

40598

**P-AMİNOFENOL TOKSİSİTESİNDE SERBEST  
RADİKALLER VE ANTIOKSİDAN DEFANS  
MEKANİZMALARININ ROLÜ**

**Güngör KANBAK**

**Osmangazi Üniversitesi**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**  
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca  
Biyokimya Anabilim Dalı'nda  
**DOKTORA TEZİ**  
Olarak Hazırlanmıştır.

**Danışman : Prof. Dr. Mine İNAL**

**Temmuz 1994**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU**  
**DOKÜMANTASYON BİRİMİ**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Güngör KANBAK'ın DOKTORA tezi olarak hazırladığı "p-Aminofenol Toksisitesinde Serbest Radikaller ve Antioksidan Defans Mekanizmalarının Rolü" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

05.10.7.1.1994

Üye : Prof. Dr. İzzet İNAL

Üye : Doç. Dr. Kıymet AKSOY

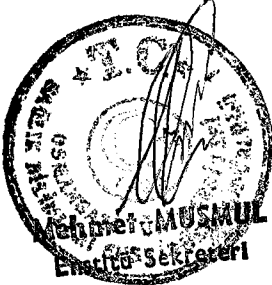
Üye : Y. Doç. Dr. Ömer SOLAK

---

Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 18.07.1994 gün ve 263/641 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**ASLI GİBİDİR**

**14 SUBAT 1995**



Prof. Dr. Nurettin BAŞARAN  
Enstitü Müdürü

## Ö Z E T

Son yıllarda kslenobiotikler ile ortaya çıkan toksik etkiler üzerinde serbest radikallerin önemli bir paya sahip olabileceği belirtilmektedir.

Bu çalışmada, p-aminofenol (PAF) ile ortaya çıkan toksik etkiler ile serbest radikaller arasındaki ilişki araştırıldı. Ayrıca nonenzimatik bir antioksidan olan redükte glutatyon'un PAF toksisitesi üzerindeki etkileri incelendi. Bu amaçla çalışmaya alınan ratlar üç gruba ayrıldı. Bir gruba PAF, diğer bir gruba ise PAF'e ek olarak GSH uygulandı. Kontrol grubu olarak alınan ratlara ise sadece serum fizyolojik verildi. Daha sonra hayvanlardan 1, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde kan alındı. Hayvanlar 96. saat sonunda dekapite edilerek öldürüldü. Ratların eritrositlerinde süperoksit dismutaz (SOD) ve plazmalarında ise malonildialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü. Aynı parametreler böbrek ve karaciğer dokularında da tayin edildi.

PAF grubu eritrositlerinde 1. saatte ölçülen SOD aktivitesi, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşüktü ( $p<0.001$ ). Aynı saatte PAF+GSH grubu ile kontrol grubu arasında fark yoktu. Diğer saatlerde de gruplar arasında istatistik açıdan anlamlı bir fark bulunamadı.

PAF ve PAF+GSH gruplarında ölçülen plazma MDA düzeyleri 24, 48 ve 96. saatlerde kontrol grubundan ileri derecede yüksekti (24 ve 96. saatlerde  $p<0.001$ , 48. saatte  $p<0.01$ ). PAF grubunda 72. saatte ölçülen MDA düzeyleri kontrol grubuna oranla belirgin bir biçimde artmıştı ( $p<0.001$ ). Bununla birlikte PAF+GSH grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

Karaciğer dokusunda her iki grupta ölçülen SOD aktivitelerinin kontrol grubuna göre farklı olmadığı saptandı. MDA değerleri ise PAF grubunda kontrol grubuna oranla yüksekti ( $p<0.05$ ).

PAF+GSH grubuna ait renal SOD aktiviteleri, kontrol grubuna oranla ileri derecede yüksek bulundu ( $p<0.001$ ). Her iki grupta ölçülen MDA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı şekilde yüksekti ( $p<0.001$ ).

Bulgularımız, PAF toksisitesinde serbest radikallerin önemli bir paya sahip olabileceğini göstermektedir. GSH, renal toksisitenin ortadan kaldırılmasında etkili olmamaktadır.



## S U M M A R Y

Recent years, many study was reported that the free radicals have an important role on toxic effects of xenobiotics.

In this study, the correlation between p-Aminophenol (PAP) induced toxic effects with the free radicals was investigated. It was also examined that the effects of reduced glutathione (GSH) which is a non-enzymatic antioxidant, on this mechanisms. With this aim, Rats were divided into three groups. PAP was infused one of the group. PAP plus GSH was infused one of the other group. Rats of control group were taken only 0.9% Sodium Chloride. Blood was taken from rats at 1, 24, 48, 72 and 96 th hours. Rats were killed at the end of 96 th hours. Süperoxide Dismutase (SOD) activities were determined in the rat erythrocytes and malondialdehyde (MDA) was measured in the rat plasma. These are also determined in the liver and kidney tissues.

SOD activity in the first hour was significantly lower than control group in the erythrocyte of PAP group ( $p < 0.001$ ). PAP+ GSH group was not different from control group in the first hour. However, there was no difference in the other blood specimens.

Plasma MDA levels in the 24, 48 and 96 th hours were significantly higher than control group in the PAP and PAP+GSH groups (for 24 and 96 th hours  $p < 0.001$ , for 48 th hour  $p < 0.01$ ). MDA level in the 72 th hour was higher than control group in the PAP group ( $p < 0.001$ ). But PAP+GSH group was not significant statistically from control group ( $p > 0.05$ ).

SOD activities in the liver tissue were not different from control group in both two groups. MDA levels were higher than the control group ( $p < 0.05$ ).

Renal SOD activities in the PAP+GSH group significantly high as

compared to control group ( $p < 0.001$ ). MDA levels were higher than the control group in the both groups ( $p < 0.001$ ).

Our findings shown that free radicals may have an important role in PAP toxicity. However, GSH has no protective effect on PAP toxicity.



## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında ilgi ve desteğini gördüğüm Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı, değerli hocam Prof.Dr. Mine İNAL'a ve Yrd.Doç.Dr. Ömer ÇOLAK'a, Yrd.Doç.Dr. Özkan ALATAŞ'a, Yrd.Doç.Dr. Emine SUNAL'a, Yrd.Doç.Dr. Sema USLU'ya, istatistiksel değerlendirmelerimde yardımcı olan Prof.Dr. Kazım ÖZDAMAR'a, Yrd.Doç.Dr. Setenay DİNÇER'e, Araş.Gör. Fezan ŞAHİN'e ve histolojik çalışmalarda yardımcı olan Doç.Dr.Cengiz BAYÇU'ya ve Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışan tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

## İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	iii
SUMMARY .....	v
TEŞEKKÜR .....	.vii
İÇİNDEKİLER .....	.viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Faz I Reaksiyonları .....	3
2.1.1. Oksidasyon .....	4
2.1.2. Redüksiyon .....	5
2.1.3. Hidroliz .....	5
2.2. Faz II Reaksiyonları .....	6
2.2.1. Glukronidasyon .....	6
2.2.2. Sülfatasyon .....	6
2.2.3. Glutasyon Konjugasyonu .....	7
2.3. Ksenobiotiklerin Toksik Etkileri .....	8
2.4. p-Aminofenol (4-Aminofenol) .....	9
2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma .....	13
2.5.1. Serbest Radikallerin Biyolojik Kaynakları .....	13
2.5.2. Serbest Radikal Riski Bulunan Hücresel Komponentler .....	14
2.5.3. Serbest Radikallere Karşı Hücresel Defans .....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	19



	<u>Sayfa</u>
4. BULGULAR	22
4.1. Plazma ve Entrositlere Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirilmesi	22
4.2. Karaciğer Dokusuna Ait MDA ve SOD Bulguları ve İstatistiksel Değerlendirmesi	23
4.3. Böbrek Dokusuna Ait MDA ve SOD Bulguları ve İstatistiksel Anlamı	24
4.4. Histolojik Bulgular	25
4.4.1. Karaciğer Dokusuna Ait Işık Mikroskopi Bulguları	25
4.4.2. Böbrek Dokusuna Ait Işık Mikroskopi Bulguları	28
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ	38
KAYNAKLAR DİZİNİ	39
EK-ÇİZELGELER DİZİNİ	47
EK-ÇİZELGE-1	47
EK-ÇİZELGE-2	48
EK-ÇİZELGE-3	49
EK-ÇİZELGE-4	50
ÖZGEÇMİŞ	51

## Ş E K İ L L E R D İ Z İ N İ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Sitokrom p-450 Siklusü . . . . .	4
2.2. Glutasyon Konjugasyonu . . . . .	7
2.3. p-Aminofenol Bileşikleri . . . . .	10
4.1. Kontrol Grubu Karaciğer Dokusunda Normal Histolojik Yapı .	26
4.2. PAF Grubu Karaciğer Dokusunda Yağlı Dejenerasyon . . .	27
4.3. PAF Grubu Karaciğer Dokusunda Nekrotik Alan . . . . .	27
4.4. PAF+GSH Grubunda Düzelmış Karaciğer Dokusu . . . . .	28
4.5. Kontrol grubu Böbrek Dokusunda Normal Histolojik Yapı . .	29
4.6. PAF Grubu Böbrek Dokusunda Korteks Bölgesindeki Hasarlar, Lümende Kast Birikimi. Dilate ve Nekroze Tübüller ve Hücre İnfiltrasyonu . . . . .	30
4.7. PAF+GSH Grubu Böbrek Dokusunda Tübüler Nekroz ve Kast Birikimi . . . . .	31

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Faz I Reaksiyonları . . . . .	5
2.2. Hücre içi Antioksidan Defans Mekanizmaları . . . . .	16
4.1.1. Gruplara Ait Eritrosit SOD Aktivitelerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi . . . . .	22
4.1.2. Grupların Plazma MDA Düzeylerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi . . . . .	23
4.2.1. Karaciğer Dokusunda Ölçülen SOD ve MDA Değerlerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi . . . . .	24
4.3.1. Böbrek Dokusunda Ölçülen SOD ve MDA Değerlerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi . . . . .	25
Ek-Çizelge 1. Gruplara Ait Eritrosit SOD Bulguları . . . . .	47
Ek-Çizelge 2. Gruplara Ait Plazma MDA Bulguları . . . . .	48
Ek-Çizelge 3. Karaciğer Dokusunda Ölçülen SOD ve MDA Değerleri .	49
Ek-Çizelge 4. Böbrek Dokusunda Ölçülen SOD ve MDA Değerleri . .	50

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ****Simgeler****Açıklama**

p-Aminofenol	PAF
Süperoksit Dismutaz	SOD
Redükte Glutasyon	GSH
Nikotinamid Adenin Dinükleotid	NADPH
Flavin Adenin Dinükleotid	FAD
4-Dimetil Aminofenol	DMAF
Lipid Hidroperoksit	LOOH
Malonildialdehit	MDA
Okside Glutasyon	GSSG
Nitroblue Tetrazolium	NBT
Tiobarbuurik Asit	TBA

## 1. GİRİŞ

Endüstriyel ve teknolojik gelişmelere paralel olarak, özellikle gelişmiş toplumlar, giderek artan bir biçimde çeşitli kimyasal maddelerin etkisi altında kalmaktadır. Besinle alınan doğal bileşikler dışında kalan ve çeşitli yollardan insan vücuduna giren kimyasal maddelere “ksenobiotikler” adı verilir. Çağdaş yaşamda hergün insan vücuduna çeşitli şekillerde ksenobiotik girmektedir. Bunlar arasında; ilaçlar, gıdalara katılan koruyucu kimyasallar, insektisid ve fungusid artıkları (besin kontaminantları), havayı ve suları kirleten endüstriyel artıklar ve egsoz dumanları yer tutar (9, 26, 32).

Ksenobiotikler vücutta çeşitli enzimlerin etkisi ile değişime uğrarlar. Ancak bu değişim sırasında ortaya çıkan reaktif ara metabolitler, hücre yaşamında fonksiyonel önemi olan subsellüler yapılar ve makromoleküller ile etkileşerek toksik hasar oluştururlar (20, 26, 32).

p-Aminofenol (PAF), kuvvetli nefrotoksik bir bileşiktir. Ayrıca methemoglobinemi'ye yol açtığı bilinmektedir. Antipiretik ve analjezik etkinliği olmasına karşın ilaç olarak kullanıldığında oldukça toksiktir. Bu nedenle N-asetil-p-aminofenol (asetaminofen, parasetamol) ve fenasetin gibi türevleri ilaç olarak kullanılmaktadır. Ancak PAF, bu bileşiklerin metaboliti olması nedeniyle, deneysel analjezik toksite çalışmalarında model olarak kullanılmaktadır (10, 16, 18, 39, 45).

