antioksidan parametre analizi için ratlar

disseke edildi. Alınan serum/plazma ile doku numuneleri terazide tartılarak analizleri yapılınca kadar -80 °C'ye kaldırıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kanda Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin Analizi

3.2.1.1. Total protein analizi

Bu analiz oksidan/antioksidan parametreleri hesaplamak için kullanılan ara parametredir. Biüret yöntemine göre Archem Diagnostics A 2300, marka total protein kiti kullanılarak analiz işlemi gerçekleştirildi. Ependorfların içine herbir numune için kit içersindeki ayraçtan 1 ml aktarıldı. Vorteks işlemi gerçekleştirdiğimiz serum örneklerinden herbir ependorfa 10 µl eklendi. Spektrofotometrik okuma işlemini gerçekleştirebilmek için 1 adet standart ile 2 adet kör hazırlandı. Standart için 1 ml ayraç ve 10 µl kit içersinde standart, kör numuneler için ise 1 ml ayraç ve 10 µl distile su eklendi. Vorteksledikten sonra tüm tüpler 30 °C ve 10 dk süre inkubatöre bırakıldı. Daha sonra spektrofotmetrede kuvartz kuvetlerde (100 QS-10.00 mm, Hellma) köre karşı 546 nm dalga boyunda okuma işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar mg/ml protein olarak ifade edildi. Aynı işlem doku homojenizatlarından elde edilen süpernatantlar için de gerçekleştirildi.

3.2.1.2. Hemoglobin analizi

GSH seviyesi ve CAT aktivitesi için Fairbranks ve Klee'ye (1999) göre EDTA'lı kandan hemoglobin analizi gerçekleştirildi. Bu amaçla EDTA'lı tüplere alınan 1 ml'lik kan numuneleri 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Tüpün dibinde kalan eritrositler başka tüplere aktarıldı ve PBS ile pastör pipeti yardımıyla 3 kez yıkandı. Her yıkama işleminin ardından 3000 rpm'de 5'er dk santrifüj edildi. Son yıkama ve santrifüj işleminin ardından dipte bulunan eritrositlerden 0,4 ml alınıp eppendorflara aktarıldı. Üzerine 0,4 ml PBS eklenerek analiz edilmeye kadar -20 °C'de saklandı.

Analiz işlemlerine başlamak için Drapkin çözeltisi hazırlandı. Bu çözelti için 0,198 g $K_3Fe(CN)_6$, 0,052 g KCN ve 1 g $NaHCO_3$ balon jojeye kondu ve üzerine distile su ilave edilerek 1 litreye tamamlandı. Örnek tüpe 5 ml Drapkin çözeltisi konulduktan sonra 20 µl hemolizat eklendi ve karıştırıldı. Hazırladığımız karışım 10 dk oda sıcaklığında bekletildikten

sonra Drapkin çözeltisi spektrofotometrede kör olarak kullanıldı ve 540 nm dalga boyunda okundu. Elde edilen analiz sonuçları g/100 ml hemoglobin olarak ifade edildi.

3.2.1.3. GSH analizi

GSH analizi Beutler ve ark'nın (1963) yöntemine göre gerçekleştirildi.

EDTA'lı tüplere alınan kan numunelerinden sonra reaktif 1 (presipitasyon solüsyonu) hazırlandı. Reaktif 1 hazırlamak için 1,67 g glacial metafosforik asit, 0,2 g disodyum EDTA ve 30 g NaCl hassas terazide tartıldıktan sonra üzerine 100 ml distile su ilave edildi. Bu aşamadan sonra analiz edilinceye kadar -80 °C 'de saklandı.

Analiz işlemlerine başlamadan önce -80 °C 'den alınan presipitasyon solüsyonu ekli olan eppendorflar vortexlendi. Reaktif 2 hazırlamak için 8,51 g Na₂HPO₄'a karşılık 200 ml distile su eklendi. Reaktif 3 hazırlamak için ise 40 mg DTNB ve 1 g sodyum sitrat tartıldıktan sonra 100 ml distile su eklendi.

Cam tüplere süpernatanttan 500 µl alındı üzerine 2 ml reaktif 2 ve 250 µl reaktif 3 eklendikten sonra vorteksleme işlemi gerçekleştirildi. Spektrofotometrede distile suyla absorbans sıfırlanarak, küvete koyulan örnek 412 nm dalga boyunda suya karşı okundu. Elde edilen analiz sonuçları mM/g Hb biriminden ifade edildi.

3.2.1.4. Katalaz (CAT) analizi

Katalaz aktivitesi Aebi (1984) tarafından tarif edilen yönteme göre ölçüldü. Analiz aşamasına geçmeden önce tampon A ve tampon B (Tampon A:B= 1:1,5 olacak şekilde) karıştırıldı. Tampon A hazırlamak için 6,81 g KH₂PO₄ üzerine distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Tampon B hazırlamak için ise 8.90 g Na₂HPO₄·2H₂O üzerine distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. H₂O₂ tamponu hazırlamak için 25 ml Tampon A+B karışımı üzerine 85 µl % 30'luk H₂O₂ eklenerek hazırlandı.

Kör, standart ve numune tüpleri analiz için hazırlandı. EDTA'lı tüplere alınan kandan 1 ml cam tüplere aktarıldı. Üzerine 1 ml soğuk serum fizyolojik eklenerek hücreler yıkandı ve 2300 rpm'de +4 °C'de 10 dk santrifüj edildikten sonra soğuk serum fizyolojik döküldü. Bu işlem sonunda elde kalan numuneden 200 µl eritrosit üzerine 800 µl distile su (hemolizat) ilave edildi. Cam tüpe 10 ml tampon A+B konuldu ve üzerine 10 µl hemolizat eklendi. 1. cam tüpe (numune) 2 ml hazırlanan karışım eklendikten sonra 1 ml H₂O₂ tamponu eklendi (H₂O₂ tamponu 25 ml Tampon A+B karışımı ve 85 µl % 30'luk H₂O₂ içermektedir) ve 2. cam

tüpe (blank) ise 2 ml hazırlanan karışım eklendikten sonra 1 ml tampon A+B eklendi ve sonuçlar 240 nm'de 20 °C'de 15 sn'de bir spektrofotometrede kuartz küvetlerde kaydedildi. Elde edilen absorbans kaydedildi ve CAT konsantrasyonu U/g Hb olarak ölçüldü.

3.2.1.5. SOD analizi

Serum SOD aktivitesi Sun ve ark'nın (1988) yöntemine göre ölçüldü.

Serum SOD tayini için doku SOD enzim aktivitesinde hazırlanan reaktif karışımı kullanıldı. Numune sayısı kadar (n=40) 0.5 ml serum üzerine 250 µl etanol (%99.9) ve 150 µl kloroform ilave edildi ve vortekslenerek, +4 °C'de 12000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Cam tüplere 1225 µl reaktif karışımı ve bunun üzerine 250 µl numune ilave edildi. Ayrıca kör deneyi için de 1225 µl reaktif karışımının üzerine 250 µl distile su eklendi. Vortekleme işlemini yaptığımız tüplerin üzerine 25 µl ksantin oksidaz ilave edilerek 25 °C'de 20 dk süreyle su banyosunda bekletildi. Sonrasında 0.5 ml CuCl₂ ilave edilerek spektrofotometrede önce distile suya karşı körler okunarak absorbansı sıfırlandı. Daha sonra numuneler kuartz kuvetlerde köre karşı 560 nm dalga boyunda okundu ve elde edilen sonuçlar U/mg doku protein olarak gösterildi.

3.2.1.6. MDA analizi

Serum MDA tayini Yoshioka ve arkadaşları (1979) tarafından tarif edilen yöntemle göre ölçüldü. Kapaklı cam tüplere 500 µl TBA (%0.67'lik), 1250 µl TCA (%20'lik) ve 250 µl numune eklendi. 95 °C'de 30 dk kaynatıldı. Bu işlemin ardından buz dolu kapta soğutularak üzerine 1 ml n-Butanol eklenerek vortexlendi. Ardından 3000 rpm de 10 dk süreyle santrifüj edildi. Üstteki tabakası havaya karşı 535 nm'de okundu ve elde edilen sonuçlar absorbans katsayısı (E=1.56x10⁵/M/cm) ile çarpılarak nmol/mg protein şeklinde ifade edildi.

3.2.2. Aspartat amino transferaz (AST), Alanin amino transferaz (ALT), Alkalen fosfataz (ALP), Gama glutamil transferaz (GGT), Üre ve Kreatinin analizi

Karaciğer ve böbrek enzim testleri hizmet alımı yapılarak, Prestige İ24 cihazında Cormay-Chronolab kitinde analiz edildi. Karaciğer enzimleri olan AST, ALT, ALP U/L ve böbrek enzimlerinden olan GGT, U/L üre ve kreatinin ise mg/dl olarak ifade edildi.

3.2.3. Karaciğer ve Böbrek Dokusu Oksidan ve Antioksidan Parametrelerin analizi

3.2.3.1. Dokuların homojenizasyonu

Ötenazi işlemini takiben antioksidan parametreler olan GSH, SOD, CAT ve oksidan parametre olan MDA analizleri için; karaciğer ve böbrek dokularından 0.5 g'lık hep aynı yerden örnek alınarak, MPO analizi için ise aynı şekilde 0.2 g örnek alınarak hassas terazide tartıldı. Doku örnekleri petri kabında yıkama işlemine tabi tutulduktan sonra kurutma kağıdına bırakıldı. Doku homojenizasyonda gerekli olan 150 mM'lık fosfat tamponu hazırlandı. Bu amaçla PBS 1'den 10.64 g Na_2HPO_4 ile 4.38 g NaCl ayrı ayrı tartıldı ve distile su ilavesiyle 500 ml'ye tamamlandı. PBS 2 için ise 10,20 g KH_2PO_4 ve 4.38 g NaCl ayrı ayrı tartıldı ve distile su ilavesiyle 500 ml'ye tamamlanarak, 1. solüsyona 2. solüsyondan pH 7.4 olana kadar ilave edilerek hazırlandı. % 10'luk 150 mM fosfat tampon GSH, SOD, CAT ve MDA analizi için, MPO analizi için ise % 0.5'lik 50 mM (pH 6.0) potasyum fosfat homojenizat tamponu kullanıldı. MPO homojenizat tamponu için 1.02 g KH_2PO_4 , 0.75 g HTAB (hekzadesil trimetil amonyum bromid) ve 125 ml distile su ilavesinden sonra NaOH varlığında pH 6'ya getirildi ve solüsyonun toplam miktarı 150 ml oluncaya kadar distile su eklendi. Homojenizat tüpleri herbir numune için distile su ile yıkanıp içinde distile su ya da doku artığı kalmaması sağlandı. Doku örnekleri homojenizat tüpünün içinde buzlu su dolu kap içerisinde 2000 rpm'de birkaç dk homojenize edilerek eppendorflara aktarıldı ve 12000 rpm'de 10 dk +4 °C'de santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj sonrası üstte kalan süpernatantlar otomatik pipet aracılığıyla eppendorflara aktarıldı ve analiz edilinceye kadar -80 °C'de saklandı.