Aerobik organizmalar ; molekül oksijenin univalent indirgenmesi nedeniyle süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ) gibi reaktif oksijen ürünleri üretme yeteneğindedirler. Normal koşullar altında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi intrasellüler antioksidan enzimler ve redükte glutatyon (GSH),  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini) gibi nonenzimatik radikal yakalayıcıları

reaktif oksijen ürünlerini ortadan kaldırırlar. Bu koruyucu mekanizmalar, hücre komponentlerini radikal hasarından korumaktadır. Bununla birlikte iskemi, reperfüzyon ve inflamasyon gibi bazı patolojik durumlar ve radyasyon gibi çevresel etkenler serbest radikallerin oluşumunu arttırlar. Oksijenden türeyen serbest radikaller, birçok biyokimyasal substrata atak yaparak membran lipid peroksidasyonu, esansiyel enzimlerin inaktivasyonu ve DNA hasarına yol açar. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yol açtığı ve poliansatüre yağ asitlerinin degradasyonu ile oluşan otokatalitik bir prosestir (2, 22, 38, 43).

Son yıllarda ksenobiotikler ile ortaya çıkan toksik etkilerin moleküler temelinde serbest radikallerin önemli bir rolü olabileceği ileri sürülmektedir (26, 44). Bu nedenle ksenobiotikler ile serbest radikaller ve hücreyel antioksidan defans mekanizmaları arasındaki ilişki üzerinde çok durulan konulardan bir tanesidir.

GSH, antioksidan bir bileşik olması yanında, ksenobiotikler ile ortaya çıkan reaktif metabolitlerin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında önemli bir role sahiptir.

Çalışmamızda, PAF'ün bilinen toksik etkileri üzerinde serbest radikallerin rolünü araştırdık. Ayrıca radikal yakalayan bir madde olan GSH'un PAF toksisitesi üzerindeki etkilerini inceledik. Bu amaçla, çalışmaya alınan ratların bir grubuna PAF verdik. Diğer bir gruba ise PAF'e ilave olarak GSH uyguladık. Daha sonra ratların eritrositlerinde SOD, plazmalarında lipid peroksidasyonu son ürünü olan malonildialdehid (MDA) düzeylerini ölçtük. Ayrıca her iki parametreyi böbrek ve karaciğer dokularında da tayin ettik.

## 2. GENEL BİLGİLER

Ksenobiotik (Xenos:Yabancı) terimi vücuda yabancı olan bileşik anlamındadır. Tıp alanında önemi olan ksenobiotikler ilaçlar ve kimyasal karsinojenler gibi çeşitli kimyasal bileşiklerdir (32).

İlaçların ve diğer ksenobiotiklerin çeşitli enzimlerin katalize ettiği reaksiyonlar ile daha az etkili ya da etkisiz bileşikler (metabolitler) şekline dönüşmesine “Biotransformasyon” veya “Detoksifikasyon” adı verilmektedir. Bazı durumlarda ise biotransformasyon sonucu daha toksik bileşikler meydana gelebilir. Bir kısım ksenobiotik ise değişikliğe uğramadan vücuttan atılır.

Biotransformasyonun amacı, lipitte çözünebilen yapıların sudaki çözünürlüklerini arttırmak ve böylelikle vücuttan atılımlarını kolaylaştırmaktır. Suda çözünür bu yapılar, hücrelere daha az absorbe olur ve kolaylıkla elimine edilebilir. Eğer çok hidrofobik olan bazı ksenobiotiklerin polariteleri arttırılmazsa bu bileşikler adipoz dokuda birikir (9, 20, 26, 32).

Biotransformasyon reaksiyonlarında görev alan enzimler karaciğerde lokalizedir. Bu enzimler ayrıca böbrek, akciğer, gastrointestinal epitel gibi dokularda düşük oranlarda bulunmaktadır (26).

Enzimatik biotransformasyon reaksiyonları, Faz I ve Faz II reaksiyonları adı verilen iki sınıfta ayrılmaktadır.

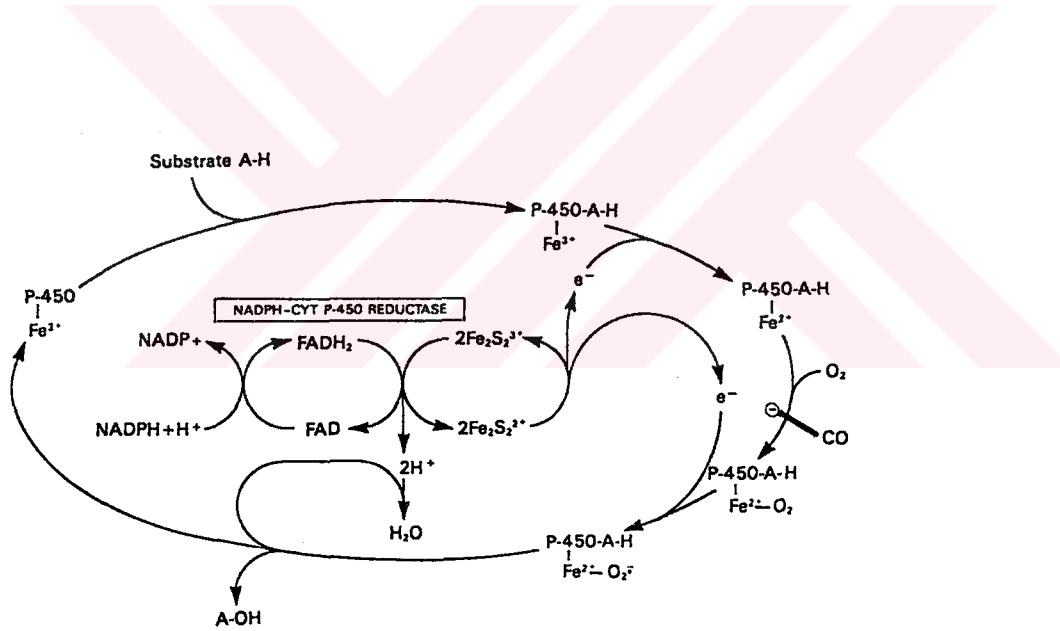
### 2.1. Faz I Reaksiyonları

Faz I reaksiyonlarında ksenobiotikler: oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz reaksiyonları ile daha polar metabolitlere dönüşürler.

### 2.1.1. Oksidasyon

Hepatik endoplazmik retikulum'un lipid matriksinde "monooksijenazlar" şeklinde adlandırılan oksidatif enzimler bulunmaktadır. Bu enzim sistemlerinin en önemli örneği Sitokrom p-450 monooksijenaz sistemi (veya miks-fonksiyonlu oksijenaz)'dır.

Bu sistem coupled bir sistemdir ve NADPH bağımlı bir sitokrom p-450 redüktaz enzimini içerir. Bu enzim, bir enzim substrat kompleksine NADPH'dan bir elektron transferini sağlar. Daha sonra moleküler oksijen ile kompleksin oksidasyonunu gerçekleştirir ve moleküler oksijenin elektron alarak suya dönüşümünü katalize eder (18, 20, 26, 32, 47).



Şekil 2.1. Sitokrom p-450 Siklüsü

Şekilde AH çok geniş bir ilaç grubunu, karsinojenleri, çevre kirliliğine neden olan etkenleri ve steroidler gibi pekçok bileşiği simgelemektedir. Sitokrom p-450 sistemi ile AH okside bir bileşiğe dönüşmektedir (AOH).



### 2.1.2. Redüksiyon

Oksidasyona oranla daha az meydana gelen bir olaydır. NADPH ile birlikte FAD (flavin adenin dinükleotid) veya diğer flavinlerin yardımı ile gerçekleşir. Karaciğer ve diğer dokuların endoplazmik retikulumunda bulunan enzimler azo ve nitro bileşiklerinin redüksiyonunu katalize eder (18, 20, 32).

### 2.1.3. Hidroliz

Esterler karaciğer, plazma, gastrointestinal sistem ve diğer dokularda non-spesifik esterazlar ile hidroliz edilir. Amid bileşikleri büyük oranda karaciğerde hidrolize uğrar. Polipeptidlerin hidrolizi ise plazma, eritrosit ve diğer dokular da proteaz ve peptidazların katalizi ile gerçekleşir (18, 20, 32).

Çizelge 2.1. Faz I reaksiyonları

---

#### I. Oksidatif reaksiyonlar

- Aromatik bileşiklerin hidroksilasyonu
- Alifatik bileşikler ve alifatik yan zincirlerin hidroksilasyonu
- Oksidatif O-dealkilasyon
- Oksidatif N-dealkilasyon
- Tioeter oksidasyonu (sülfoksidasyon)
- Halka aromatzasyonu
- Primer aldehit ve ketonların oksidasyonu
- Arseno bileşiklerinin oksidasyonu
- N-oksidasyon ve N-hidroksilasyon

## II. Redüktif Reaksiyonlar

- Azo bileşiklerinin redüksiyonu
- Aromatik nitro bileşiklerinin redüksiyonu
- Aldehit ve ketonların redüksiyonu

## III. Hidroliz

- Esterlerin hidrolizi
  - Amidlerin hidrolizi
  - Polipeptidlerin hidrolizi
- 

### 2.2. Faz II Reaksiyonları

Faz II reaksiyonları, ksenobiotilerin fonksiyonel gruplarının glutatyon, glukronik asit veya sülfatlar gibi yapılarla konjugasyonunu kapsar. Bu mekanizma, konjugatları suda daha kolay çözünür ve atılabilir hale getirir. Konjugatlar böylelikle idrar ve safra ile atılırlar. Konjugasyon birçok durumda biyolojik aktiviteyi azaltır(26, 32).

#### 2.2.1. Glukronidasyon

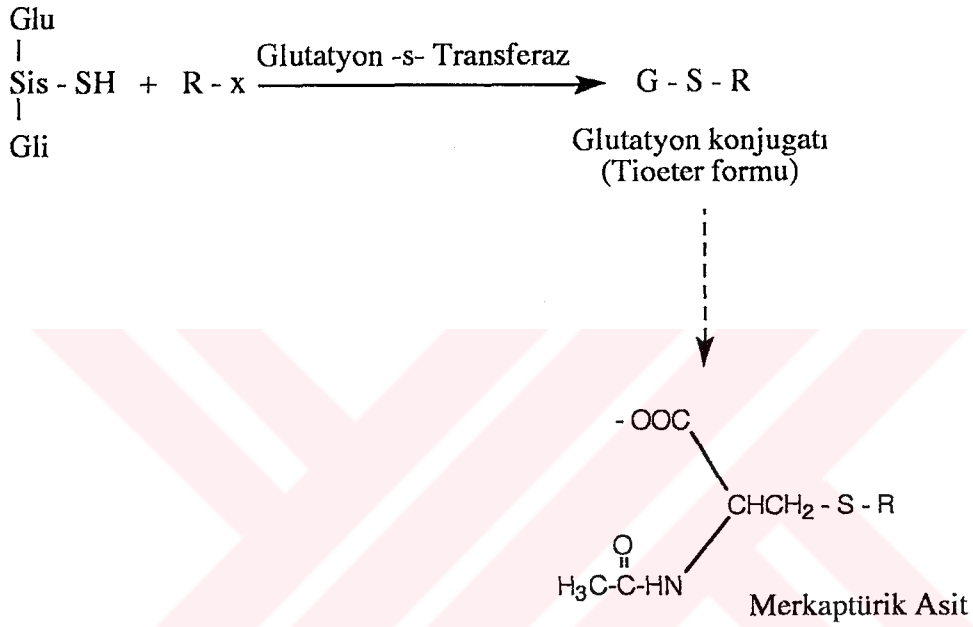
Reaksiyon glukronil transferaz enzimi ile katalize edilir. Bu enzim glukronat vericisi olarak üridin difosfat glukronat (UDP-glukronat) kullanır. Glukronil konjugasyonu yabancı bileşiklerin COOH, OH, SH gibi grupları ile oluşur. 2-asetil-aminofloren, anilin, benzoik asit ve steroidler gibi pekçok bileşik glukronatlar şeklinde atılır (18, 26, 32, 47).

#### 2.2.2. Sülfatasyon

Bu reaksiyonlar fenol veya alkollerin hidroksil gruplarına sülfat transferini kapsar. Sülfat donörü Adenozin-3-fosfat-5-fosfosülfat (PAPS)'dır (26, 32).

### 2.2.3. Glutatyon Konjugasyonu

Glutatyon ( $\gamma$ -glutamil-sisteinil-glisin), glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptid'dir. Elektrofilik yapıdaki ksenobiotikler, glutatyon'un sistein amino asidine elektrofilik atak yaparlar.