3.2.3.2. Süperoksit dismutaz (SOD) analizi

SOD aktivitesi Sun ve ark'nın (1988) metoduna göre ölçüldü. SOD analizi prensip olarak, reaksiyon ortamında enzimatik bir reaksiyonla açığa çıkan $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikallerinin nitro blue tetrazolium ile tepkimeye girerek indirgenmesi ve numunede bulunan SOD vasıtasıyla engellenmesi teorisine dayanır. Bu prensipe göre süperoksit radikallerinin üretimi oluşturulur. Açığa çıkan süperoksit radikalleri nitroblue tetrazolium (NBT)'la tepkimeye girerek süperoksit radikallerini redüklemesi sonucunda, maksimum absorbansını 560 nm'de veren formazon oluşturur. SOD enzimi ortamdaki $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikallerini H_2O_2 'e dönüştürerek formazon oluşumunu azaltır ve bu azalmaya bağlı olarak absorbans da azalmış olur.

SOD enzim aktivitesi tayininde reaktif karışımı için hazırlanan çözeltilerden, 20 ml 10 kat sulandırılmış olan ksantin stok çözeltisi, 10 ml EDTA, 10 ml NBT, 6 ml Na₂CO₃, 3 ml sıgır albümini eklenip karıştırıldı ve toplamda 49 ml reaktif karışımı elde edildi. Süpernatantlardan otomatik pipet yardımıyla eppendorflara 0.5 ml doku homojenizatu aktararak üzerine 250 µl etanol (%99.9) ve 150 µl kloroform ilave edildi ve karışım vorteksenerek, +4 °C’de 12000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Cam tüplere 1225 µl reaktif karışımı ve bunun üzerine 250 µl numune ilave edildi. Ayrıca kör deneyi için de 1225 µl reaktif karışımının üzerine de 250 µl distile su eklendi. Vortekleme işlemini yaptığımız tüplerin üzerine 25 µl ksantin oksidaz ilave edilerek 25 °C’de 20 dk süreyle su banyosunda bekletildi. Sonrasında 0.5 ml CuCl₂ ilave edilerek spektrofotometre cihazında önce distile suya karşı körler okunarak absorbansı sıfırlandı. Daha sonra numuneler kuartz kuvetlerde köre karşı 560 nm dalga boyunda okundu ve elde edilen sonuçlar U/mg doku protein olarak gösterildi.

3.2.3.3. Katalaz (CAT) analizi

Katalaz aktivitesi Luck’un (1965) belirttiği metoda göre ölçüldü. Dokuların CAT aktivitesi büyük ölçüde değişkenlik gösterir; karaciğer ve böbreklerde en yüksekken, bu ölçü bağ dokusunda, beyin ve kalpte düşüktür. CAT enzim aktivitesi, H₂O₂’in ayrışması veya O₂’nin serbest bırakılması ile ölçülebilir. Fosfat tampon içinde bulunan H₂O₂’in numunede bulunan CAT enzimi varlığında yıkılması sonucunda, serbest radikalın 240 nm’de neden olduğu absorbansta azalma oluşur ve bu oluşan azalma hızı CAT enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır.

CAT enzimi aktivitesi tayininde fosfat tamponu (1/15 milimol/L; pH.7.0) için; KH₂PO₄’den 3.522 g ve Na₂HPO₄·2H₂O’den 7.268 g hassas terazide tartılarak distile suda çözündürüldü ve 1 L’ye tamamlandı. Daha sonra pH’sı HCl ile 7.0’a ayarlandı. Fosfat tamponunda H₂O₂ çözeltisi % 30’luk H₂O₂ çözeltisinden 0.16 ml alındı ve daha önce hazırlamış olduğumuz fosfat tamponun 100 ml’sinde seyreltilme işlemi gerçekleştirildi. Hazırlanan çözelti karışımının 240 nm’deki absorbansının 0.5 olması sağlandı. Absorbans 0.5’den daha düşük olduğu durumlarda küçük miktarlarda H₂O₂ ilave edilerek absorbansın 0.5 olması sağlandı. Kör deney için quartz küvete 2.95 ml fosfat tamponu üzerine 50 µl numune kondu ve spektrofotometre kör deney küvetine göre sıfırlandı ve bu işlemler 20 °C’de gerçekleştirildi. Diğer quartz küvete de 2.95 ml fosfat tampon içinde hazırlanmış olan H₂O₂ çözeltisinden eklenerek üzerine 50 µl numune kondu ve spektrofotometreye yerleştirildi. Bir

dakika boyunca 240 nm’de absorbansta azalma kaydedilerek, elde edilen değerler k/mg doku protein olarak ifade edildi.

3.2.3.4. İndirgenmiş glutatyon (GSH) analizi

GSH analizinin prensibi ortamındaki disülfıt kromojen olan DNTB (5,5’ditiyobis, 2-nitrobenzoik asit) ile sülfidril grulu bileşikler tarafından oluşturulan reaksiyon esasına dayanır. GSH oluşan bu kompleksi katalize eder ve elde edilen rengin yoğunluğu ile GSH aktivitesi doğru orantılıdır. GSH seviyesinin analizi spektrofotometrede Tietze (1969) tarafından bildirilen yönteme göre yapıldı. Kır ve numune tüpleri analiz için hazırlandı.

Reaktif 1 (presipitasyon solüsyonu), 100 ml distile su içerisinde glacial metafosforik asit 1.67 g, disodyum EDTA 0.2 g ve NaCl 30 g hassas terazide tartıldı. Reaktif 2 (fosfat tampon), 1000 ml distile su içerisinde 42.59 g Na_2HPO_4 tartıldı ve +4°C’de stabilize edildi. Reaktif 3; 100 ml distile su içersinde 40 mg DTNB ve 1.13 g tribasik dihidrat tartıldı.

5 ml’lik cam tüplerine 0.1 ml süpernatant, üzerine 0.9 ml distile su ve 1.5 ml presipitasyon çözeltisi (R1), kır tüplere ise 1 ml distile su ve 1,5 ml presipitasyon çözeltisi eklendikten sonra vortexlendi, 5 dk beklendi ve süzöldü. Numune ve kır tüplerine 1 ml süzöntü, 4 ml fosfat tampon (R2) ve 0.5 ml DTNB (R3) eklendi ve 4 dk içinde 412 nm dalga boyunda, kırler ile sıfırlama yapılarak ve kırre karşı standart ve numuneler spektrofotometrede okundu. Elde edilen sonuçlar mg/g doku protein olarak hesaplandı.

3.2.3.5. Malondialdehit (MDA) analizi

MDA analizi, hücre membranındaki serbest radikallerin oluşturduğu LPO’nun en önemli ürünü ve oldukça reaktif aldehitlerden biri olan MDA seviyesini tespit etmek için kullanılan bir yöntemdir. MDA analizi Ohkawa ve ark (1979) yöntemine göre MDA’nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile asitik ortamda oluşturduğu rengin 532 nm’de optik dansitesinin ölçölmesi esasına dayanmaktadır.

Reaktif stok solüsyonunu hazırlamak için 2.07 g % 30’luk HCl, 0.37 g TBA ve 15 g triklorasetikasit (TCA) hassas terazide tartıldı ve üzerine distile su ilave edilerek 100 ml’ye tamamlandı. Kapaklı cam tüplere vortexlenen numunelerden 750 µl süpernatant ile üzerine 1500 µl (stok karışımı) aktarılarak 100 °C’de 20 dk kaynatıldı, buzlu suda soğutulularak 3000 rpm’de 10 dk santrifüj edilerek üstte kalan süpernatantlar 532 nm dalga boyunda havaya karşı okundu ve sonuçlar nmol/mg protein olarak verildi.

3.2.3.6. Myeloperoksidaz (MPO) analizi

MPO enzim aktivitesi Bradley ve ark'nın (1982) yöntemine göre ölçüldü. MPO enzimi dokuların oksidan konumunu etkileyen nötrofil infiltrasyon indeksi olarak bilinmektedir (Kettle ve Winterbourn, 1997). Nötrofil lökositlerinde bol miktarda bulunur ve yangılı dokularda nötrofil birikiminin göstergesi olarak kabul edilmektedir (MacNaughton ve ark, 1997). MPO tarafından oksitlenen H_2O_2 'nin O-dianisidinhidroklorid ile indirgenmesi ve bu indirgenmiş ürünün 460 nm'de absorbansının ölçülmesi prensibi temel alınarak yapıldı.

Homojenizat tamponu (50 mM potasyum fosfat tampon) hazırlamak için 1.02 g KH_2PO_4 ve 0.75 g HTAB (hekzadesil trimetil amonyum bromid) hassas terazide tartıldı ve 125 ml distile su ilave edilerek pH 6'ya getirildi ve 150 ml distile suya tamamlandı. Ölçüm tamponu (45 ml) hazırlamak için 7.5 mg o-dianisidine-HCl ve 0.3062 g KH_2PO_4 terazide tartıldı. %0.0005'lik H_2O_2 hazırlamak için, 500 ml distile su içerisine 83,3 μ l % 30'luk H_2O_2 eklendi ve 4,5 ml alındı. Daha sonra her üçü 40 ml distile suda çözündürülerek pH 6'ya ayarlandı ve 45 ml'ye tamamlandı.

Spektrofotometre 460 nm dalga boyuna ayarlandı ve kör ile sıfırlama yapıldıktan sonra köre karşı okuma gerçekleştirildi. Bu amaçla, 3 ml'lik kuartz küvete; 2.8 ml ölçüm tamponu, 0.12 ml homojenizat tamponu ve 0.12 ml doku homojenizatı ilave edildi ve kör küvete ise 2.8 ml ölçüm tamponu 0.12 ml homojenizat tamponu ve 0.12 ml distile su ilave edildikten sonra 30 sn aralıklarla 3 dk boyunca köre karşı okuma gerçekleştirildi. Absorbans artışı köre karşı kayıt edildi ve sonuçlar mmol/dk/mg doku protein olarak hesaplandı.

3.2.4. İstatiksel Değerlendirme

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi amacıyla SPSS (Statistical Packag for Social Sciences) for Windows 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen gruplar arası farklılık Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren gruplar arası farklılık ise tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile yapıldı. Deneysel grupların çalışma başlangıç ve sonundaki canlı ağırlıklarının istatistiksel değerlendirilmesinde Wilcoxon testinden yararlanıldı. Yapılan istatistiksel analizlerden elde edilen sonuçlardan $p < 0.05$ olan değerler önemli kabul edildi. Tüm veriler ortalama ve $\pm$ standart hata olarak verildi.