Şekil 2.2. Glutatyon Konjugasyonu

Bu reaksiyonları katalize eden enzimlere Glutatyon-S-transferaz'lar adı verilir. Glutatyon konjugasyonu'nun reaktif elektrofillerin toksisitesinde önemli bir hücresel koruma oluşturduğu bildirilmiştir (17, 25, 26, 27, 32).

Glutatyon konjugeleri atılım öncesi daha ileri metabolizasyona uğrarlar. Önce glutatyonun glutamil ve glisinil grupları spesifik enzimler tarafından uzaklaştırılırlar ve geri kalan sisteinil kısmının amino grubuna bir asetil grubu eklenir. Sonuçta oluşan bileşik idrarla atılıma uğrayan N-asetil sistein'in konjugesi olan Merkaptürik asit'tir.

Diğer önemli konjugasyonlar ise Asetilasyon ve metilasyon'dur (32).

### 2.3. Ksenobiotiklerin Toksik Etkileri

Toksik etkilerin en sık oluştuğu organ karaciğer ve böbreklerdir. Karaciğer hücresi biotransformasyon olaylarının en yoğun yaşandığı bir yer olması nedeniyle reaktif metabolitlere en sık maruz kalan yapıdır. Karaciğer'de oluşan reaktif metabolitlerin bir kısmı çok kısa ömürlüdür. Bu rnler sadece karaciğere zarar verebilirler. Daha uzun ömürlü olanlar ise dolaşımla diğer organlara taşınarak onlarada zarar verebilirler. Böbrek Tubuluslarında, glomerular filtrat içindeki ilaç veya metabolitlerin çok konsantre olması, tubulus ve toplayıcı kanal hücrelerinin vücudun diğer hücrelerine oranla çok yüksek konsantrasyonda ksenobiotiğe maruz kalmasına yol açar. Ayrıca, tubulus hücrelerinin ilaç ve ksenobiotik metabolizmasına katılan enzimlerinin etkisi altında orada reaktif metabolitleri oluşabilir (20, 26).

Ksenobiotikler, patolojik lezyonların oluşumu ve önemli metabolik yolların bozulması ile patolojik hasara yol açarlar. Hasar bölgesinde enzim inhibisyonu, DNA farlılaşması ve lipid yapıların bozulması gibi etkiler oluştuğu tespit edilmiştir (20).

Ksenobiotiğin kendisi etken olabildiği gibi, reaktif metabolitleri de hücresel makromoleküllere kovalan olarak bağlanarak hücrede fonksiyonel, biyokimyasal ve yapısal değişiklikler meydana getirebilirler.

Reaktif metabolitlerin bir rneği epoksitlerdir. Bu bileşikler aromatik halkanın hidrosillenmesi sırasında oluşan dayanıksız ara ürünlerdir. Epoksit hidrolaz enzimi, epoksitleri dihidrodiollere dönüştürerek toksik etkilerini azaltır. Diğer reaktif metabolit rnekleri N-oksit ve N-hidroksil türevleridir (26).

Yabancı moleküller, membran transport proteinlerine bağlanarak membran geçirgenliğini etkileyebilir. Ayrıca reaktif metabolitlerin mitokondrial oksidatif fosforilasyonu etkilediği gösterilmiştir (7, 20, 32).

Ksenobiotiklerin reaktif türleri, bir proteine bağlanarak onu

değişikliğe uğratabilir ve antijen özelliğini değiştirebilir. Bunun sonucunda hücrenin biyokimyasal olaylarını bozan immünolojik mekanizmalar ile hücrenel hasar oluşabilir.

Kimyasal karsinogenez'de kimyasal karsinogenlerin DNA ile oluşan reaksiyonlarda çok önemli olduğu düşünülmektedir (20, 32).

Ksenobiotiklerin bazıları ile oluşan hastalıkların görünümü, kanın fonksiyonel ve morfolojik görünümü ile birliktedir. Hemoglobin saturasyonu ve yıkımındaki artış, ayrıca pıhtılaşma bozuklukları toksik ajanlar sayesinde oluşabilir.

Hemoglobindeki 2 değerlikli demir (ferro), oksitlenerek 3 değerlikli demir (ferri) haline gelirse methemoglobin adını alır.

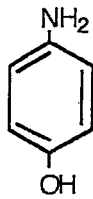
Methemoglobin'i okside hemoglobin'e indirgeyen enzim sistemleri bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) methemoglobin redüktaz'dır.

Oksidatif stressörler vücuda çeşitli şekillerde girerler. Endüstride methemoglobinemi aromatik nitro ve amino bileşikleri ile oluşabilir. Bu bileşikler farmakolojide, anilin boyalarının sentezinde, lastik ve kauçuk sanayinde yaygın olarak kullanılmaktadır (20).

Son yıllarda bazı ksenobiotiklerin biotransformasyonları sırasında serbest radikal üretimine neden oldukları ve radikallerin hücre düzeyindeki toksik etkilerden sorumlu oldukları gösterilmiştir (21, 26, 44, 46).

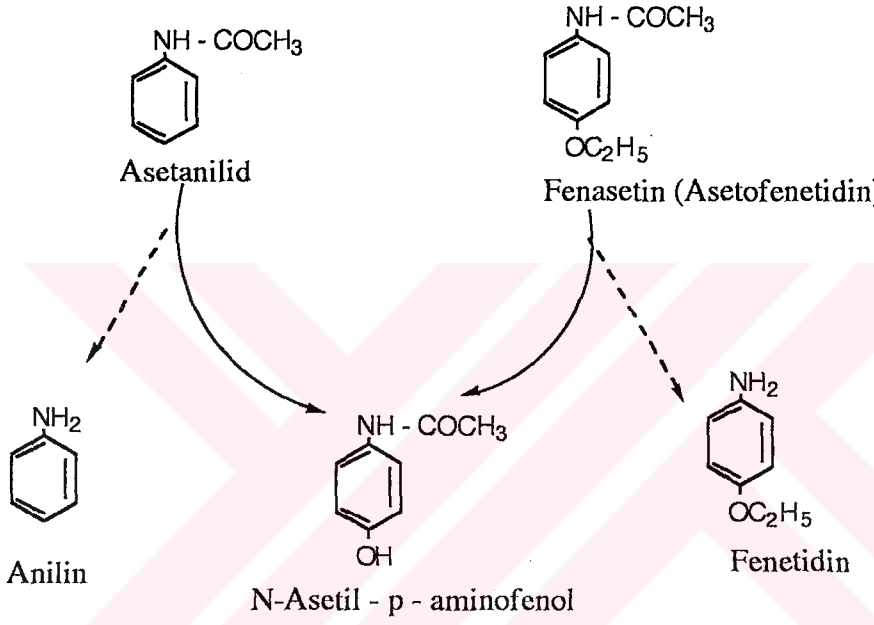
#### 2.4. P-Aminofenol (4-aminofenol)

p-Aminofenol, aromatik nitro bileşiklerinden birisidir.



p- Aminofenol (4- Aminofenol)

Kuvvetli antipretik ve analjezik etkinliğe sahiptir. Ancak ilaç olarak kullanıldığında oldukça toksiktir. Bu nedenle p-aminofenol derivativesi olan asetaminofen (Parasetamol), anilin, fenasetin ve asetanilid bileşikleri ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu analjezikler “kömür katranı analjezikleri” olarak adlandırılmaktadır (16, 18, 39).



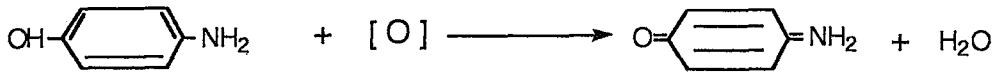
Şekil 2.3. p- Aminofenol Bileşikleri

PAF'ün bu analjeziklerin metaboliti olduğu bilinmektedir. Bu nedenle PAF, bu analjeziklerin toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda model olarak kullanılmaktadır.

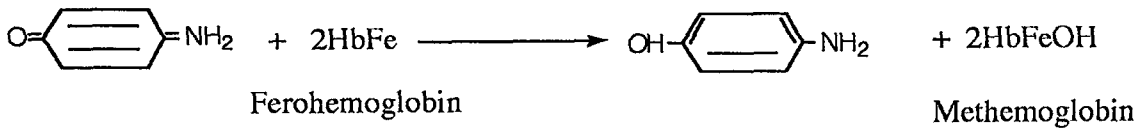
PAF tek enjeksiyonla proksimal tübüllerde nekroza yol açan bir bileşiktir. PAF enjeksiyonuna bağlı olarak proksimal nefropati ile birlikte üriner enzim artışı, glukozüri ve amino asidüri görülmüştür. Ayrıca PAF enjeksiyonundan sonra BUN (blood ürea nitrogen)'da 24 ve 48. saatlerde artış olduğu bildirilmiştir (16).

PAF katalitik olarak, elektronların ferrohemoğlobinden oksijene

transferini sağlar. Kendisi de fenoksil radikali ve kinonimin bileşiğine okside olur.



oluşan okside ürünler ferrohemoğlobin tarafından indirgenir ve ferrihemoğlobin (methemoğlobin) oluşur.



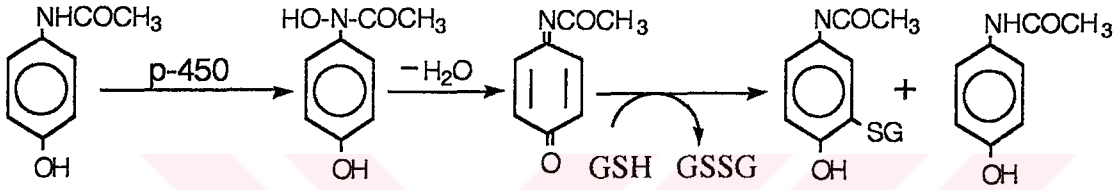
Katalitik ferrihemoğlobin oluşumu, redükte glutatyon ve hemoğlobinde'ki SH gruplarına PAF'ün bağlanması ile sonlanır. Glutatyon konjugasyonu ile PAF'ın glutatyon-S-konjugatları oluşur. Eritrositlerde aminofenollerin reaksiyonları, 4-dimetilaminofenol (DMAF) ile çalışılmıştır. DMAF'ün tioeter formasyonu ile ilgili kinetik çalışmalar, başlangıçta S,S-(2-dimetilamino-5-hidroksi-fenilen)-bis-glutatyon (di (GS)-DMAF) oluştuğunu göstermiştir. Bu tioeter yüksek oranda otookside olma yeteneğindedir ve diğer tiol grubunun eklenmesi ile stabil bir bileşik olan S,S,S-(2-dimetilamino-5-hidroksi-1, 3, 4-fenilen)-tri-glutatyon (tri (GS)-DMAF) bileşiği meydana gelir.

Aminofenol'lerin küçük miktarları, çok büyük miktarlarda hemoğlobini methemoğlobine dönüştürebilir. Vücutta o- ve p-aminofenollere dönüşebilen bileşikler methemoğlobin oluşumundan sorumlu olabilir.

İzomerik monoaminofenollerin %60-70'lik bir kısmı glukronit konjugatı halinde atılmaktadır. %12-15'lik bir kısmı ise sülfat esteri halinde atılır. Ayrıca methemoğlobin oluşumu sırasında oluşan glutatyon-S-konjugatları, eritrositlerin detoksifikasyonda önemli bir paya sahip

olduğunu göstermektedir (10, 11, 12, 47).

Arilaminler, sitokrom p-450 monooksijenaz sistemi ile N-hidroksilasyona uğrarlar. Arilaminlerin N-hidroksilasyonu karaciğer, böbrek, akciğer ve diğer organların endoplazmik retikulumunda olmaktadır. Bu bileşiklerden bir tanesi asetaminofen'dir. Bu bileşik sitokrom p-450 ile N-asetaminofen'e okside olur. Daha sonra dehidratasyon ile N-asetil-p-benzokinonimin bileşiği meydana gelir (15, 23, 34).



Sitokrom p-450 ile biotransformasyonun benzer bir örneği p-Aminofenol için ileri sürülmüştür. Bununla birlikte PAF'a ait kinonimin formu N-asetil-p-benzokinonimin'e oranla çok daha anstabilidir ve hızla kondenzasyon ve detoksikasyon ürünlerine dönüşür.

Kinonimin bileşiklerinin oluşumu bir serbest radikal mekanizması üzerinden yürümektedir.



oluşan radikal semikinon radikalidir.

p-Aminofenol'ler ve onların oksidasyon ürünlerinin : sitokrom p-450 bağımlı mikrozomal monooksijenaz sistem enzimlerini inhibe etmesi nedeni ile DNA koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (34).



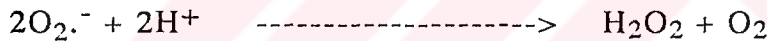
## 2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma

Serbest radikaller son yörüngelerinde tek sayıda elektron bulunduran atom veya moleküllerdir. Organizmada meydana gelen pekçok reaksiyon için (sitokrom p-450 ile oluşan oksidasyonlar gibi, Şekil 1) serbest radikaller gereklidir. Ancak çeşitli patolojik durumlarda yapımı artan bu ürünler, hücresel makro moleküller ile reaksiyona girerek hücre hasarı oluştururlar.

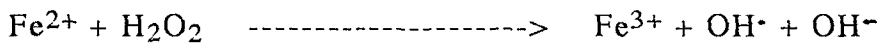
### 2.5.1. Serbest Radikallerin Biyolojik Kaynakları

Oksijen aerobik organizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri için gerekli olmasına karşın potansiyel olarak toksik bir maddedir. Serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Moleküler oksijenin tek elektronla indirgenmesi sonucu süperoksit radikali ortaya çıkar.

Süperoksit radikali, süperoksit dismutaz enziminin katalize ettiği bir reaksiyon ile:



Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'e dönüşür.  $H_2O_2$  toksik bir üründür. Yine özellikle mitokondri içinde Fenton reaksiyonu diye bilinen bir reaksiyon ile:



Hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) oluşur. Hidroksil radikali reaktif oksijen ürünleri arasında en toksik olanıdır.

Organizmadaki serbest radikal kaynakları aşağıdaki gibi özetlenebilir :

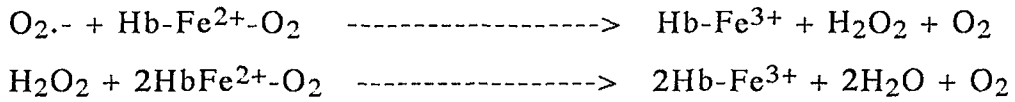
1. Sitokrom p-450 (ksenobiotiklerin oksidasyonu)
2. Mitokondrial elektron transport zinciri
3. Granülosit ve makrofajların aktivasyonu
4. Ksantin oksidaz enzimi
5. Katekolaminler

Hücrenin normal metabolizması sırasında serbest oksijen radikalleri gösterilen yollarla açığa çıkabildiği gibi, iskemi ve reperfüzyon, hiperoksi, inflamasyon ve radyasyon gibi bu mekanizmaları ilgilendiren etkenler serbest radikal üretiminin artmasına neden olmaktadır (2, 22, 43).

### 2.5.2. Serbest Radikal Riski Bulunan Hücresel Komponentler

**Proteinler :** Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin radikallerle etkileşmesi daha fazladır. Sistein, metionin, triptofan, tirozin, fenilalanin ve histidin gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Aktiviteleri için bu aminoasitlere bağlı olan enzimler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenerek inhibe edilirler.

Sitozol proteinleri, sitoplazmik serbest radikaller nedeni ile etkilenerek değişime uğrarlar. Hemoproteinler, örneğin oksihemoglobin, süperoksit radikallerinin ya da  $H_2O_2$ 'in demirle reaksiyonu sonucu methemoglobine dönüşür.



**Nükleik asitler ve DNA :** Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar (2, 13, 14, 22, 30, 43).

**Membran lipidleri :** Membran kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar.

Lipid peroksidasyonu; kanser, inflamatuvar hastalıklar, ateroskleroz ve yaşlanma gibi patolojilere neden olabilen doku hasarından sorumludur.

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli yükseltgen bir radikalin, zar yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki  $\alpha$ -metilen gruplarından bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar.

Biyolojik sistemlerde reaksiyonu başlatan radikalin  $O_2^{\cdot-}$  veya  $OH^{\cdot}$  olduğu kabul edilmektedir. Hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile zincir radikal niteliğini kazanır ( $L^*$ ) ve molekül içi çift bağ aktarımlarıyla dien konjugatları oluşur. Daha sonra lipid radikali moleküler oksijenle birleşir ve lipid peroksit radikali meydana gelir. Oluşan lipid peroksit radikalleri de zar yapısında bulunan poliansature yağ asitlerini etkiler ve yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlar. Yani lipid peroksidasyonu bir zincir reaksiyonudur ve daha ileri lipid peroksidasyonu başlatan radikaller için devamlı bir kaynak sağlar. Lipid peroksit radikalleri, bir hidrojen atomu alarak lipid hidroperoksitlere dönüşür (LOOH).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile sona ermektedir. Bu bileşiklerden bir tanesi malonildialdehit (MDA)'dir. Lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla MDA ölçümü yapılır. Ayrıca dien konjugatları, lipid hidroperoksitleri ve son ürünlerden olan etan ve pentan gazlarının ölçümü de son yıllarda lipid peroksidasyonunun ölçüsü olarak kullanılmaktadır.

Lipid peroksidasyonu membran lipidlerini etkilemesi nedeni ile membran işlevini bozar ve doku hasarına neden olur (28, 32, 38).

### **2.5.3. Serbest Radikallere Karşı Hücreyel Defans**

Organizmada oksijenden türeyen serbest radikallerin yok edilmesi buna bağlı doku hasarının önlenmesinde çeşitli antioksidan defans mekanizmaları bulunmaktadır.

## Çizelge 2.2. Hücreiçi Antioksidan Defans Mekanizmaları

---

### I. Enzimatik Savunma

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Glutatyon Peroksidaz

Katalaz

Glutatyon Redüktaz

NADPH-Kinonoksidoredüktaz (DT-diaforaz)

Epoksit Hidrolaz

Konjugasyon Enzimleri : UDP-Glukronil Transferaz

Sülfonil Transferaz

GSH-S-Transferaz

NADPH sağlayan enzimler : Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz

İzositrat Dehidrojenaz

Malik Enzim

Transport Sistemleri : GSSG atılımı

Konjugat atılımı

### II. Non-enzimatik Savunma

Redükte Glutatyon (GSH)

$\alpha$ -Tokoferol

Askorbik Asit

$\beta$ -Karoten

Ürat

Plazma Proteinleri (Serüloplazmin)

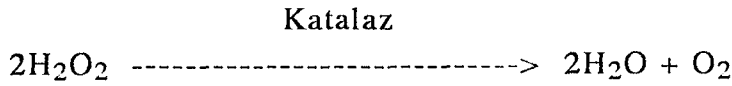
---

### I. Enzimatik Savunma

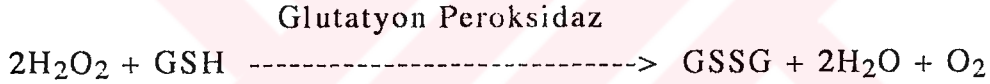
Reaktif oksijen ürünlerinin ortadan kaldırılmasında ilk basamak SOD enziminin katalizi ile süperoksit radikalinin  $H_2O_2$ 'e dönüşmesidir.

Süperoksit Dismutaz (E.C.1.15.1.1.) enzimi, metaloprotein yapısındadır. Cu-Zn ve Mn içeren iki formu bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozol ve mitokondride bulunurken Mn SOD sadece mitokondride bulunur. Cu-Zn SOD her hücrede bulunmaktadır. Oysa Mn SOD sadece kalp, karaciğer ve beyin gibi mitokondrice zengin dokularda bulunmaktadır.

SOD ile oluşan  $H_2O_2$ , hem içeren bir enzim olan katalaz enzimi tarafından su ve moleküler oksijene indirgenir.

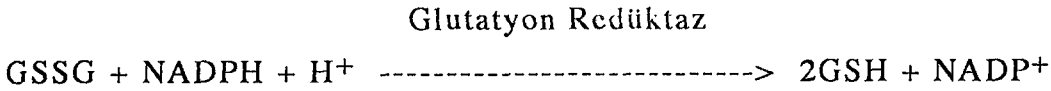


$H_2O_2$ 'i indirgeyen bir başka enzim ise selenyum içeren glutatyon peroksidaz'dır. Bu enzim aynı zamanda lipid hidroperoksitlerini de ortadan kaldırır.



Bu enzimlerin organizmadaki katalizleri sayesinde peroksidatif hasar ortadan kaldırılır.

Oluşan okside glutatyon (GSSG), glutatyon redüktaz enziminin katalize ettiği bir reaksiyon ile tekrar GSH'a indirgenir.



Bu reaksiyonun koenzimi olan NADPH, pentoz fosfat yolunda sentezlenir.

Glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz enzimleri coupled çalışan enzimlerdir. Bu enzimler ile hücreiçi GSSG/GSH oranı (1/500) korunur. Bu oran hücrelerin oksidan ajanlara karşı antioksidan savunmalarında son derece önemlidir. Hücreiçi GSH'un azalması oksidatif strese yol açar (2, 13, 14, 22, 43).

## II. Non-Enzimatik Savunma:

**Redükte Glutatyon** : Tiol (-SH) grupları, reaktif oksijen ürünlerine karşı hücresel savunmada oldukça önemlidir. GSH ( $\gamma$ -Glu-sis-gli), protein yapısında olmayan bir tripeptid'dir. Bu bileşik sisteine ait fonksiyonel bir -SH grubuna sahiptir. GSH gerek nonenzimatik ve gerekse glutatyon peroksidaz enziminin etkisi ile enzimatik olarak GSSG'a dönüşür. Bu yolla hidrojen peroksid'i, lipid peroksidleri, disülfidleri, askorbat ve serbest radikalleri indirgeyebilir (2, 22, 25, 27, 43).

GSH ayrıca glutatyon-S-transferaz enzimlerinin katalizi ile, elektrofilik ksenobiotikler ile glutatyon konjugatları oluşturur. Glutatyon konjugasyonu, ksenobiotik transformasyonunda önemli rol oynar. Bazı ilaçların GSH tüketimine neden olarak toksik etkiler oluşturdukları gösterilmiştir (10, 11, 32).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmada santrifüj işlemlerinde Hettich Universal tipi santrifüj kullanıldı. Numunelerin optik dansiteleri Shimadzu UV-1201 tipi spektrofotometre ile yapıldı. Numuneler ölçüm anına kadar BOCH marka derin dondurucuda -25 °C'de saklandı.

Çalışmada kullanılan kimyasallar :

p-Aminofenol, GSH, SOD standardı, 1.1.3.3 tetraoksipropan, Nitroblue tetrazolium (Sigma Chemical Co.), Riboflavin, Heparin (Roche), TBA (Merck)

#### **Deney Prosedürü :**

Çalışmada 24 erkek Wistar albino rat kullanıldı.

Deney hayvanları üç gruba ayrıldı :

- I. PAF grubu (n=8) : Bu gruptaki hayvanlara 200 mg/kg p-aminofenol uygulandı (100 mg/ml). PAF serum fizyolojik içinde çözülerek hayvanlara verildi.
- II. PAF+GSH grubu (n=8) : Hayvanlara 1. gruba eşdeğer oranda PAF ve 300 mg/kg GSH uygulandı.
- III. Kontrol grubu (n=8) : Bu gruptaki hayvanlara diğer gruplara eşdeğer oranda serum fizyolojik verildi.

Hayvanlara yapılan tüm enjeksiyonlar, intraperitoneal olarak tek dozda uygulandı. İnjektion işleminden sonra, hayvanlara intrakardiak olarak girildi ve 1, 24, 48, 72 ve 96. saatler de heparinize tüplere 1 ml kan alındı. 96. saat sonunda hayvanlar dekapite edilerek öldürüldü. Öldürülen ratların karaciğer ve böbrek dokuları alındı. Dokular üç kez serum fizyolojik ile yıkandı ve kurutma kağıdı üzerinde fazla suyu

emildikten sonra tartıldı. Tartılan dokular daha sonra derin dondurucuda ölçüm anına kadar saklandı. Ölçüm anında dokular homojenize edildi. Homojenize materyal 2000 g de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant fraksiyonu ayrıldı.

Histolojik çalışma için karaciğer ve böbrek dokuları %10'luk nötral formalinde 24 saat tespit edildikten sonra artan dereceli alkollerde dehidrate edilip parafine gömüldüler. 5 $\mu$  luk kesitler, hematotoksilen eosin ile boyandılar. Kesitler incelenerek olympus PM10-ADS fotomikroskop ile mikrofotografları çekildi.

Dokuların protein miktarı Biüret yöntemi ile belirlendi (49).

Doku homojenatlarında SOD ve MDA ölçümleri yapıldı.

Heparinize tüplere alınan kanlar, 1000 rpm de santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalar lipid peroksit ölçümleri yapılincaya kadar -25°C'de derin dondurucu da saklandı.

Plazmaların ayrılmasından sonra kalan eritrositler en az üç kez serum fizyolojik ile yıkandı ve eritrosit paketi hazırlandı. Eritrosit paketinde hemoglobin ölçümleri Drapkin yöntemine göre belirlendi. Daha sonra distile su kullanılarak hemoglobin miktarı 10 mg/dl ye ayarlandı. Eritrosit paketlerinden son olarak eritrosit hemolizatları hazırlandı. Hemolizatlar SOD tayinleri yapılincaya kadar derin dondurucuda saklandı.