4. BULGULAR

4.1. Canlı Ağırlık

Çalışmaya başlamadan iki hafta önce ortama adaptasyonu sağlanan ratlardan oluşturulan deney gruplarında, çalışma öncesi canlı ağırlıklar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Deneysel gruplar çalışma başlangıcında ve sonrasında canlı ağırlıklar açısından birbirleriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 2). Ayrıca her bir grubun çalışma öncesi ve sonrası canlı ağırlıkları karşılaştırıldığında da parasetamol verilen gruplarda canlı ağırlıklar azalmasına rağmen sadece parasetamol ve parasetamol+folik asit gruplarında anlamlı bir fark elde edildi ($P=0.012$), diğer deneysel gruplarda ise anlamlı bir fark olmadığı belirlendi.

Tablo 2. Deneysel gruplara ait çalışma öncesi ve sonrası ortalama canlı ağırlıklar (g).

Gruplar	Çalışma başlangıcında canlı ağırlıklar	Çalışma sonunda canlı ağırlıklar	P
Kontrol	305,62 ± 7,98	306,75 ± 8,44	AD
Parasetamol	307,50 ± 6,54	293,50 ± 7,03	0,012
Folik asit	306,25 ± 16,76	307,50 ± 17,26	AD
Parasetamol+Folik asit	300,00 ± 8,81	289,75 ± 9,70	0,012
Parasetamol+ N-asetil sistein	291,25 ± 6,66	285,25 ± 6,88	AD
P	AD	AD	

AD, Anlamlı değil.

4.2. Karaciğer ve Böbrek Dokusu Ağırlıkları

Deneysel gruplar karaciğer ve böbrek ağırlıkları açısından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde deneysel gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (Tablo 3). Fakat sadece karaciğer dokusunda kontrol ve parasetamol grubu ($P=0.037$) ile parasetamol ve folik asit grubu ($P=0.014$) arasında anlamlı bir fark olduğu belirlendi. Sol ve sağ böbrek dokularında ise sadece kontrol ve parasetamol+N-asetil sistein grupları arasında sırasıyla $P=0.048$ ve $P=0.018$ düzeyinde anlamlı fark bulundu.

Tablo 3. Deneysel gruplara ait iç organ ağırlıkları (g).

Gruplar	Karaciğer	Böbrek (sol)	Böbrek (sağ)
Kontrol	9,43 ± 0,45	1,21 ± 0,05	1,04 ± 0,15
Parasetamol	10,73 ± 0,40	1,41 ± 0,10	1,35 ± 0,07
Folik asit	9,14 ± 0,52	1,25 ± 0,07	1,28 ± 0,07
Parasetamol+Folik asit	10,19 ± 0,38	1,34 ± 0,06	1,25 ± 0,03
Parasetamol+N-asetil sistein	10,19 ± 0,45	1,40 ± 0,05	1,35 ± 0,05
P	AD	AD	AD

AD, Anlamlı değil.

4.3. Serum Biyokimyasal Parametre Analizlerine ait Bulgular

Serum biyokimyasal parametre düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol ve folik asit gruplarında ALT (P=0,001), AST (P=0,001), ALP (P=0,001), kreatinin (P=0,003) ve GGT (P=0,025) seviyelerinin anlamlı olarak düşük olduğu belirlendi. Parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında AST, ALP seviyelerinin parasetamol+folik asit ile parasetamol+N-asetil sistein gruplarında istatistiksel yönden anlamlı bir fark olmadığı görüldü. ALT seviyesinin parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında parasetamol+folik asit ile parasetamol+N-asetil sistein gruplarında istatistiksel olarak düşük olduğu belirlendi. Deneysel gruplar kreatinin yönünden değerlendirildiğinde kontrol, folik asit, parasetamol+folik asit ile parasetamol+N-asetil sistein gruplarında parasetamole göre istatistiksel olarak düşük olduğu ve bu gruplar arasında folik asit grubu hariç istatistiksel yönden anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. Üre seviyesinin kontrol grubunda, hem parasetamol+folik asit hem de parasetamol+N-asetil sistein grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu (P=0,011) ve parasetamol ile folik asit grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. Parasetamol grubuyla karşılaştırıldığında, GGT seviyesinin parasetamol+folik asit ile parasetamol+N-asetil sistein gruplarında anlamlı olarak düşük olduğu görüldü. Deneysel gruplara ait serum biyokimyasal parametre analizlerine ait sonuçlar Tablo 4.'te gösterilmiştir.

4.4. Oksidan ve Antioksidan Parametre Analizlerine ait Bulgular

Serum ve plazmaya ait antioksidan ve oksidan parametreler değerlendirildiğinde, kontrol ve folik asit grubunda GSH seviyesi ile CAT ve SOD aktivitelerinin anlamlı olarak yüksek, MDA seviyesinin ise anlamlı olarak düşük olduğu ($P=0,001$) ve her iki grup arasında SOD aktivitesi hariç anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. Plazma GSH seviyesi ile CAT aktivitesinin parasetamol grubunda yüksek ve parasetamol+folik asit ve parasetamol+N-asetil sistein grupları ile arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Parasetamol grubuyla karşılaştırıldığında serum SOD aktivitesinin parasetamol+folik asit ve parasetamol+N-asetil sistein gruplarında anlamlı olarak yüksek olduğu ve her iki grup arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. Deneysel gruplar serum MDA seviyesi bakımından değerlendirildiğinde parasetamol grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek olduğu ($P=0,001$) ve parasetamol+folik asit ile parasetamol+N-asetil sistein grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Serum ve plazma örneklerine ait oksidan ve antioksidan parametre sonuçları Tablo 5.'te gösterilmiştir.

Karaciğer dokusuna ait antioksidan ve oksidan parametreler istatistiksel yönden değerlendirildiğinde, parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda SOD ve CAT aktiviteleri ile GSH seviyesinin anlamlı olarak yüksek, MDA seviyesinin ve MPO aktivitesinin ise anlamlı olarak düşük olduğu belirlendi. SOD ve CAT aktivitesi ile GSH seviyesinin parasetamol grubuna göre hem parasetamol+folik asit hem de parasetamol+N-asetil sistein grubunda istatistiksel olarak yüksek olduğu görüldü. Deneysel toksikasyon oluşturulmuş parasetamol grubu, GSH seviyesi yönünden değerlendirildiğinde folik asit grubunun anlamlı olarak yüksek olduğu ($P=0,001$) ve kontrol ile parasetamol+N-asetil sistein grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. MDA seviyesinin folik asit ve parasetamol+folik asit gruplarında parasetamol+N-asetil sistein grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu görüldü. Kontrol grubuna göre MPO aktivitesi parasetamol grubunda anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi ($P=0,001$), fakat parasetamol ve parasetamol+folik asit ile parasetamol+N-asetil sistein grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($P<0,05$). Karaciğer dokusuna ait antioksidan ve oksidan parametre sonuçları Tablo 6.'da gösterilmiştir.

Böbrek dokusuna ait antioksidan ve oksidan parametreler istatistiksel yönden değerlendirildiğinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında parasetamol grubunda SOD ve CAT aktiviteleri ile GSH seviyesinin anlamlı olarak düşük, MDA seviyesi ile MPO aktivitesinin ise anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi ($P=0,001$). SOD ve CAT aktivitesinin hem parasetamol+N-asetil sistein hem de parasetamol+folik asit grubunda

parasetamol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu, hatta kontrol ve parasetamol+folik asit grubu arasında bir fark olmadığı belirlendi ($P<0,05$). GSH seviyesinin kontrol ve folik asit gruplarıyla karşılaştırıldığında parasetamol ve parasetamol+folik asit gruplarında anlamlı olarak düşük olduğu bulundu ($P=0,001$). Parasetamol grubuyla karşılaştırıldığında, MDA seviyesinin ve MPO aktivitesinin diğer deneysel gruplarda anlamlı olarak düşük olduğu ($P=0,001$). MDA seviyesi yönünden kontrol, folik asit ve parasetamol+N-asetil sistein grupları ve MPO aktivitesi yönünden folik asit, parasetamol+folik asit ve parasetamol+N-asetil sistein grupları arasında fark olmadığı belirlendi ($P>0,05$). Böbrek dokusuna ait antioksidan ve oksidan parametre sonuçları Tablo 7.'de gösterilmiştir.



Tablo 4. Deneysel gruplara ait serum biyokimyasal parametre düzeyleri.

Gruplar	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	Kreatinin (mg/dL)	Üre (mg/dL)	GGT (U/L)
Kontrol	54,50 ± 3,78 ^d	133,50 ± 11,70 ^b	124,50 ± 8,50 ^b	0,52 ± 0,03 ^b	45,12 ± 0,35 ^a	1,87 ± 0,12 ^c
Parasetamol	525,25 ± 91,64 ^a	481,50 ± 115,30 ^a	299,12 ± 33,30 ^a	0,98 ± 0,14 ^a	47,25 ± 2,92 ^{a,b}	8,75 ± 2,27 ^a
Folik asit	56,87 ± 2,53 ^d	155,25 ± 12,39 ^b	152,62 ± 10,63 ^b	0,42 ± 0,02 ^c	48,00 ± 1,62 ^{a,b}	1,87 ± 0,12 ^c
Parasetamol+Folik asit	200,37 ± 48,41 ^b	398,75 ± 46,01 ^a	259,87 ± 9,13 ^a	0,52 ± 0,02 ^b	42,00 ± 0,62 ^c	4,50 ± 1,05 ^b
Parasetamol+N-asetil sistein	103,37 ± 7,55 ^c	303,25 ± 25,60 ^a	241,12 ± 9,56 ^a	0,54 ± 0,07 ^b	42,75 ± 1,99 ^c	6,00 ± 1,89 ^b
P	0,001	0,001	0,001	0,003	0,011	0,025

ALT (Alanin aminotransferaz), AST (Aspartat aminotransferaz), ALP (Alkalen fosfataz), GGT (Gama glutamil transferaz).

^{a, b, c, d}; Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Tablo 5. Deneysel gruplara ait serum SOD ve plazma CAT aktiviteleri ile plazma GSH ve serum MDA seviyeleri.

Gruplar	SOD (U/mg protein)	CAT (U/g Hb)	GSH (µM/g Hb)	MDA (nmol/mg protein)
Kontrol	1,09 ± 0,02 ^b	0,99 ± 0,06 ^a	6,65 ± 0,36 ^a	1,10 ± 0,09 ^c
Parasetamol	0,66 ± 0,06 ^c	0,52 ± 0,04 ^b	2,93 ± 0,06 ^b	3,37 ± 0,27 ^a
Folk asit	1,41 ± 0,11 ^a	1,06 ± 0,07 ^a	6,20 ± 0,36 ^a	0,74 ± 0,07 ^c
Parasetamol+Folik asit	0,99 ± 0,03 ^b	0,51 ± 0,03 ^b	3,14 ± 0,11 ^b	1,63 ± 0,06 ^b
Parasetamol+N-asetil sistein	0,90 ± 0,04 ^b	0,52 ± 0,01 ^b	3,13 ± 0,15 ^b	1,60 ± 0,03 ^b
P	0,001	0,001	0,001	0,001

SOD (Süperoksit dismutaz), CAT (Katalaz), GSH (İndirgenmiş glutatyon), MDA (Malondialdehid).

^{a, b, c}; Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Tablo 6. Deneysel gruplara ait karaciğer oksidan ve antioksidan parametre düzeyleri.

Gruplar	SOD (U/mg protein)	GSH (mg/g protein)	CAT (k/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)	MPO (mmol/dk/mg protein)
Kontrol	3,68 ± 0,16 ^b	15,25 ± 0,87 ^{a,b}	7,06 ± 1,05 ^a	103,33 ± 1,73 ^c	76,94 ± 5,59 ^c
Parasetamol	1,40 ± 0,12 ^d	3,94 ± 0,79 ^c	4,62 ± 0,42 ^b	134,25 ± 3,66 ^a	115,28 ± 15,47 ^a
Folik asit	2,01 ± 0,09 ^c	18,05 ± 2,57 ^a	8,51 ± 0,49 ^a	106,39 ± 2,74 ^{b,c}	62,09 ± 3,62 ^d
Parasetamol+Folik asit	5,00 ± 0,19 ^a	13,72 ± 0,94 ^b	7,32 ± 0,89 ^a	113,51 ± 3,64 ^b	102,98 ± 7,76 ^{a,b}
Parasetamol+N-asetil sistein	5,05 ± 0,14 ^a	14,72 ± 0,86 ^{a,b}	8,15 ± 1,23 ^a	91,62 ± 2,84 ^d	82,87 ± 5,21 ^{a,b,c}
P	0,001	0,001	0,026	0,001	0,001

SOD (Süperoksit dismutaz), GSH (İndirgenmiş glutatyon), CAT (Katalaz), MDA (Malondialdehid), MPO (Myeloperoksidaz).

^{a, b, c, d}; Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Tablo 7. Deneysel gruplara ait böbrek oksidan ve antioksidan parametre düzeyleri.

Gruplar	SOD (U/mg protein)	GSH (mg/g protein)	CAT (k/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)	MPO (mmol/dk/mg protein)
Kontrol	5,77 ± 0,15 ^b	13,74 ± 0,53 ^a	2,12 ± 0,17 ^b	88,60 ± 5,03 ^c	40,37 ± 1,57 ^b
Parasetamol	4,59 ± 0,08 ^d	3,85 ± 0,48 ^c	0,97 ± 0,06 ^c	138,46 ± 7,04 ^a	61,19 ± 6,26 ^a
Folk asit	7,59 ± 0,26 ^a	13,21 ± 0,87 ^a	4,91 ± 1,02 ^a	94,69 ± 5,70 ^c	31,50 ± 2,09 ^c
Parasetamol+Folik asit	6,23 ± 0,22 ^b	4,45 ± 0,68 ^c	2,90 ± 0,26 ^b	111,53 ± 2,91 ^b	31,29 ± 2,33 ^c
Parasetamol+N-asetil sistein	5,22 ± 0,16 ^c	9,67 ± 0,81 ^b	2,95 ± 0,26 ^b	90,83 ± 2,28 ^c	34,60 ± 4,01 ^c
P	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

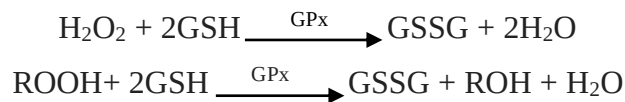
SOD (Süperoksit dismutaz), GSH (İndirgenmiş glutatyon), CAT (Katalaz), MDA (Malondialdehid), MPO (Myeloperoksidaz).

^{a, b, c, d}; Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Klinik olarak ilaçlar dahil olmak üzere birçok ksenobiyotik, metabolik aktivasyondan sonra yüksek derecede reaktif bileşiklerle hücresel hasara neden olabilir. Yaygın olarak kullanılan reçetesiz analjezik ve antipiretiklerden biri parasetamoldür. Bu ilaçla ilgili temel problem, hem insanlarda hem de deney hayvanlarında genellikle hepatik nekroza ve nefrotoksik etkilere yol açan yüksek dozlarının kasıtlı veya kasıtsız olarak alınması ile yanlış kullanımıdır (Bond ve ark, 2003). Bunun sonucunda hepatik GSH'nın tükenmesine bağlı olarak reaktif metabolit NAPQI'nın detoksifiye edilemeyen kısmı kovalent bağlanma yoluyla hücresel makromoleküllerle birleşebilir ve ROT oluşumuyla birlikte LPO'ya neden olarak, oksidatif stresle ilişkili karaciğer ve böbrek hasarına neden olur (Streeter ve ark, 1984).

Oksidatif stres parasetamol tarafından indüklenen hepatotoksisitede ana faktördür. Oksidatif stres ve bunun sonucu olarak LPO tüm canlı organizmalar için sürekli bir risktir ve serbest radikal zincir reaksiyonlarını şiddetlendirebilir. Enzimatik antioksidan sistemler LPO'na karşı doğal koruyuculardır. GPx, GSH ve yapısında tiyol bulunduran bileşiklerin lipid hidroperoksitlerin elimine edilmesinde önemli rol oynadıkları ve peroksidatif hasarı önledikleri bildirilmektedir (Karaca ve Sözbilir, 2007). GPx sitozolik bir enzimdir ve H₂O₂'i moleküler H₂O ve GSSG'a indirger, ayrıca hidroperoksitlerin redüksiyonunda rol oynamaktadır ve LPO'nun başlamasını ve gelişmesini önlemektedir.



Oluşan GSSG'un aktif hale geçebilmesi için tekrar indirgenmesi gerekmektedir. İndirgenmezse GSSG'un artışı oksidatif stres belirtecidir (Seven ve Candan, 1996).

Primer internal antioksidan koruma sistemi olarak CAT, GSH ve SOD oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtın aktivasyonunu ortadan kaldırmak veya azaltmak için önemli rol oynar. Oksidasyona neden olan koşullar, hücrelerdeki antioksidan savunmanın üstesinden geldiğinde oksidatif hasar oluşur (Marczin ve ark, 2003). Oksidatif stres ve LPO, parasetamolün hepatik metabolizması sırasında oluşan radikallerle ilgili olaylardır. Reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türleri doğrudan mitokondriyal DNA hasarına neden olur. Ayrıca, ROT'nin üretimi, birçok kimyasalın nefrotoksisiteyi indükleyebileceği bir mekanizma olarak düşünülmektedir.

(Somani ve ark, 2000; Ahmed ve ark, 2007). Jaeschke ve ark (2011) yaptıkları çalışmada oksidatif stresin, yüksek doz parasetamol uygulandıktan sonra hayvanların karaciğer mitokondrilerinde ROT düzeyindeki anlamlı artıştan kaynaklandığını kanıtlamışlardır.

Parasetamol toksisitesine bağlı olarak ortaya çıkan mitokondriyal oksidatif stres ve ONOO⁻ oluşumu, mitokondriyal disfonksiyona, ATP tükenmesine, artmış mitokondriyal geçirgenliğe ve hepatosellüler nekroza sebep olan DNA fragmentasyonuna yol açmaktadır. Parasetamol ayrıca, yüksek derecede toksik bir oksidan ve ayrıca tirozin nitrasyonuna yol açan artmış ONOO⁻ oluşumu ile birlikte NO ve O₂⁻ dahil olmak üzere çok sayıda sitokin ve sinyal molekülü sağlayan kuppfer hücrelerini de aktive eder (Jaeschke ve ark, 2011).

Antioksidanlar kendi elektronlarından birini vererek, elektron çalma reaksiyonlarını sonlandırarak, hücreleri ve dokuları sellüler hasardan ve buna bağlı oluşabilecek hastalıkları, ROT'ni nötralize ederek korurlar (Halliwell, 2005). Birçok bileşik parasetamol toksisitesine karşı koruyucu etkileri açısından test edilmiştir ve antioksidan özelliklere sahip olanlar özellikle ilgi çekicidir. Bunlar arasında vitaminler Vit E (Şener ve ark, 2003), Vit C (Abraham, 2005; El-Ridi ve Rahmy, 2005), Vit B1 (Uysal ve ark, 2015), Vit B12 (Farah ve ark, 2018), Vit C ve β gluklan (Matić ve ark, 2019) ile tıbbi bitkilerden *maritima ekstraktı* (Ahmed ve Khater, 2001), zencefil ekstraktı (Ajith ve ark, 2007), zerdeçal (Cekmen ve ark, 2009) ve silimarin (Bektur, 2012) vardır. Antioksidanların çok çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı kanıtlanmıştır. Esas olarak ROT'nin ve diğer serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı hücreleri ve dokuları korumaya yardımcı olurlar. Ayrıca, bağışıklık sistemini güçlendirir, karsinojen metabolizmasını değiştirir, hücre çoğalmasını değiştirir ve DNA hasarının onarılmasını uyarır (Barber ve Harris, 1994).

Deneysel parasetamol toksikasyonu oluşturulmuş ratlara koruyucu olarak alfa lipoik asit, alfa tokoferol, kurkumin, koenzim Q10, selenyum, vit E, vit B1, vit B3 gibi oksidatif hasarı koruyucu ajanların verildiği ve ilgili ajanların kan hücreleri ve karaciğer ile böbrek gibi organlara yönelik koruyucu etkinliğinin değerlendirildiği literatürler bulunmaktadır (Şener ve ark, 2003; Ahmed ve ark, 2007; Mokhtar ve ark, 2010; Amr ve Iyad, 2011; Sudheesh ve ark, 2013; Uysal ve ark, 2015; Yomna ve Asmaa, 2016; Kamal ve ark, 2017). Literatür araştırmalarında parasetamol ile deneysel toksikasyon oluşturulmuş ratlarda FA'in koruyucu etkinliği ile ilgili bir araştırmaya rastlanamadığından, bu çalışmada B grubu bir vitamin olan FA'in, ratlarda parasetamol ile oluşturulan deneysel toksikasyona olan etkisinin ve olası etki mekanizmalarının araştırılması hedeflendi.