### **Superoksit Dismutaz Tayini :**

SOD aktivitesi, Wintern bourn ve ark'ın yöntemine göre belirlendi (48).

Yöntem fotoredüktan bir madde olan riboflavin ile oksijenin reaksiyonundan açığa çıkan süperoksit, radikalinin NBT'u indirgemesinin SOD enzimi tarafından engellenmesi esasına dayanmaktadır.

Enzim ünitesi : NBT redüksiyonunun maksimum inhibisyonunun yarısına yol açan enzim miktarı 1 ünite olarak tanımlandı.



Sonuçlar hemolizatlar için U/g Hb. doku homojenatları için U/mg protein cinsinden verildi.

### **Lipid peroksidasyonu ölçümü :**

Bu yöntem Ohkawa ve ark. (36) yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır.

Yöntem, lipid peroksidasyonu (LP) son ürünlerinden bir tanesi olan MDA'in TBA ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır. Oluşan renk 532 nm'de okundu. Lipid peroksit standardı olarak 1.1.3.3 tetraoksiopropan kullanıldı.

Sonuçlar plazmada nmol MDA/ml, dokuda ise nmol MDA/mg protein olarak verildi.

Tüm istatistiksel değerlendirmeler, tek yönlü varyans analizi ve Tukey w-testinin birlikte kullanılmasıyla yapıldı (37).

#### 4. BULGULAR

##### 4.1. Plazma ve Eritrositlere Ait Bulgular ve İstatistik Anlamı

Ek-Çizelge 1’de gruplara ait eritrosit SOD aktiviteleri, Çizelge 4.1.1 de ise bulguların istatistiksel anlamı verilmiştir.

PAF grubunda 1. saatte ölçülen SOD aktiviteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşüktü ( $p<0.001$ ). Aynı saatte, PAF+GSH ile kontrol grubu arasında fark yoktu ( $p>0.05$ ). 24, 46, 72 ve 96. saatlerde de gruplar arasında istatistik bakımından fark bulunamadı ( $p>0.05$ ).

Çizelge 4.1.1. Gruplara ait eritrosit SOD (U/g Hb) aktivitelerinin istatistiksel değerlendirmesi (Ortalama  $\pm$ Standart hata).

Kan Alma Zamanı (Saat)					
Gruplar	1.	24.	48.	72.	96.
Kontrol (n=8)	4051 $\pm$ 90.23	3768 $\pm$ 144.4	4384 $\pm$ 188.5	3860 $\pm$ 87.6	4363 $\pm$ 132.3
PAF (n=8)	3257 $\pm$ 119.9	3886 $\pm$ 173.3	4289 $\pm$ 133.4	3980 $\pm$ 146.9	4532 $\pm$ 112.2
PAF + GSH (n=8)	4207 $\pm$ 149.0	3401 $\pm$ 120.6	4433 $\pm$ 196	4229 $\pm$ 131.2	4571 $\pm$ 133.2
Kontrol ile PAF	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$
Kontrol ile PAF + GSH	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$
PAF ile PAF + GSH	$p<0.001$	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$

Ek-Çizelge 2’de plazma lipid peroksit değerleri verilmiştir. Bulguların istatistik değerlendirmesi ise Çizelge 4.1.2 de gösterilmiştir.

PAF ve PAF+GSH gruplarında ölçülen lipid peroksit düzeylerinin, 24, 48 ve 96. saatlerde kontrol grubuna göre ileri derecede yükseldiği saptanmıştır (24 ve 96. saatlerde  $p<0.001$ , 48. saatte  $p<0.01$ ). 72. saatte PAF grubu lipid peroksit değerleri kontrol grubuna göre belirgin bir biçimde artış göstermiştir ( $p<0.001$ ). Bununla birlikte PAF+GSH grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).

Çizelge 4.1.2. Grupların plazma MDA (nmol/ml) düzeylerinin istatistiksel değerlendirmesi (Ortalama  $\pm$ Standart hata).

Kan Alma Zamanı (Saat)	1.	24.	48.	72.	96.
Gruplar					
Kontrol (n=8)	3.5 $\pm$ 0.08	2.7 $\pm$ 0.010	3.2 $\pm$ 0.08	3.6 $\pm$ 0.207	3.4 $\pm$ 0.127
PAF (n=8)	3.0 $\pm$ 0.212	3.5 $\pm$ 0.07	3.5 $\pm$ 0.010	4.5 $\pm$ 0.140	5.3 $\pm$ 0.164
PAF + GSH (n=8)	3.1 $\pm$ 0.160	3.5 $\pm$ 0.131	3.7 $\pm$ 0.011	3.6 $\pm$ 0.104	4.9 $\pm$ 0.489
Kontrol ile PAF	$p>0.05$	$p<0.001$	$p<0.01$	$p<0.001$	$p<0.001$
Kontrol ile PAF + GSH	$p>0.05$	$p<0.001$	$p<0.01$	$p>0.05$	$p<0.001$
PAF ile PAF + GSH	$p>0.05$	$p>0.05$	$p>0.05$	$p<0.001$	$p>0.05$

#### 4.2. Karaciğer Dokusuna Ait Lipid Peroksit ve SOD Bulguları ve İstatistiksel Değerlendirilmesi

Ek-Çizelge III’de karaciğer dokularına ait SOD ve lipid peroksit değerleri yer almaktadır. Bu bulgulara ait istatistiksel değerlendirme ise

Çizelge 4.2.1’de verilmiştir.

PAF ve PAF+GSH gruplarına ait SOD aktivitelerinin kontrol grubundan farklı olmadığı bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

PAF grubunda ölçülen LP değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Ancak PAF+GSH grubu ile kontrol grubu arasında fark yoktur ( $p>0.05$ ).

Çizelge 4.2.1. Karaciğer dokusunda ölçülen SOD ve MDA değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi (ortalama±standart hata)

Gruplar	SOD (U/mg prot.)	MDA (nmol MDA/mg prot.)
Kontrol (n=8)	5.7±0.2	0.67±0.07
PAF (n=8)	5.5±0.4	0.94±0.08
PAF + GSH (n=8)	4.8±0.1	0.83±0.08
Kontrol ile PAF	$p>0.05$	$p<0.05$
Kontrol ile PAF + GSH	$p>0.05$	$p>0.05$
PAF ile PAF + GSH	$p>0.05$	$p>0.05$

#### 4.3. Böbrek Dokusuna Ait SOD ve Lipid Peroksit Bulguları ve İstatistiksel Anlamı

Ek-Çizelge IV’de böbrek dokularında ölçülen SOD ve MDA değerleri bulunmaktadır. Bulguların istatistik anlamı ise Çizelge 4.3.1’de gösterilmiştir.

PAF+GSH grubunun SOD aktiviteleri kontrol grubundan önemli düzeyde yüksektir ( $p<0.001$ ). PAF grubunun SOD değerleri de ılımlı bir şekilde artmasına karşın bu yükselmenin istatistik anlamı yoktur ( $p>0.05$ ).

Her iki grupta ölçülen MDA değerleri, kontrol grubundan belirgin şekilde yüksektir ( $p<0.001$ ).

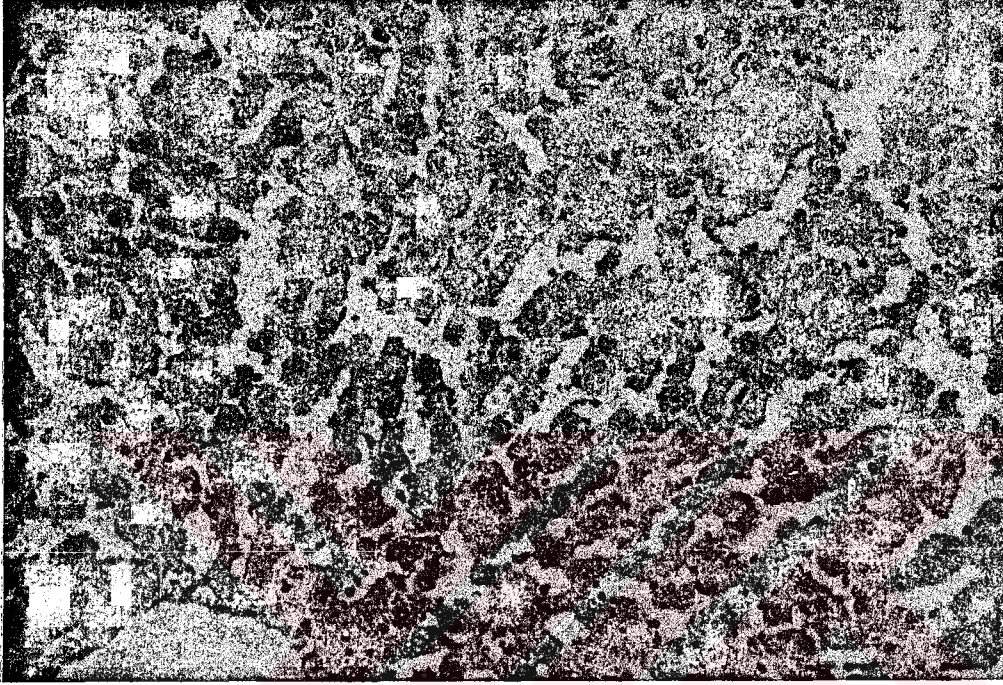
Çizelge 4.3.1. Böbrek dokusunda ölçülen SOD ve MDA değerlerinin istatistiksel değerlendirilmesi (ortalama $\pm$ standart hata)

Gruplar	SOD (U/mg prot.)	MDA (nmol MDA/mg prot.)
Kontrol (n=8)	4.9 $\pm$ 0.13	0.55 $\pm$ 0.051
PAF (n=8)	5.4 $\pm$ 0.37	1.11 $\pm$ 0.062
PAF + GSH (n=8)	7.1 $\pm$ 0.36	0.97 $\pm$ 0.046
Kontrol ile PAF	$p>0.05$	$p<0.001$
Kontrol ile PAF + GSH	$p<0.001$	$p<0.001$
PAF ile PAF + GSH	$p<0.001$	$p>0.05$

#### 4.4. Histolojik Bulgular

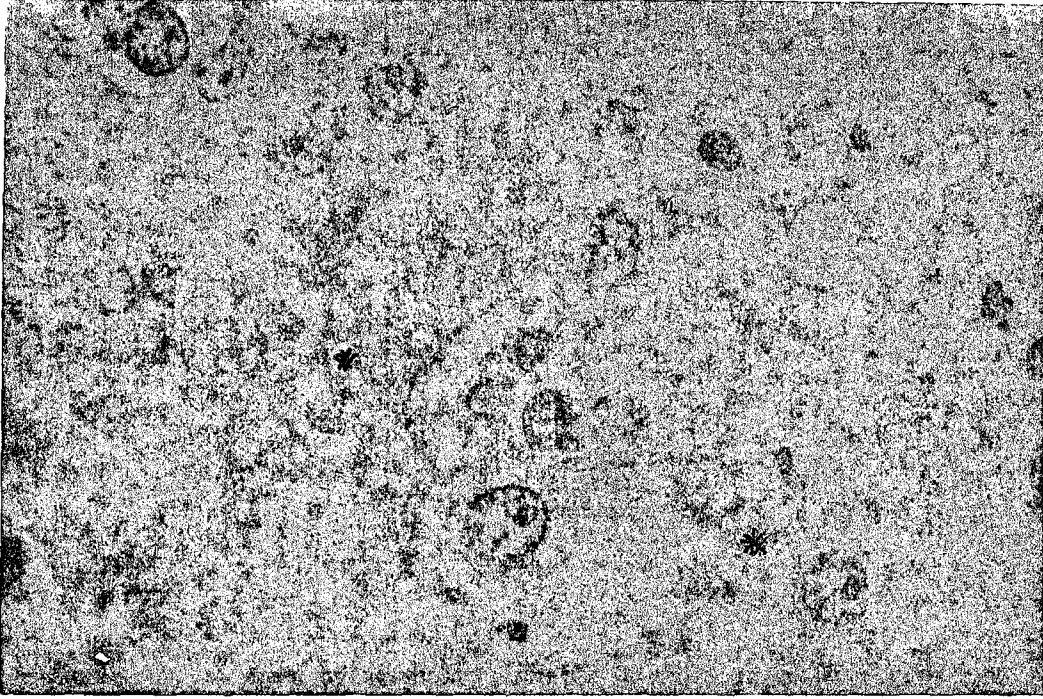
##### 4.4.1. Karaciğer Dokusuna Ait Işık Mikroskopi Bulguları

Kontrol Grubu : Kontrol grubu karaciğerinde normal histolojik yapı dışında bir bulguya rastlanmadı. Hepatositlerde (H.E. boyanmasıyla) normal sitoplazmik ve nükleus boyanması görüldü. Ayrıca lobüllerde normal ışınsal düzen vardı (Şekil 4.1.).