Deneysel parasetamol toksikasyonu için yapılan literatür taramalarında canlı ağırlık yönünden herhangi bir bulgunun olmadığı görüldü. Çalışmamızda çalışma öncesi ve sonrası

canlı ağırlıkları kıyasladığımızda parasetamol ile parasetamol+folik asit gruplarında istatistiksel olarak azalma olduğu belirlendi. Karaciğer dokusunda ise parasetamol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol ve folik asit gruplarında anlamlı bir fark olduğu belirlendi. Sol ve sağ böbrek dokularında ise kontrol ve parasetamol+N-asetil sistein grupları arasında anlamlı fark bulundu. Bu sonuçlara göre parasetamol toksikasyonunun canlı ağırlıkları ile organların ağırlıklarını azalttığını söyleyebiliriz.

Serbest radikaller reaktif moleküllerdir ve lipid hidroperoksitlerindeki artışa bağlı olarak hücre zarı hasarına, LPO'na, MDA ve etan oluşumuna neden olur (Atkinson ve Roy, 1995). LPO hücre hasar mekanizması olarak bilinir ve hücreler ile dokularda oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılır (Mokhtar ve ark, 2010). Ratlara yüksek doz (650 mg/kg, oral) parasetamol uygulaması yapan Mokhtar ve ark (2010), plazma GSH seviyesi ile CAT aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda plazma GSH seviyesi ile CAT aktivitesinin kontrol ve folik asit grubunda anlamlı olarak yüksek, serum MDA seviyesi ise anlamlı olarak düşük olduğu ve gruplar arasında istatistiksel yönden bir fark olmadığı belirlendi ($P<0.05$). CAT, dokuları LPO'na karşı koruyan enzimatik antioksidanlardan biridir. CAT OH⁻ radikal oluşumunu önler ve hücreyi oksidatif hasara karşı korur. CAT aktivitesindeki azalma serbest oksijen radikallerinin birikmesine neden olabilir (Scott ve ark, 1991).

Karaciğer dokusu homojenizatlarındaki yüksek MDA seviyeleri, parasetamol tarafından indüklenen ROT üretimindeki artışa bağlı ve oksidatif stresin bir sonucudur. Bu durum LPO ve plazma membranına verilen zararı göstermektedir (Sudheesh ve ark, 2013). Elde ettiğimiz MDA seviyesi, diğer deneysel gruplarla kıyaslandığında parasetamol grubunun karaciğer ve böbrek dokularında anlamlı bir artış saptandı. Parasetamol grubuyla karşılaştırıldığında, parasetamol+folik asit grubunda ise MDA seviyesinin bu dokularda düşük olduğu belirlendi ve serum MDA seviyesinde parasetamol+N-asetil sistein grubu ile parasetamol+folik asit grubu arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Ratlara oral olarak 3 g/kg/gün dozda verilen parasetamol, kontrol grubuna göre LPO düzeylerinde anlamlı bir artışa ve GSH seviyelerinde ise anlamlı bir azalmaya neden olmuştur (Sudheesh ve ark, 2013). Karaciğer homojenizatlarında GSH seviyeleri parasetamol uygulanan gruba kıyasla, folik asit grubunda anlamlı olarak yüksek iken parasetamol+folik asit grubunda da istatistiksel olarak yüksek olduğu saptandı ancak böbrek homojenizatlarında parasetamol uygulanan gruba göre parasetamol+folik asit grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. Buna ek olarak oral 5 g/kg/gün, 2.5 g/kg/gün ve 600 mg/kg/gün dozlarında kullanılan parasetamolün, karaciğer ve böbrek dokularında oksidatif hasar meydana getirdiği tespit edilmiştir (Ahmed ve

ark, 2007; Yomna ve Asmaa, 2016; Kamal ve ark, 2017). Azalmış olan GSH seviyesi, parasetamol uygulamasına bağlı olarak aşırı NAPQI ve $O_2^{\cdot-}$ üretimi veya peroksitlerden kaynaklanıyor olabilir. Parasetamolün oral 700 mg/kg/gün dozunda uygulandığı başka bir çalışmada uygulamadan 1 ve 12 saat sonra 10 mg/kg dozlarda koenzim Q10 uygulaması, karaciğer biyokimyasal enzim seviyelerini önemli ölçüde arttırdığı belirtilmiştir (Amr ve Iyad, 2012). Çalışmamızda karaciğer enzimlerinden AST, ALT ve ALP'nin yüksek seviyelerde olması parasetamolün toksik etkilerinden kaynaklanıyor olabilir.

Ratlarda deneysel parasetamol toksikasyonuna karşı koruyucu bir antioksidan olarak kullanılan vit B3'ün, ortaya çıkan oksidatif hasarı azaltarak ve enzimatik-nonenzimatik antioksidanları arttırarak karaciğer ve böbreklerinde histolojik iyileşmeye neden olduğu belirtilmiştir (Yomna ve Asmaa, 2016). Uysal ve ark (2015) yaptıkları çalışmada, oral yolla 1.5 g/kg parasetamol verilen ratlarda, karaciğer ve böbrek dokusu GSH ve CAT antioksidan seviyelerinin azaldığını, bunlara ek olarak SOD aktivitesinde azalmanın tespit edildiğini bildirmişlerdir. SOD ve CAT, hücreleri LPO'ya karşı koruyan enzimatik antioksidanlardır. Çalışmamızda SOD ve CAT aktiviteleri hem parasetamol+folik asit grubu hem de parasetamol+N-asetil sistein grubunda parasetamol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlendi (Plazma CAT aktivitesi hariç). SOD enzimi $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 radikalini moleküler oksijene çevirirken, CAT enzimi ise H_2O_2 'i su ve moleküler oksijene çevirir. Ayrıca karaciğer fonksiyon testleri AST, ALT ve LDH seviyelerinin yükselmesine bağlı olarak karaciğer hasarının olduğu, oksidan stres parametreleri MDA ve MPO'nun yükselmesinin ise, oksidatif hasarın göstergesi olduğu ifade edilmiştir (Uysal ve ark, 2015). MPO, nötrofiller ve makrofajlarda bulunur ve toksik hipokloröz asit üretimini katalize ederek $OH^{\cdot}$ radikalinin oluşumunda rol oynar (Suzuki ve ark, 1996; Ximenes ve ark, 2005). Elde ettiğimiz verilere bakıldığında karaciğer dokusunda MPO aktivitesi parasetamol, parasetamol+folik asit ve parasetamol+N-asetil sistein gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi ($P=0.001$). Böbrek dokusunda MPO aktivitesini diğer gruplarla karşılaştırdığımızda parasetamol grubunda anlamlı olarak yüksek olduğu ve diğer deneysel gruplar arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunamadığı saptandı ($P<0.05$). Kamal ve ark (2017) yaptıkları çalışmada, parasetamolün karaciğerde antioksidan seviyelerini azaltarak, ROT ile LPO seviyelerini arttırarak oksidatif hasara neden olduğunu ifade etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise antioksidan parametrelere ek olarak parasetamolün plazma üre ve kreatinin seviyelerini arttırarak böbrek yetmezliğine neden olduğu ortaya koyulmuştur (Makhtar ve ark, 2010). Çalışmamızda böbrek enzimlerinden kreatinin, üre ve

GGT'nin yüksek seviyelerde olması böbrek hasarından kaynaklanıyor olabilir (Sırasıyla $P=0.003$, $P=0.011$, $P=0.025$).

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen veriler, parasetamolün toksik dozda neden olduğu hepatotoksisite ve nefrotoksisiteye karşı FA'nin koruma yeteneğine sahip olduğunu gösterir. Ayrıca hücre içi antioksidan mekanizmaların idame edilmesine ve parasetamolün ciddi hücre içi oksidatif stres ile FA'nin bu koruyucu etkiyi sağlama kabiliyeti, parasetamol ile uyarılmış ROT aşırı üretimini, hücre içi GSH'nin tükenmesini, GPx aktivitesinin inhibisyonunu ve LPO seviyesini artışının önlemesiyle pozitif olarak ilişkilendirilebilir. Parasetamol ile indüklenen karaciğer ve böbrek hasarına karşı FA'nin koruyucu etkisi, aşırı ROT üretiminin engellenmesi ve hücrel antioksidan savunma mekanizmalarının korunmasına bağlı olabilir.



6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Türkiye’de ve dünyanın birçok ülkesinde ‘tezgâh-üstü’ (reçetesiz) olarak en yaygın kullanılan ilaç parasetamoldür. Bu nedenle gebelikte, analjezik amaçlı başta en güvenilir ilaç olarak kullanılmasının yanında aşırı dozda kullanım vakaları da sık görülmektedir. Literatürlerde gebeliğin herhangi bir trimesterinde standard dozlarda parasetamol kullanımı ile fetal yan etkiler görülmediğine dair bulgular olmasına rağmen, son yıllarda yapılan bazı çalışmalar gebelikte parasetamol kullanımına dikkat çekmiştir (Robson, 2011). Yüksek dozlarda kullanılan parasetamolün, plasentayı geçerek fetal ve maternal hepatotoksisiteye neden olur (Wilkes ve ark, 2005). Gebelikte yüksek doz parasetamol alımına bağlı toksikasyon vakalarında, plasentayı geçebilen hem annede hem de fetüste oluşan toksik metabolitlere yapışarak, toksisiteyi azaltan NAC tüm gebelik dönemlerinde kullanılabilmektedir (Wilkes ve ark, 2005). Parasetamolün özellikle gebelik döneminde en güvenilir analjezik ilaç olarak kullanılıyor olması nedeniyle çalışmamızda dişi rat, ayrıca beşeride gebeliğin ilk haftalarından itibaren FA’nın alınması nedeniyle FA tercih edilmiştir. Çünkü gebelik döneminde FA yetersizliği nöral defektlere yol açmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada, gebelik döneminde alınan parasetamolün alınan doza bağlı istenmeyen etkilerinin FA aracılığı ile önlüyor olabilmesei araştırılmıştır.

Son zamanlarda görsel ve yazılı medyada anitoksidan maddelerin faydaları ve bazı hastalıklara karşı olan koruyucu etkilerine sık sık yer verilmektedir. Fakat çoğunun temelinin bilimsel verilere dayalı olmamasından dolayı bilgi kirliliği ve karmaşıklığa yol açılmaktadır. Araştırmamızda analizleri gerçekleştirilen karaciğer ve böbrek dokularında parasetamolün yol açtığı oksidatif hasarı FA’nın genel olarak engellediği söylenebilir. Bu nedenden dolayı bu çalışma, toksik dozda maruz kalınan parasetamolün yol açtığı oksidatif hasarın önlenmesinde FA’nın etkili olabileceği sonucunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlar, insan ve hayvan sağlığı açısından zararlı olmayan, tedavilerde iyileştirici etkinliği fazla, ekonomik ve ulusal kaynaklı yeni bir alternatif koruyucu farmakolojik madde modelinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

KAYNAKLAR

Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafarjet K. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2003, 135, 331-336.

Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.* 2004, 10, 141-147.

Abraham P. Vitamin C may be beneficial in the prevention of paracetamol-induced renal damage, *Clinical and Experimental Nephrology* 2005, 9, 24–30.