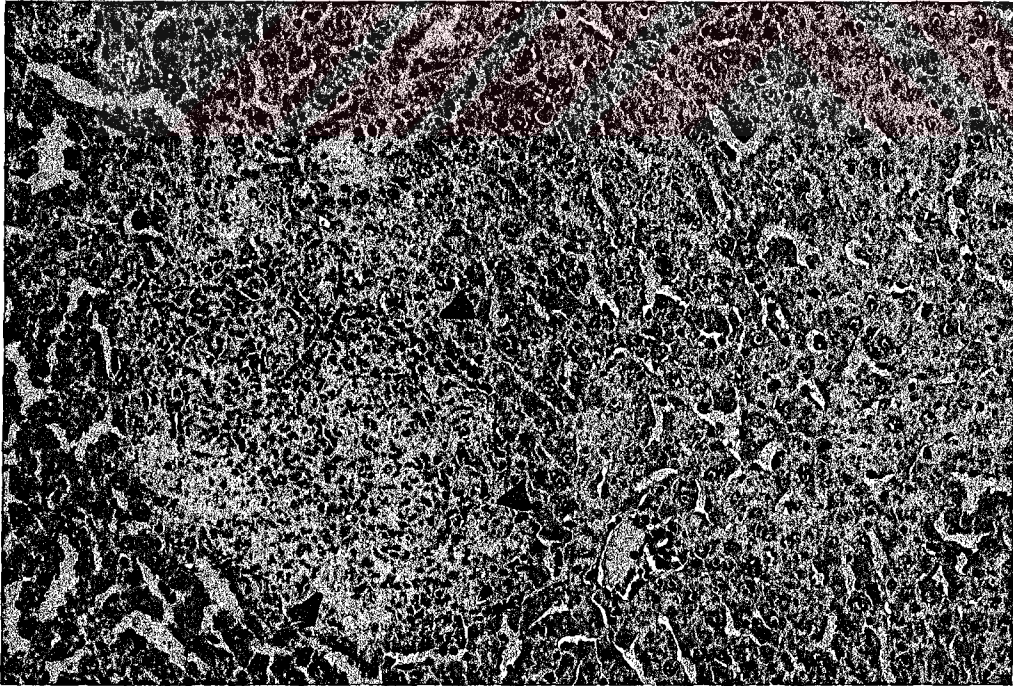


Şekil 4.1. Kontrol grubu karaciğer dokusunda normal histolojik yapı (H.E X 132)

PAF grubu : PAF grubu karaciğerde az sayıda nekrotik alanlar saptandı. Hepatositlerde yoğun hidropik dejenerasyon görüldü. Ayrıca yağlı dejenerasyon ve buna bağlı olarak lipid birikimi çok belirgindi (Şekil 4. 2., 4.3.).



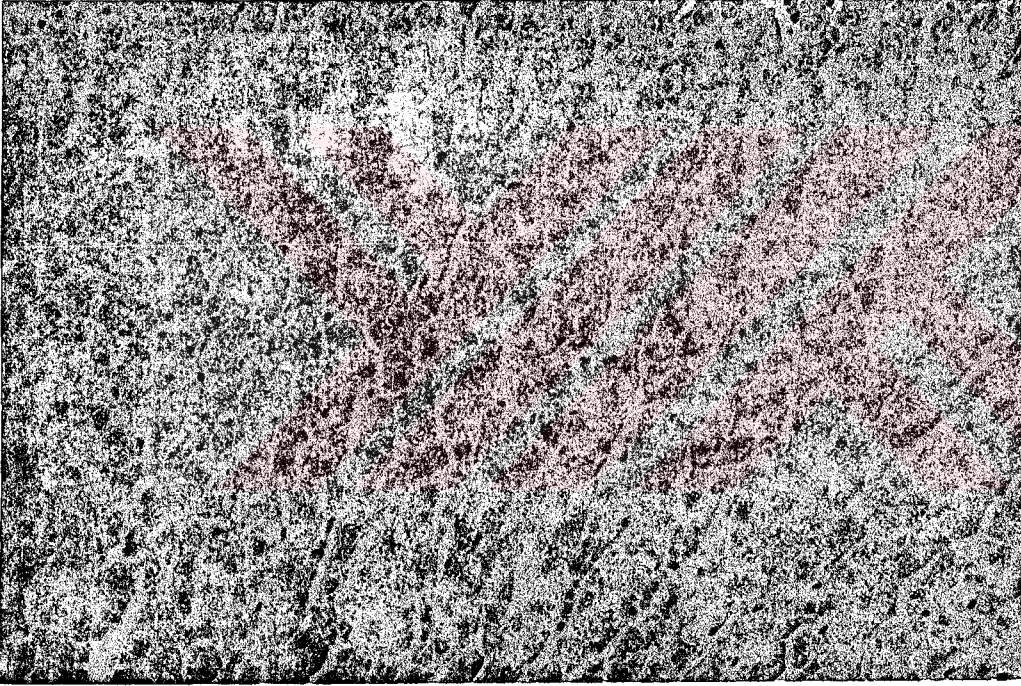
Şekil 4.2. PAF verilen grupta yağlı dejenerasyonlu hepatositler (\*)  
(H.E X 320)



Şekil 4.3. PAF verilen grupta nekrotik alan (kısık ok) (H.E X 132)

PAF+GSH grubu : Bu grupta dikkati çeken ilk bulgu PAF grubunda görülen nekrozun tamamen ortadan kalkmasıydı. Dokunun bazı lobüllerinde düzelmenin gayet iyi olduğu, ancak bazı lobüllerin hepatositlerinde hidropik dejenerasyonun devam ettiği, yağlı dejenerasyonun ortadan kalktığı görüldü.

Karaciğerin PAF grubuna göre daha iyi korunduğu ancak tam düzelme olmadığı gözlemlendi (Şekil 4.4.).

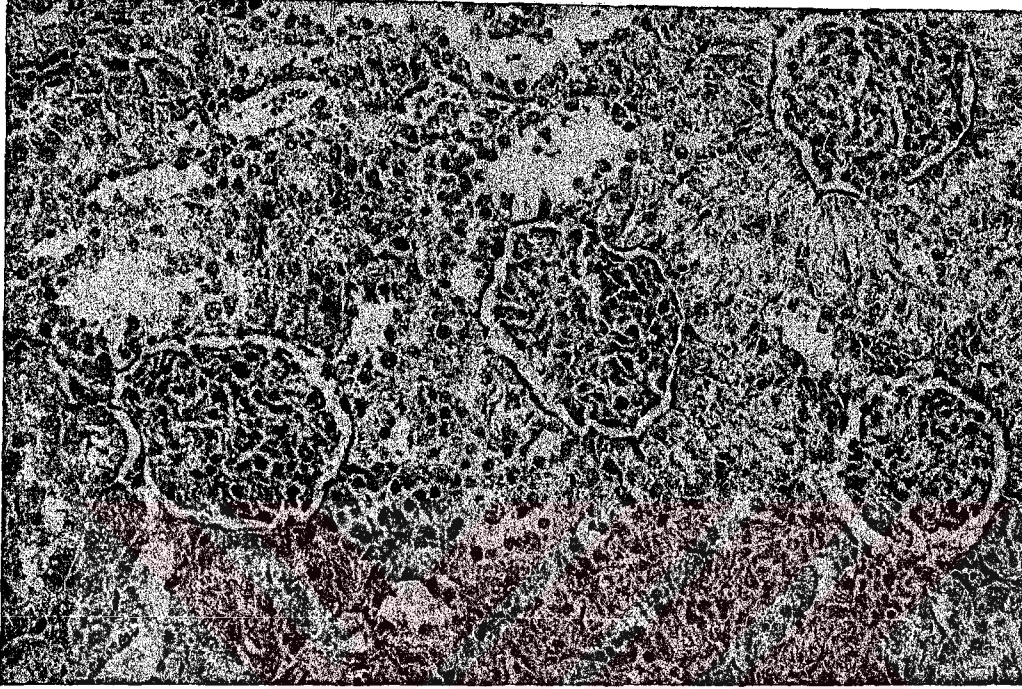


Şekil 4. PAF+GSH verilen grupta düzelmiş karaciğer dokusu  
(H.E X 132)

#### 4.4.2. Böbrek Dokusuna Ait Işık Mikroskopi Bulguları

Kontrol Grubu : Kontrol grubu böbrek dokusunun histolojik incelenmesinde glomerul ve tübüler sisteme dahil yapılar (Distal ve proksimal tübüller) ve medulla yapıları normaldi (Şekil 4.5.).

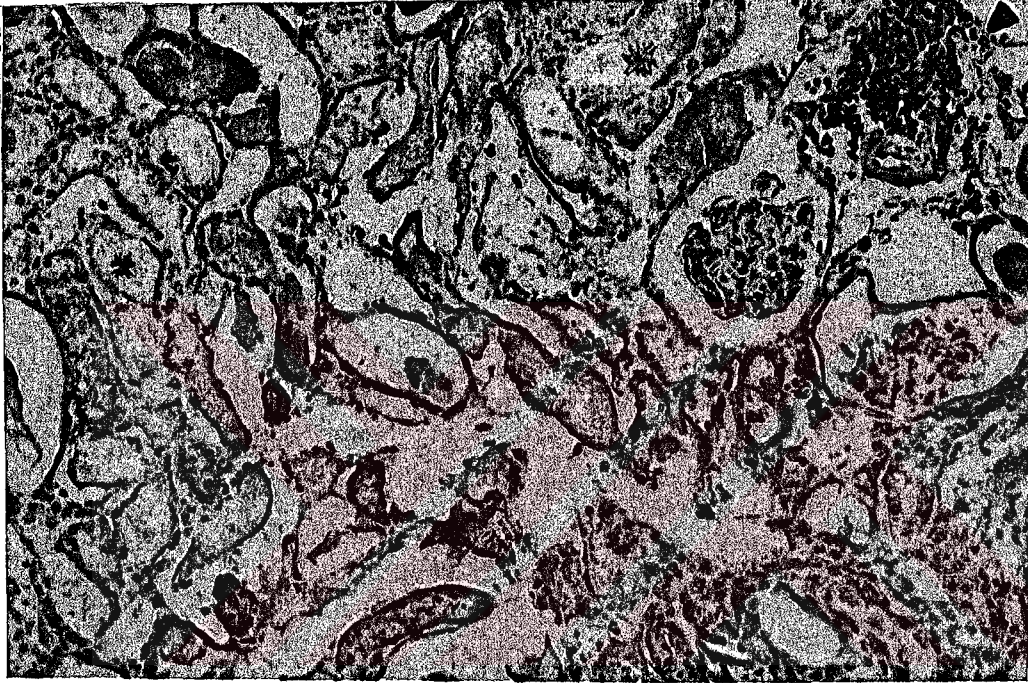




Şekil 4.5.. Kontrol grubu böbrek dokusunda normal histolojik yapı (H.E X 132).