Abukhalaf KI, Deutsch DA, Bayorh M, Jones W. Non Steroidal Antiinflammatory Drugs, Alcohol and Drug Interactions. Mozayani A, Raymon LP. *Handbook of Drug Interactions A Clinical and Forensic Guide*, 1st Ed. New Jersey, Humana Press, 2004, 358-360, 414-416.

Aebi H. Catalase in vitro assay methods, *Methods in Enzymology* 1984, 105, 121-126.

Ahmed MB, Khater MD. Evaluation of the protective potential of Ambrosia maritima extract on acetaminophen-induced liver damage. *Journal of Ethnopharmacology* 2001, 75, 169–174

Ahmed MB, Khater MR. Evaluation of the protective potential of Ambrosia maritime extract on acetaminophen-induced liver damage, *Journal Ethnopharmacol* 2001, 75, 169–174.

Ahmed OAZ, Randa HAH, Madeha MM, Magda MYF. The potential protective role of alpha-lipoic acid against acetaminophen-induced hepatic and renal damage. *Toxicology*, 2008, 243, 261–270.

Ajith TA, Hema U, Aswathy MS. Zingiber officinale Roscoe prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity by enhancing hepatic antioxidant status. *Food and Chemical Toxicology* 2007, 45, 2267–2272.

Akagün G. Alabaş (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 2009.

- Akbari M, Ostadmohammadi V, Lankarani KB, Tabrizi R, Kolehdoz F, Heydari ST, Kavari SH, Mirhosseini N, Mafi A, Dastorani M, Asemi Z.** The Effects of Vitamin D Supplementation on Biomarkers of Inflammation and Oxidative Stress Among Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, *Hormone and Metabolic Research* 2018, 101055-101355.
- Akçam M, Çalışkan D.** Ratlarda parasetamole bağlı akut karaciğer toksisitesinde nar suyunun koruyucu etkisi, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 2014.
- Akkuş T.** Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 2. Baskı, Mimoza yayınları, Konya, 1995, 1-80.
- Alfio B, Anna F, Alessandra O, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S.** Paracetamol: New vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews* 2006, 12, 250-275.
- Amr AF, Iyad J.** Hepatoprotective effect of coenzyme Q10 in rats with acetaminophen toxicity, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2012, 33, 158–167.
- Aniya Y, Yokamakura T, Yonamine M, Nagamine T, Nakanishi H.** Protective effect of the mold monascus anka against acetaminophen-induced liver toxicity in the rats, *The Japanese journal of Pharmacology* 1998, 78, 79-82.
- Ardağ A.** Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2008.
- Atkinson A, Roy D.** In vivo DNA adduct formation by bisphenol A. *Enviromental and Molecular Mutagenesis* 1995, 26(1), 60-66.
- Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE.** Role of metals in oxygen radical reactions. *Journal of free radicals in biology & medicine* 1985, 1, 3-25.
- Baccanari DP.** Coupled oxidation of NADPH with thiols at neutral pH. *Archives of biochemistry and biophysics* 1978, 191, 351-357.
- Barber DA, Harris SR.** Oxygen free radicals and antioxidants: A review. *American Journal of Pharmacology* 1994, 534, 26–35.

Bayır Y. Sıçanlarda isoprotrenol ile oluşturulan miyokard infarktüsü modelinde DNA hasarı ve oksidatif stres üzerine Lasidipin, Ramipril ve Valsartan'ın etkilerinin incelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum, 2008.

Bektur NE. Silymarin'in Asetaminofen (parasetamol) Kaynaklı Karaciğer ve Böbrek Toksisitesi Üzerine İyileştirici Etkisi, Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir 2012, 53.

Bernal W, Auzinger G, Dhawan A. Acute liver failure, *Lancet* 2010, 376, 190–201.

Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews* 2006, 12(3-4), 250-75.

Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology* 2001, 31, 55-138.

Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1963, 61, 882-888.

Black M. Acetaminophen hepatotoxicity, *Gastroenterology* 1980, 78(2), 382-392.

Blakely P, McDonald BR. Acute Renal Failure due to Acetaminophen Ingestion: A Case Report and Review of the Literature. *Journal of the American Society of Nephrology* 1995, 6, 48-53.

Bond GR, Wiegand CB, Hite LK. The difficulty of risk assessment for hepatic injury associated with supra-therapeutic acetaminophen use. *Veterinary and Human Toxicology* 2003, 45, 150–153.

Bosch ME, Sanchez AJR, Rojas FS, Ojeda CB. Determination of Paracetamol Historical Evolution. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2006, 42, 291-321.

Boutaud O, Aronoff DM, Richardson JH, Marnett LJ, Oates JA. Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostaglandin H₂ synthases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2002, 99, 7130-7135.

Bridger S, Henderson K, Glucksman E, Ellis AJ, Henry JA, Williams R. Deaths from low dose paracetamol poisoning. *BMJ* 1998, 316, 1724-1725.

Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanalide in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1948, 94, 24-38.

Brunton LL. (Çeviri: Ö Süzer). Goodman & Gilman tedavinin farmakolojik temeli. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2009, Bölüm IV, 27, 671-716.

Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VGJ, Schafer FQ. A new paradigm: Manganese superoxide dismutase influences the production of H₂O₂ in cells and thereby their biological state. *Free Radical Biology and Medicine* 2006, 41, 1338-1350.

Burnaz N. On-line HPLC-FRAP antioksidan aktivite tayin yönteminin geliştirilmesi ve bazı doğal ürünlere uygulanması, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 2013.

Çavuşoğlu S. Paraquat'ın Nefrotoksik etkisine asetaminofenin katkısının sıçanlarda enzimüri ile izlenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir 2000, 136.

Cekmen M, Ilbey YO, Ozbek E, Simsek A, Somay A, Ersoz C. Curcumin prevents oxidative renal damage induced by acetaminophen in rats. *In Food and Chemical Toxicology* 2009, 47(7), 1480-1484.

Cengiz G. Parasetamolün Toksikolojik Analizi, Plazma ve Doku Lipid Peroksidasyonuna Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, Ankara, 1997.

Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin* 1993, 49(3), 481-93.

Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: What role do they play in physical activity and health. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2000, 72, 637-646.

Cochran CG. Cellular injury by oxidants. *The American Journal of Medicine* 1991, 92, 235-305.

Conover WJ. Practical Nonparametric Statistics 2 nd ed, John Wiley&Sons, New York 1980, 229-239.

Corcoran GB, Racz WJ, Smith, CV, Mitchell J. Effects of N-acetylcysteine on acetaminophen covalent binding and hepatic necrosis in mice, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1985, 232, 864-872.

Craig DG, Bates CM, Davidson JS, Martin KG, Hayes PC, Simpson KJ. Staggered overdose pattern and delay to hospital presentation are associated with adverse outcomes following paracetamol-induced hepatotoxicity. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2012, 73, 285-294.

Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D. Oxygen radicals and human disease. *Annals of Internal Medicine* 1987, 107, 526-545.

Curhan GC, Knight EL, Rosner B, Hankinson SE, Stampfer MJ. Lifetime nonnarcotic analgesic use and decline in renal function in women. *Archives of Internal Medicine* 2004, 164, 1519-1524.

Czeczot H, Scibior D, Skrzycki M, Podsiad M. [Activity of antioxidant enzymes in patients with liver cirrhosis]. *MedlinePlus Health Information* 2006, 59(11-12), 170-180.

Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning trends. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2006, 24, 154-157.

Davies KJA, Goldberg AL. Oxygen Radicals Stimulate Intracellular Proteolysis and Lipid-Peroxidation by Independent Mechanisms in Erythrocytes. *Journal of Biological Chemistry* 1987, 262, 8220-8226.

Dökmeci İ. Toksikoloji, Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2001.

Elliot JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology* 1999, 53(2), 46-48.

El-Ridi MR, Rahmy TR. Action of vitamin C against acetaminophen-induced hepatorenal toxicity in rats. *Toxin Reviews* 2005, 19, 275-304.

Emrah Ç. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar, Karatekin Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Biyokimya ABD, Çankırı, *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 2011, 9(1), 77.

Engin MS. Taflan (*laurocerasus officinalis* Roem.) bitkisinin meyve, çekirdek ve yapraklarının mevsim değişikliklerine göre antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik bileşik tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat 2007, 58.

Ersoy A, Dilek K. Hemodiyaliz hastalarında eritrosit membran lipid peroksidasyonu ve antioksidatif homeostazis değişiklikleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1999, 1, 1-4.

Facchinetti F, Dawson VL, Dawson TM. Free radicals as mediators of neuronal injury. *Cellular and Molecular Neurobiology* 1998, 18, 667-682.

Farah MA, Tawfig MA, Mujtaba MB, Asad AAK, Omar G, Bayan YG, Nidal AQ. Antioxidative stress effects of vitamins C, E, and B12, and their combination can protect the liver against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Drug Design, Development and Therapy* 2018, 12, 3525-3533.

Fidaner H. Duygudurum Bozuklukları ve Folatlar. 2001, 6, 272-276.

Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation* 1982, 47, 412-426.

Goldfrank LR, Flomenbaum N, Howland MA, Hoffman RS, Lewin NA, Nelson LS. Goldfrank's Toxicology Emergencies. 8th. Ed., New York: McGraw-Hill Professional Publishing, 2006, 523-543.

Graham GG, Scott GF, Day RO. Tolerability of paracetamol. *An International Journal of Medical Toxicology and Drug Experience* 2005, 28, 227-240.

Guggenheimer J, Moore PA. The therapeutik applications of and risks associated with acetaminophen use: a review and update. *The Journal of the American Dental Association* 2011, 142(1), 38-44.

Gutteridge JMC. Lipid-Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue-Damage, *Clinical Chemistry* 1995, 41, 1819-1828.

Güven A, Erginsoy S, Kaya N. Kazlarda karbon tetraklorür zehirlenmesinin biyokimyasal ve patolojik parametrelere etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2003, 9, 131-136.

Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994, 344: 721-724.

Halliwell BE. Oxygen radicals, nitric oxide and human inflammatory joint disease, *Annals of the Rheumatic Diseases* 2005, 54, 505-510.

Havare P. Parastamol Kullanımının Rat Karaciğer Serbest Radikal Metabolizması ile İlişkisi: N- Asetilsistein'in Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara 2011, 47.

Hawton K, Ware C, Mistry H, Hewitt J, Kingsbury S, Roberts D, Weitzel H. Why patients choose paracetamol for self poisoning and their knowledge of its dangers. *BMJ* 1995, 310, 164.

Hernandez PJ, Tortosa JA, Martinez-Lage JF, Perez FD. Morphine consumption after spinal fusion surgery, *Anesthesia & Analgesia* 2001, 92, 1473-1476.

Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis, *Handbook of Experimental Pharmacology* 2010, 196, 369–405.

Hjelle JJ. Acetaminophen-induced toxicosis in dogs and cats, *JAVMA* 1986, 188(7), 742-746.

Hsu HC, Chiou JF, Wang YH, Chen CH, Mau SY, Ho CT, Chang PJ, Liu TZ, Chen CH. Folate deficiency triggers an oxidative-nitrosative stress-mediated apoptotic cell death and impedes insulin biosynthesis in RINm5F pancreatic islet beta-cells: relevant to the pathogenesis of diabetes. *PloS One* 2013, 10.1371.

Huang RF, Huang SM, Lin BS. Homocysteine thiolactone induces apoptotic DNA damage mediated by increased intracellular hydrogen peroxide and caspase 3 activation in HL-60 cells. *Life Sciences* 2001, 6, 2799–2811.

Hung L, Nelson LS, Tintinalli JE, Kelen GD. Acetaminophen, Stapczynski. 4 th ed. Emergency Medicine a Comprehensive Study Guide. McGraw Hill, 2000, 1125-1136.

Insel PA. Analgesic-Antipyretics and Antiinflammatory Against: Drugs Employed in the treatment of rheumatoid arthritis and Gout (8.ed) In: Goodman-Gilman A. Rall T.W. Nies, A.S., Taylor, P. Eds. Goodman and Gillman's the pharmacological basis of therapeutucis, 1990, 26, 656-659.

Ioannides C, Steele CM, Parke DV. Species variation in the metabolic activation of paracetamol to toxic intermediates, Role of Cyt P450 and P448, *Toxicology Letters* 1983, 16, 55-61.

İlkaya F, Yılmaz MZ, Karakuş O. Parasetamol ve siklooksijenaz enzim inhibisyonu. *Journal of Experimental and Clinical Medicine* 2013, 30, 9-14.

Jaeschke H, Bajt ML. Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen induced liver cell death. *Toxicological Sciences* 2006, 89, 31–41.

Jana AK, Agarwal S, Chatterjee SN. The induction of lipid peroxidation in liposomal membrane by ultrasound and the role of hydroxyl radicals. *Radiation research* 1990, 124, 7-14.

Jones RD, Baynes RE, Nimitz CT. Nonsteroidal antiinflammatory drug toxicosis in dogs and cats: 240 cases (1989- 1990). *JAVMA* 1992, 201(3), 475-477.

Kalınbacak A, Tanyel B, Can M. Köpeklerde Deneysel Akut Parasetamol (Asetaminofen) Toksikasyonu ve Sağaltımında N-Asetil Sistein'in Etkinliği. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1997, 33-42.

Kalsi S, Wood DM, Waring WS, Dargan PI. Does cytochrome P450 liver isoenzyme induction increase the risk of liver toxicity after paracetamol overdose? *Open Access Emergency Medicine* 2011, 3, 69–76.

Kamal AA, Khalid SH, Fawziah SA, Said TA, Mohammed SH. Antioxidant and Hepatoprotective Efficiency of Selenium Nanoparticles Against Acetaminophen-Induced Hepatic Damage, 2017, 175, 136–145.

Karaca EG, Sözbilir NG. Dietilnitrozamin verilen ratlarda Alfa Lipoik asidin koruyucu etkilerinin araştırılması, *The Medical Journal of Kocatepe* 2007, 7, 11-17.

Katzung BG. Temel ve Klinik Farmakoloji, Cilt 2, (Çev: Prof. Dr. Özüner, Z.) Barış Kitapevi, İstanbul, 1995.

Kaya S. Veteriner Farmakoloji (5. baskı), Cilt 2, Kaya S, Pirinççi İ, Ünsal A, Traş B, Bilgili A, Akar F. (eds) Medisan Yayınevi, Ankara, 2009.

Kaya S. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi 35, Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. Ankara, 1998, 222-355.

Kaya S. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji 2. Baskı, Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. Medisan Yayınevi, Ankara, 2002.

Kaya S. Aspirin ve benzeri ilaçlar, Veteriner Farmakoloji (baskı 4), Cilt 4, Medisan yayınevi, Ankara, 2006, 298.

- Kayaalp SO, Melli M.** Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar. Tıbbi Farmakoloji. 9. Baskı. 2.Cilt, 2000, 1039-1042.
- Kayaalp SO.** Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji (6. Baskı), Cilt 3, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti, Ankara, 1993, 3134-3141.
- Kehrer JP.** Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Critical Reviews Toxicology* 1993, 23, 21-48.
- Kettle AJ, Winterbourn CC.** Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophil oxidant production, *Redox Report* 1997, 3, 3-15.
- Kılınç K, Kılınç A.** Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002, 33(2), 110-118.
- Kittisupamangkol W.** Liver injury from diclofenac or acetaminophen? *The American Journal of Gastroenterology* 2009, 104(7), 1862.
- Kim YI.** Folate and carcinogenesis: evidence, mechanisms, and implications. *Journal of Nutritional Biochemistry* 1999, 10, 66–88.
- Kis B, Snipes JA, Busija DW.** Acetaminophen and the COX-3 puzzle: sorting out facts, fictions and uncertainties. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2005, 315(1), 1-7.
- Kon K, Kim JS, Jaeschke H, Lemasters JJ.** Mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced necrosis and apoptosis of cultured mouse hepatocytes. *Hepatology* 2004, 40, 1170–79.
- Koss G, Losekam M, Schuler E, Schreiber I.** *Comparative Biochemistry and Physiology* 1991, 99, 257–258.
- Kozer E, Koren G.** Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug Safety: An International Journal of Medical Toxicology and Drug Experience* 2001, 24, 503-512.
- Ku HH, Brunk UT, Sohal RS.** Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free radical biology & medicine* 1993, 15, 621-627.

Kun-Goung L, Chi-Fen C, Chun-TH, Jun-Jen L, Tsan-ZL, Chi-LC. Modulation of reactive oxygen species sinker protein expression and maintenance of mitochondrial redox homeostasis on hepatocellular carcinoma. *Tumor Biology* 2017, 1-10.

Kurumbail R, Kiefer JR, Marnett LJ. Cyclooxygenase enzymes: Catalysis and inhibition. *Current Opinion in Structural Biology* 2001, 11(6), 752-760.

Küçük E. Parasetamol Toksisitesi ile Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda Caffeic Asid Phenetnyl Ester'in Tedavi Edici Etkisi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Afyon 2009, 40.

Laskin DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ. Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen, *Hepatology* 1995, 21, 1045-1050.

Lee WM. Acetaminophen (APAP) hepatotoxicity-Isn't it time for APAP to go away? *Journal of Hepatology*, 2017, 67(6), 1324-1331.

Lee WM, Seremba E. Drug-induced liver disease. In (Ed. Yamada T). 5th ed. Blackwell Publishing, Oxford, Textbook of Gastroenterology 2009, 2167-2184,

Loh CS, Ponampalam R. Nephrotoxicity associated with acute paracetamol overdose: a case report and review of the literature, *Hong Kong Journal of Emergency Medicine* 2006, 13, 105-110.

Luck H. Catalase In Methods of Enzymatic Analysis (Edited by Bergmeyer H.U), Academic Press, New York, USA, 1965, 885-894.

Lykkesfeldt J, Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *The Veterinary Journal* 2007, 173, 502-511.

MacNaughton WK, Leach KE, Prud'homme-Lalonde L, Harding RK. Exposure to ionizing radiation increases responsiveness to neural secretory stimuli in the ferret jejunum in vitro, *International Journal of Radiation Biology* 1997, 72(2), 219-226.

Madenoglu H, Bozogluer H. Ratlarda oluşturulan parasetamol hepatotoksisitesi üzerine flumazelinin terapötik etkinliğinin araştırılması, Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2009.

Mahmoud YI, Mahmoud AA. Role of nicotinamide (vitamin B3) in acetaminophen-induced changes in rat liver Nicotinamide effect in acetaminophen-damaged liver, *Experimental and Toxicologic Pathology* 2016, 68, 345–354.

Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide-Dismutase (Sod)-Catalase Conjugates- Role of Hydrogen-Peroxide and the Fenton Reaction in Sod Toxicity. *Journal of Biological Chemistry* 1993, 268, 416-420.

Marczin NN, Elhabashi GS, Hoare RE. Antioxidants in myocardial ischemia reperfusion injury therapeutic potential and basic mechanisms, *Archives Biochemistry Biophysics* 2003, 222–236.

Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage, *Toxicology*, 2002, 181, 219-222.

Masson MJ, Collins LA, Carpenter LD, Graf ML, Ryan PM, Bourdi M, Pohl LR. Pathologic role of stressed-induced glucocorticoids in drug-induced liver injury in mice, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2010, 397, 3, 453–458.

Mates JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology* 2000, 153, 83-104.

Matić MM, Milica GP, Marija DM, Branka IO, Zorika SS. Hematoprotective effects and antioxidant properties of β -glucan and vitamin C against acetaminophen-induced toxicity: an experimental study in rats. *Drug and Chemical Toxicology* 2019.

Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-Induced Nephrotoxicity: Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Journal of Medical Toxicology* 2008, 4, 2-5.

Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis: IV. Protective role of glutathione. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1973, 187, 211–217.

Mohammadi A, Omrani L, Omrani LR, Kiani F, Eshraghian A, Azizi Z, Omrani GR. Protective effect of folic acid on cyclosporine-induced bone loss in rats, *Transplant International* 2012, 25, 127-133.

Mokhtar IY, Sahar AM, Omar B, Marwa IEG, Laila AA. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat, 2010, 19(12), 1962-1967.

- Moyer AM, Fridley BL, Jenkins GD, Batzler AJ, Pelleymounter LL, Kalari KR, Ji Y, Chai Y, Nordgren KKS, Weinshilboum RM.** Acetaminophen-NAPQI hepatotoxicity: a cell line model system genome-wide association study. *Toxicological Sciences* 2011, 120, 33–41
- Mugford CA, Tarloff JB.** The contribution of oxidation and deacetylation to acetaminophen nephrotoxicity in female Sprague-Dawley rats. *Toxicologyletters* 1997, 93, 15-22.
- Muramatsu S, Shiraishi S, Miyano K, Sudo Y, Toda A, Mogi M, Hara M, Yokoyama A, Kawasaki Y, Taniguchi M, Uezono Y.** Metabolism of AM404 From Acetaminophen at Human Therapeutic Dosages in the Rat Brain. *Anesthesiology and Pain Medicine* 2016, 6(1), 32873.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VM.** Harper's Biochemistry. 25. Baskı, McGraw-Hill Press, USA, 2000.
- Nelson DP, Kresow LA.** *Anal Biochem*, 1972, 49, 474.
- Niki E.** Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chemistry Physics Lipids* 1987, 44, 227-253.
- Nourjah P, Ahmad SR, Karwoski C, Willy M.** Estimates of acetaminophen (paracetamol)-associated overdoses in the United States. *Pharmacoepidemiol Drug Safety* 2006, 15, 398-405.
- Okhawa H, Ohishi N, Yagi K.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979, 95(1), 351-358.
- Onat T, Emerk K, Sözmen EY.** İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, 2002, Ankara.
- Ozkaya O, Genc G, Bek K, Sullu Y.** A case of acetaminophen (paracetamol) causing renal failure without liver damage in a child and review of literature. *Ren Fail* 2010, 32(9), 1125-1127
- Pakravan N, Waring WS, Sharma S, Ludlam C, Megson I, Bateman DN.** Risk factors and mechanisms of anaphylactoid reactions to acetylcysteine in acetaminophen overdose. *Clinical Toxicology* 2008, 46, 697-702.
- Pairat M, Engelhardt G.** Distinct isoforms of cyclooxygenase: possible physiological and therapeutic implications. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 1996, 10(1), 1-15.