PAF Grubu : PAF grubunun histolojik incelenmesinde yoğun böbrek hasarına rastlandı. Bunlar arasında özellikle distal tübül yapılarında dilatasyonlar ve lümende kast birikimi vardı. Bu görünüm hem dış hemde içkortex'deki distal tübüllerde yer almaktaydı. Korteks bölgesindeki proksimal tübüllerin incelenmesinde yer yer eozinofilisi kaybolmuş ve hidropik sitoplazmalı proksimal tübül epitellerine rastlandı. Korteksin medullaya yakın bölgelerinde ileri derecede nekroze proksimal tübüller görülmekteydi. Az olmak kaydıyla lokal hücre infiltrasyonuna rastlandı. Genellikle proksimal tübüller dış kortekste iyi korunmuş olup, nekroz

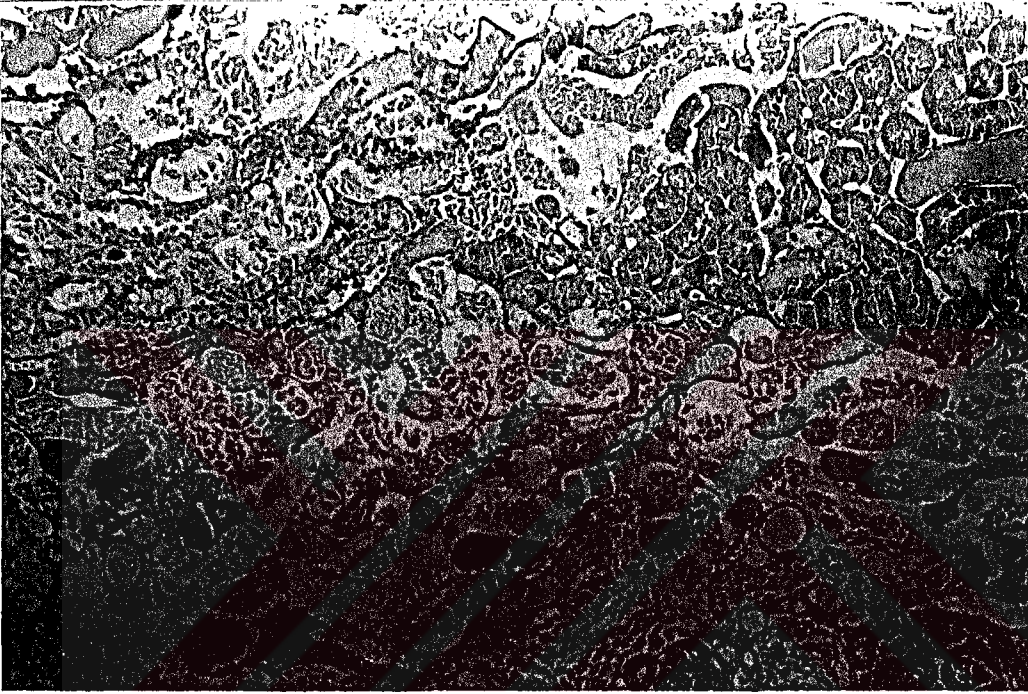
medullaya yakın bölgelerde yoğunlaşmıştı. Glomerullerin ise Bowman Kapsülü duvarı ve kapiller yumağında belirgin bozukluklara rastlanmadı. Ancak bazı glomerül yumaklarının çapları büyümüşü. Medulla bölgesinde tübüler yapılarda herhangi bir bozukluğa rastlanmadı (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. PAF verilen grup böbrek dokusunda özellikle korteks bölgesindeki hasarlar. Lümeninde kast birikimi ( \* ) ve dilate hatta nekroze tübüller görülmekte. Sağ üste hücre infiltrasyonu ( ▶ ) görülmektedir (H.E X 132).

PAF+GSH grubu : Bu grupta böbrek hasarında artış gözlemlendi. PAF grubunda dış korteks bölgesinde gözlenen tübüler hasar bu grupta da vardı. Yine iç korteks bölgesinde de proksimal tübüllerde yoğun nekroze yapılar vardı. Kast birikimi tüm böbrek bölümlerinde yoğun bir şekilde gözlemlendi. Proksimal tübüllerin Pars Konvolütası korteksin dış

bölümlerinde yer yer sağlam kalmıştı. İ kortekste proksimal túbüleri nekroz daha çok Pars Rekta'da görüldü (şekil 4.7.).



şekil 4.7. PAF+GSH verilen grupta böbrek dokusunda artan túbüleri nekroz ve kast birikimi (H.E X 64).

## 5. TARTIŞMA

Yapısal toksik etkilerin oluşmasında ksenobiotikler ve ilaçların kendisi etken olabileceği gibi biotransformasyonu sırasında oluşan reaktif metabolitler de etken olabilirler. Reaktif metabolitler; methemoglobin oluşumu, hemoliz, lipid peroksidasyonu ve membran hasarı, irreversibl bağlanma ve sellüler nekroz, tümör indüksiyonu, mutasyon gibi etkiler oluşturarak hücrede fonksiyonel, biyokimyasal ve yapısal değişikliklere yol açarlar (23, 26).

PAF'ün hücre proteinlerine *in vivo* olarak bağlanmasının sitotoksisite de rolü olmadığı bildirilmiştir. Aynı zamanda PAF, *in vitro* olarak böbrek mikrozomal proteinlerine bağlanmakta, karaciğerde ise bağlanma daha az kapsamda olmaktadır. Bağlanma, PAF'ün havada preinkübasyonu ile artmakta, GSH, NADPH ve askorbat ile azalmaktadır (5).

Bir başka çalışmada PAF'ün karaciğere parasetamol'den daha fazla bağlandığı ancak parasetamol'ün hepatotoksik etkilerine zıt olarak hücre hasarının oluşmadığı gösterilmiştir (29).

Bazı bileşiklerin kendisi veya biotransformasyon ürünü direkt olarak toksik etki yapmaz. Ancak bunların hücrede katıldıkları veya aktive ettikleri reaksiyonlar sırasında ortaya çıkan reaktif oksijen ürünleri toksisiteden sorumludur (26).

Son yıllarda bazı ksenobiotiklerin oksijen ürünlerinin veya diğer serbest radikallerin ortaya çıkmasına neden olarak oksidatif hasara yol açtığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) bu bileşiklerden bir tanesidir. Bu bileşik redüktif dehalojenizasyona uğrarken triklorometil (CCl<sub>3</sub>·) radikali oluşur. Oluşan radikallerin etkisiyle lipid peroksidasyonu artar ve karaciğer dokusunda oksidatif hasar meydana gelir (33, 46). Aynı şekilde etanolün'de reaktif oksijen ürünlerinin ortaya

çıkmasına neden olduğu gösterilmiştir (20, 42).

Kinon grubu içeren birçok ilaç ve bileşik serbest oksijen radikallerini ortaya çıkarırlar (4, 6, 21, 44). Kinon bileşiklerinin metabolizması, bir veya iki elektron redüksiyonu'nu içermektedir. Tek-elektron redüksiyonu semikinon radikali oluşumuna neden olur. Semikinon radikali, moleküler oksijeni hızla indirger ve süperoksit radikali oluşur. Bu radikalin dismutasyonu ile  $H_2O_2$  ve diğer reaktif oksijen ürünleri ortaya çıkar. Doxorubicin (Adriamycin) kinon grubu içeren bir ilaçtır. Bu ilacın oksijen varlığında semikinon radikali üzerinden reaktif oksijen ürünlerini ortaya çıkardığı çalışmalarla gösterilmiştir (19, 44).

Benzer şekilde PAF'ın reaktif metaboliti, kinoid yapıda olan p-benzokinonimin bileşiğidir ve PAF biotransformasyonu sırasında, radikal olduğu bildirilen kinon-hidrokinon dönüşümü olmaktadır (34).

Iwashashi ve ark. (24), 3-hidroksiantranilik asit ve PAF'ın moleküler oksijenle spontan olarak otooksidasyona uğradığını ve süperoksit anyonu oluşumuna neden olduklarını bildirmişlerdir.

Boogard ve ark. (3), Cisplatin (CDDP) ile oluşan nefrotoksisitenin  $Bi3+$  ile tedavi edildiği ve tedavinin renal metalotionein (MT) oluşumu sayesinde gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir. Yayında, MT'nin serbest radikal yakalayıcısı olarak etki yaptığı gösterilmiştir. Çalışmacılar; bulgularının, PAF ile oluşan nefrotoksisitenin oksijen radikalleri sayesinde ortaya çıktığına dair görüşlerini desteklediğini belirtmektedir.

Redükte glutasyon (GSH), hücrenin oksidan ajanlar ile ortaya çıkan peroksidatif hasardan korunmasında ve ksenobiotik transformasyonunda önemli bir role sahiptir. Toksik hasarın oluşmasında sellüler GSH düzeyinin azalması önemli bir bulgudur. Özellikle karaciğer hücresinde olmak üzere reaktif metabolitler, GSH ile konjuge edilerek zararsız hale getirilirler. Hepatotoksik ilaçlarla akut zehirlenmelerde fazla miktarda oluşan reaktif metabolitler, karaciğer hücrelerinin GSH havuzunu tüketerek bu hücreleri savunmasız hale getirmektedir. Tedavi için sistein ve

glutasyon oluşumunu arttıran ilaçların kullanılması, hücrenin reaktif metabolitlere dayanma gücünü arttırmaktadır (17, 25, 27, 31, 32).

PAF uygulamasıyla böbrek GSH düzeyinin 2 saat içinde kontrol değerlerinin %29'una indiği, 24 saat sonra ise kontrolün %50'si oranında yeniden kazanıldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada GSH düzeyinin geçici olarak düştüğü (kontrolün %77'si) belirtilmektedir (8).

Başka bir yayında; eritrositlere in vivo uygulanan PAF'ın %5'inin tioeter formuna (glutasyon konjugatı) dönüştüğü ve buna sellüler GSH'nın %60 azalışının eşlik ettiği gösterilmiştir. Çalışmacılar bulgularına dayanarak ksenobiotik transformasyonunda eritrositlerin önemli bir rolü bulunduğunu belirtmektedir (10).

Biz de çalışmamızda bu bulgulara dayanarak bir grup hayvana PAF'a ek olarak 300 mg/kg GSH verdik.

SOD enzimi, süperoksit radikalinin  $H_2O_2$ 'e dismutasyonunu katalize eder ve serbest radikallere karşı enzimatik savunmanın ilk basamağını oluşturur (2).

Çalışmamızda; 1. saat de PAF grubunda eritrosit içinde ölçülen SOD aktivitesi, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldı ( $p < 0.001$ ). Ancak PAF+GSH grubu ile kontrol grubu arasında fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ). Diğer saatlerde de ölçtüğümüz SOD aktivitelerinde gruplar arası istatistiksel bir fark yoktu ( $p > 0.05$ ).

Aynı şekilde karaciğer dokusunda PAF ve PAF+GSH gruplarında ölçülen SOD aktiviteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

Oysa böbrek dokusundaki SOD aktiviteleri, gerek PAF gerekse PAF+GSH gruplarında kontrol grubuna oranla yüksekti. GSH verilen gruptaki artış, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ).

Boogard ve ark. (3), cisplatin uygulanan ratların renal SOD aktivitelerinin arttığını bildirmişler ve bu artışın CDDP ile oluşan peroksidatif hasar ile paralel olduğunu belirtmişlerdir.

Bir başka çalışmada,  $K_2Cr_2O_7$  uygulanan ratların böbrek korteksinde SOD aktivitesinin akut dozda düştüğü, 30 gün boyunca bu bileşiğin verilmesiyle yükseldiği bildirilmiştir (40).

Malonildialdehit (MDA), poliansature yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan kısa zincirli bir aldehitdir ve MDA lipid peroksidasyon ürünlerinden bir tanesidir (32).

Albrecht ve ark. (1), Akut parasetamol (N-asetil-p-Aminofenol) intoksikasyonu'nun Starved farelerde in vivo lipid peroksidasyonuna yol açtığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, plazma MDA düzeyleri PAF grubunda 24, 48, 72 ve 96. saatlerde kontrol grubuna oranla arttı (24, 72 ve 96. saatler  $p<0.001$ , 48. saat  $p<0.01$ ). GSH uygulanan grubun MDA düzeyleri de 24, 48 ve 96. saatlerde yüksekti ( $p<0.001$ ). 1 ve 72. saatlerde ise kontrol grubundan farksızdı ( $p>0.05$ ). Ayrıca 96. saatte de MDA artışının PAF grubuna oranla ılımlı bir şekilde azaldığı dikkat çekiciydi.

Karaciğer dokusunda ölçülen MDA düzeyi PAF grubunda artmışken ( $p<0.05$ ), GSH grubunda ise kontrol grubu düzeyine inmişti ( $p>0.05$ ).

Böbrek dokusunda ise her iki grupta da belirgin bir şekilde yükselmişti ( $p<0.001$ ).

PAF uygulamasıyla eritrosit SOD enziminin ilk saatte azalması, eritrosit içi süperoksit anyonu konsantrasyonu'nun artmış olabileceğini göstermektedir. Azalmanın ilk saatte olması; SOD enziminin enzimatik antioksidan savunmanın ilk basamağını oluşturmasından ileri gelebilir.

Plazma MDA konsantrasyonu'nun ilk saatten sonra kontrol değerlerinin üstüne çıkması, eritrosit membran lipidlerinde PAF'a ait peroksidatif bir hasarın olduğunu göstermektedir.

Eritrositlere PAF ile methemoglobin oluşumu, kinonimin bileşiği üzerinden olur. Bu durum diğer kinon bileşiklerinin metabolizmalarında olduğu gibi reaktif oksijen ürünlerinin ortaya çıkmasına neden olabilir. Bundan başka eritrosit GSH düzeyinin önceki çalışmalarda gösterildiği

gibi PAF uygulamasıyla azalması, eritrosit içinde  $H_2O_2$  ve organik hidroperoksitlerin konsantrasyon artışına neden olabilecektir. Çünkü GSH, glutatyon peroksidaz enziminin substratıdır. Methemoglobin redüktaz enziminin koenzimi olan NADPH, aynı zamanda glutatyon redüktaz enziminin de koenzimidir. Her iki enzim NADPH tükettiği için glutatyon redüktaz enziminin aktivitesindeki olası bir azalmaya bağlı olarak eritrosit içinde GSSG konsantrasyonu artabilir. Bu durumda eritrosit içindeki GSSG/GSH (1/500) oranı GSSG lehine kayarak oksidatif bir stress yaratabilir.