- Patro BS, Adhikari S, Mukherjee T.** Folic acid as a Fenton-modulator: possible physiological implication. *Journal of Medicinal Chemistry* 2006, 2, 407–413.
- Piomelli D.** The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Reviews Neuroscience* 2003, 4(11), 873-874.
- Placer CA, Cushman LL, Johnson BC.** Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry* 1990, 16, 259-264.
- Porter NA.** Chemistry of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 1984, 105, 273-283.
- Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT.** Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet* 1977, 2, 432-434.
- Pu S, Ren L, Liu Q, Kuang J, Shen J, Cheng S, Zhang Y, Jiang W, Zhang Z, Jiang C, He J.** Loss of 5-lipoxygenase activity protects mice against paracetamol-induced liver toxicity, *British Journal of Pharmacology* 2016, 173, 1, 66-76.
- Raj Kapoor B, Venugopal Y, Anbu J, Harikrishnan N, Gobinath M And Ravichandran V.** Protective effect of *Phyllanthus polyphyllus* on acetaminophen induced hepatotoxicity in rats, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 2008, 21, 1, 57-62.
- Ranganathan SS, Sathiadhas MG, Sumenesana S, Fernandopulle M, Lamabadusuriya SP, Fernandopulle BMR.** Fulminant hepatic failure paracetamol overuse with therapeutic intent in febrile children. *The Indian Journal of Pediatrics* 2006, 10, 871-875.
- Rikans LE, Hornbrook KR.** Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging, *Biochimica et Biophysica Acta* 1362, 1997, 116-127.
- Robson, S.** Pain relief in pregnancy, *O&G Magazine*, 2011, 13, 1.
- Rumack BH, Bateman DN.** Acetaminophen and acetylcysteine dose and duration: past, present and future. *Clin Toxicol (Phila)*. 2012, 50, 91-98.
- Rumack BH, Peterson RC, Koch GG, Amara IA.** Acetaminophen overdose 662 cases with evaluation of oral acetylcysteine treatment. *JAMA Internal Medicine* 1981, 141, 380-385.
- Salgia AD, Kosnik SD.** When acetaminophen use becomes toxic. Treating acute accidental and intentional overdose. *Postgraduate Medicine* 1999, 105, 81-90.
- Samuni Y, Goldstein S, Dean OM, Berk M.** The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochim Biophys Acta*. 2013, 1830, 4117-4129.

Schlesinger DP. Methemoglobinemia and anemia in a dog with acetaminophen toxicity. *Canadian Veterinary Journal* 1995, 36, 515-517.

Schmidt LE, Dalhoff K. Risk factors in the development of adverse reactions to N-acetylcysteine in patients with paracetamol poisoning. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2001, 51, 87-91.

Scott MD, Lubin BH, Zuo L. Kuypers FA. Erythrocyte defense against hydrogen peroxide: preeminent importance of catalase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1991, 118, 7-16.

Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 1996, 27(1), 41-50.

Shalaby MA, El Zorba HY, Ziada RM. Reproductive toxicity of methomyl insecticide in male rats and protective effect of folic acid, *Food and Chemical Toxicology* 2010, 48(11), 3221-3226.

Singh R, Kanwar SS, Sood PK, Nehru B. Beneficial Effects of Folic Acid on Enhancement of Memory and Antioxidant Status in Aged Rat Brain, *Cellular and Molecular Neurobiology* 2011, 31, 83-91.

Somani SM, Husain K, Whitworth C, Trammell GL, Malafa M, Rybak LP. Dose dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: antioxidant defense system, *Pharmacol. Toxicol.* 2000, 86, 234-241.

Stokstad ELR. Historical perspective on key advances in the biochemistry and physiology of folate. In: MF Picciano, ELR Stokstad, JF Gregory (eds) *Folic acid metabolism in health and diseases* New York, Wiley-Liss, 1990, 1-20.

Sudheesh NP, Ajith TA, Janardhanan KK. Hepatoprotective effects of DL- α -lipoic acid and α -Tocopherol through amelioration of the mitochondrial oxidative stress in acetaminophen challenged rats. *Toxicology Mechanisms and Methods* 2013, 23(5), 368-376,

Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple for clinical assay of superoxide dismutase, *Clinical Chemistry* 1988, 34(3), 497-500.

Sungur S, Bilge U, Acar N, Unluoglu I. Retrospective evaluation of adult poisoning cases admitted to emergency department of a University Hospital in Turkey. *The Nigerian Journal of Clinical Practice* 2018, 21(8), 1023-1028.

Suzuki M, Mori M, Miura S, Suematsu M, Fukumura D, Kimura H. Omeprazole attenuates oxygen-derived free radical production from human neutrophils. *Free Radical Biology and Medicine* 1996, 21, 727–731.

Süzer Ö. Tedavinin Farmakolojik Temeli, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2008.

Swierkozs TA, Jordan L, Mcbride M, Mcgrough K, Devlin J, Botting RM. Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of Mouse and rabbit. *Medical Science Monitor* 2002, 8, 496-497.

Şener G, Şehirli AÖ, Dülger GA. Protective effects of melatonin, vitamin E and N-acetylcysteine against acetaminophen toxicity in mice: a comparative study, *Journal of Pineal Research* 2003, 35, 1, 61-68.

Taylor M, Reide P. Mosby's Crach Course Farmakoloji, H.S. Örer (çev.), Ankara: Güneş Kitabevi, 2001, 166.

Terneus MV, Kiningham KK, Carpenter AB, Sullivan SB, Valentovic MA. Comparison of S-adenosyl-L-methionine and N-acetylcysteine protective effects on acetaminophen hepatic toxicity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2007, 107, 320-399.

Tsai AC. Lipid Peroxidation and Glutathione Peroxidase Activity in Liver of Cholesterol-Fed Rats. *Journal of Nutrition* 1975, 105, 946-951.

Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA. Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal* 2008, 10, 1343–1374.

Tzankova V, Aluani D, Kondeva BM, Yordanov Y, Odzhakov F, Apostolov A, Yoncheva K. Hepatoprotective and antioxidant activity of quercetin loaded chitosan/alginate particles in vitro and in vivo in a model of paracetamol-induced toxicity. *Biomed Pharmacoter* 2017, 92, 569-579.

Underhill TJ, Greene MK, Dove AF. A comparison of the efficacy of gastric lavage, ipecacuanha and activated charcoal in the emergency management of paracetamol overdose. *Archives of Emergency Medicine* 1990, 7, 148-154.

Uysal HB, Bekir D, Mustafa Y, Fadime K, Alparslan G, Imran KÖ, Buket D Biochemical and Histological Effects of Thiamine Pyrophosphate against Acetaminophen-

Induced Hepatotoxicity, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2016, 118, 70–76 2015.

Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biology* 1971, 231, 235-237.

Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews* 2004, 25, 612-628.

Waring WS, Jamie H. ve Leggett GE. Delayed onset of acute renal failure after significant paracetamol overdose: A case series. *Human and Experimental Toxicology* 2010, 29(1), 63–68.

Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic, *The FASEB Journal* 2004, 18(7), 783-934.

Waters E, Wang JH, Redmond HP, Wu QD, Kay E, Hayes DB. Role of taurine in preventing acetaminophen-induced hepatic injury in the rat. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* Published 2001, 280, 6.

Wilkes JM, Clark LE, Herrera JL. Acetaminophen overdose in pregnancy. *Southern Medical Journal* 2005, 98, 1118-1122.

Ximenes VF, Paino IM, Faria-Oliveira OM, Fonseca LM, Brunetti IL. Indole ring oxidation by activated leukocytes prevents the production of hypochlorous acid. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2005, 38, 1575–1583.

Yanpallewar SU, Sen S, Tapas S. Effect of *Azadirachta indica* on paracetamol-induced hepatic damage in albino rats, *Phytomedicine* 2002, 9, 391–396.

Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakısı O, Tunca R, Erginsoy S, Cıtlı M. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2007, 59, 121-128.

Yavaşer R. Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2011.

Yeum KJ, Russell MR, Krinsky IN, Adlini G. Biomarkers of antioxiđan capacity in hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2004, 430, 97-103.

Yıldırım M. Peroperatif intravenöz parasetamol infüzyonunun erken postoperatif ağrı ve derlenme özelliklerinin değeriendirilmesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 2007, 41.

Yomna IM, Asmaa AM. Role of nicotinamide (vitamin B3) in acetaminophen-induced changes in rat liver Nicotinamide effect in acetaminophen-damaged liver, *Experimental and Toxicologic Pathology* 2016, 68, 345–354.

Yousef MI, Omar SA, El-Guendi MI, Abdelmegid LA. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food and Chemical Toxicology* 2010, 48(11), 3246-3261.

Yu BP. Approaches to anti-aging intervention: the promises and the uncertainties, *Mechanisms of Ageing and Development* 1999, 111, 73-87.

Zyoud SH, Awang R, Sulaiman SA. Relationship between serum acetaminophen concentration and N-acetylcysteine-induced adverse drug reactions. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2010, 107, 718-23.



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 22.Mayıs. 2017

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2017 Yılı V. Oturum
Sayı : 64583101/2017/041
Proje Başlığı : Ratlarda deneysel parasetamol toksikasyonunda folik asitin koruyucu etkilerinin araştırılması .
Proje Yürütücüsü : Murat BOYACIOĞLU
Proje Ekibi : Emrah AKGÜN

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan

Prof. Dr. Tuman DOST
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. İşıl SÖNMEZ
Üye

Prof. Dr. Deniz COBAN
Üye

Prof. Dr. Yücel KOCA
Üye

Doç. Dr. Evrim DERELİ FİDAN
Üye

Vet. Hek. Serdar AKTAŞ
Üye

Vet. Hek. Dr. Birgül UNAL
Üye

Yurdağül ALTINBAŞ
Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : AKGÜN Emrah
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : İstanbul / 23.01.1988
E-mail : emrahakgun.0988@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce (YÖKDİL 50,00)

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	01.06.2012