PAF+GSH grubunda ise GSH, SOD enziminin aktivitesinin azalmasını engellemiştir. Bunun nedeni GSH'nun hücrel bir radikal yakalayıcısı olmasından ileri gelebilir. GSH ayrıca plazma MDA düzeyinin artışını da önlemiştir. Bulgular GSH uygulamasının, eritrositlerin antioksidan kapasitesini arttırarak peroksidatif hasarın önlenmesinde başarılı olacağını göstermektedir. Çalışmamızda PAF grubu ratlarının karaciğer dokularında lipid peroksidasyonunda artış olduğunu saptadık. Histolojik çalışmada görülen az sayıdaki nekrotik alanlar, yoğun hidropik dejenerasyon, yağlı dejenerasyon buna bağlı lipid birikimi, artan lipid peroksidasyonunun bir sonucu olabilir. GSH uygulanan grupta, lipid peroksidasyonu'nun kontrol grubu düzeyine inmesi, histolojik çalışmadaki nekrotik alanların ve lipid birikiminin ortadan kalkması ile paraleldir. Bu bulgular GSH'nun PAF ile ortaya çıkabilecek peroksidatif hasarın önlenmesinde başarılı olduğunu gösterir niteliktedir.

Bulgularımız PAF'ün böbrek dokusunda da peroksidatif hasarı önemli ölçüde arttığını göstermektedir. Bu peroksidasyon, karaciğer dokusuna oranla belirgin bir şekilde fazladır ve GSH, lipid peroksidasyonunu önlememiştir.

SOD aktivitesi her iki grupta da artmasına rağmen PAF+GSH grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı düzeydedir. SOD aktivitesindeki yükselme enzim sentezinde bir artış olabileceğini akla



getirmektedir (35).

Daha önce yapılan bir histolojik çalışmada, PAF ile oluşan nefrotoksisitenin daha çok kortekste yoğunlaştığı ve proksimal tübüllerin pars konvolüta ve rektalarında görüldüğü bildirilmiştir. Histolojik bulgularımız bu çalışma bulgularını doğrulamaktadır (16). Ayrıca mikroskopik bulgularımız GSH ile muamele edilen grupta renal hasarın düzelmediğini hatta arttığını göstermektedir. Özellikle renal SOD değerlerimiz bu bulguyu desteklemektedir. Serrine ve ark (41), 1.4-benzokinon ile glutatyon arasındaki konjugasyon reaksiyonunda, kinon halkasına glutatyon katılımı arttıkça nefrotoksisitenin arttığını bildirmişlerdir. Oluşan selektif nefrotoksisitenin böbrek dokusu gibi  $\gamma$ -glutamil transpeptidaz enziminin zengin olduğu renal hücrelere bu konjugatların alınması ve konjugatların hücre içinde kinon formuna oksidasyonu ile oluştuğu belirtmişlerdir.

Eritrosit ve karaciğerde toksisitenin böbrek dokusuna oranla daha az oluşunu, eritrositlerde ve karaciğerde oluşan glutatyon konjugatlarının membrana bağlı ATP-bağımlı translokaz ve GS-ATP az enzimleri tarafından hücre dışına çıkarılmasına ve idrarla atılmak üzere böbreklere gelmesine bağlamaktayız.

Sonuç olarak bulgularımız, PAF toksisitesinin serbest radikaller üzerinden ortaya çıktığını düşündürmektedir. GSH antioksidan kapasiteyi arttırarak peroksitatif hasarın ortadan kaldırılmasında başarılı olmaktadır. Ancak GSH uygulanması, böbrek dokusunda hasarı arttırmaktadır. Bu nedenle GSH'nun PAF detoksifikasyonunda gerekli olmadığını düşünmekteyiz. Bununla birlikte karaciğer, eritrosit ve plazma bulgularımız, GSH'dan başka antioksidanların serbest radikal yakalayıcısı olarak toksisitenin önlenmesinde yararlı olabileceğini göstermiştir.

## SONUÇ

Sonuçlarımız, nefrotoksik olan ve methemoglobinemi'ye yol açan bir bileşik olan PAF toksisitesinin reaktif oksijen ürünleri üzerinden olabileceğini göstermektedir.

Tedavi amacıyla verdiğimiz GSH'un böbrek dokusunda toksik etkileri ortadan kaldırmadığı, hatta arttırdığı saptanmıştır. Bu nedenle GSH'un PAF toksisitesinde kullanılmaması gerektiğini düşünmekteyiz. Karaciğer, eritrosit ve plazma bulgularımız ise serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında etkili olan diğer antioksidanların PAF toksisitesinde yararlı olabileceğini göstermiştir.

**KAYNAKLAR DİZİNİ**

1. Albrecht, W., Sylvia, F., Karl-Heinz, K.: Acute Paracetamol intoxication of starved mice leads to lipid peroxidation in vivo. *Biochem. Pharmacol.*, 28: 2051-2055 1979.
2. Bast, A., Haenen, R.M.M.G., Doelman, C.J.A.: Oxidants and antioxidants. *Am. J. Med.*, 91(3): 2-13, 1991.
3. Boogard, P.J., Slikkerveer, A., Nagelkerke, J.F., Mulder, G.J.: The role of metallothionein in the reduction of cisplatin-induced nephrotoxicity by Bi<sup>3</sup>(+)-pre-treatment in the rat in vivo and in vitro. Are antioxidant properties of metallothionein more relevant than platinum binding. *Biochem. Pharmacol.*, 1: 41(3): 369-375, 1991.
4. Bradley, A., Arrick, N., Carl, F.N.: Glutathione metabolism as a determinant of therapeutic efficacy: Are wiew. *Cancer Research.*, 44: 4224-4232, 1984.
5. Calder, I.C., Yang, A.C., Woods, Crowe, C.A., Ham, K.N., Tange, J.D.: The nephrotoxicity of p-aminophenol. II. The effect of metabolic inhibitörs and inducers. *Chem. Biol. Interact.*, 27(2-3): 245-254, 1979.
6. Cappus, H., Sies, P.: Toxicity drug effects associated with oxygen metabolism: Redox cycling and lipid peroxidation. *Experientio.*, 37: 1230-1241. 1981.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

7. Crowe, C.A., Calder, I.C., Madsen, N.P., Funder, C.C., Green, C.R., Ham, K.N., Tange, J.D.: An experimental model of analgesic-induced renal damage some effects of p-aminophenol on rat kidney mitochondria. *Xenobiotica.*, 7(6): 345-356, 1977.
8. Crowe, C.A., Tong, A.C., Calder, I.C., Ham, K.N., Tange, J.D.: The nephrotoxicity of p-aminophenol. I. The effect on microsomal cytochromes, glutathione and covalent binding in kidney and liver. *Chem. Biol. Interact.*, 27(2-3): 235-243, 1979.
9. Dökmeçi, İ.: Toksikoloji: Akut zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Birinci baskı. Fatih Gençlik Vakfı Matbaa İşletmesi, s.1, 64-66, 1988.
10. Eckert, G.K.: The metabolism of aminophenols in erythrocytes. *xenobiotica*, 18: 1319-1326, 1988.
11. Eckert, G.K., Eyer, P.: Formation and transport of xenobiotic glutathions-S-conjugates in red cells. *Biochem. Pharmacol.*, 35: 325-329, 1986.
12. Eckert, G.K., Eyer, P., Sonnebichler, J., Zetl. I.: Activation and detoxication of aminophenols. III. Synthesis and structural elucidation of various glutathione addition products to 1,4-benzoquinone. *Xenobiotica*, 20: 351-361, 1990.
13. Erden, M., Bor, N.: Changes of reduced glutathione peroxidase after radiation in quinea pigs. *Biochem. Med.*, 31: 217-222, 1984.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

14. Erden, M.: Changes of Hexose monophosphate pathway and methaemoglobine reductase enzyme activity after radiation in quinea pigs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86: 629-633, 1984.
15. Flanagan, R.J., Meredith, T.J.: Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *Am. J. Med.*, 91(3): 131-139, 1991.
16. Gartland, G.P.R., Bonner, F.W., Tibrell, J.A., Nicholson, J.K.: Biochemical characterisation of para amino phenol-induced nephrotoxic lesions in the F344 rat. *Arch. Toxicol.*, 63: 97-106, 1989.
17. Gillette, J.R., Mitchell, J.R., Brodie, B.: Biochemical basis for drug toxicity. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 14: 271, 1974.
18. Gilman, G.A., Rall, W.T., Nies, A.S., Taylor, P.: *Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Eight edition, Pergamon Press, p. 13-20, 656-658, 1990.
19. Goin, J., Gibson, D.D., McCoy, P.B., Cadenas, E.: Glutathionyl and hydroxyl radical formation coupled to the redox transitions of 1, 4-naphthoquinone bioreductive alkylating agents during glutathione twoelectron reductive addition. *Archives of Biochem and Biophys* 288: 386-396, 1991.
20. Goldfrank, R.L., Flamenbaum, N.A.L., Weisman, S.R., Hawland, M.A.: *Goldfrank's Toxicological Emergencies*. 4 th. Edition. Appleton and Lange, pp. 73-89, 209-211, 1990.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

21. Graham, D.G., Tiffani, S.M., Bell, W.R., Gutknecht, W.F.: Autooxidation versus covalent binding Quinones as the mechanisms of toxicity of dopamine 6-hydroxy dopamine and related compounds towards C 1300 neuroblastoma cells in vitro. *Moll. pharmacol.*, 14: 644-653, 1978.
22. Halliwell, B.: Reactive oxygen species in living systems: Source, Biochemistry and role in human disease. *Am. J. Med.*, 91(3): 14-21, 1991.
23. Hunter, W.J., Smeets, J.G.P.M.: The evaluation of toxicological data for the protection of public health. proceedings of the international colloquium Luxembourg. Published for the commission of the European communities by Pergamon Press, pp. 125-150, 1976.
24. Iwahaswi, H., Ishii, T., Sugata, R., Kido, R.: Superoxide dismutase enhances the formation of hydroxyl radicals in the reaction of 3-hydroxyanthranilic acid with molecular oxygen. *Biochem. J.*, 1; 251(3): 893-899, 1988.
25. Kasower, N.S., Kasower, E.M.: The glutathione status of cells. *Int. Rev. Cytol.*, 54: 109, 1978.
26. Kayaalp, O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt 1. Dördüncü Baskı. Teoman Ulucan Matbaası, Ankara, s. 91-109, 294-303, 1989.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

27. Larsson, A., Orrenius, S., Holmgren, A., Mannervik, B.: Functions of glutathione: Biochemical, Physiological, Toxicological and Clinical Apects. Raven Press., New York, pp. 76-89, 1983.
28. Maede, Y., Kuwabara, M., Sasaki, A.: Elevated glutathione accelerates oxidative damage to erythrocytes produced by aromatic disulfide. *Blood*, 73: 312-317, 1989.
29. Mclean, A.E., Witts, D.J., Tame, D.: The influence of nutrition and inducers on mechanisms of toxicity in humans and animals. *Ciba-found-Symp.* 76: 275-288, 1980.
30. Micheal J.B., Russo, A.: The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity. *Br. J. Cancer*, 55: 96-104, 1987.
31. Mitchell, J.R., Jollow, D.J., Potter, W.Z., Gillette, J. R., Brodie, B.B.: Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 187: 211, 1973.
32. Murray, R.K.: *Metabolism In Harper's Biochemistry*. 22 th edith. R.K. Murray, P.A. Mayes, D.K. Granner and V.W Rodwell (Eds.). California. Appleton and Lange, pp. 645-649, 1991.
33. Nadkarni, D.G., Souza, N.B.D.: Hepatic antioxidant enzymes and lipid peroxidation in Carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis in rats. *Biochem. Med. Metabol. Biol.*, 40: 42-45, 1988.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

34. Niculescu, I., Stoica, G., Lupu, F., Arnautu, M., Voiculescu.:  
Mechanisms of cancerogenesis inhibition. II. The  
aminophenols and their oxidation products. *Neoplasma*, 35(5):  
539-547, 1988.
35. Okey, A.B., Roberts, E.A., Haeper, M.S.: Induction of drug-  
metabolising enzymes: mechanisms and consequences. *Clin.*  
*Biochem.*, 19: 132-141, 1986.
36. Okhawa, H., Ohishi, N., Yagi, K.: Assay for Lipid peroxidase in  
animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*,  
95: 351-358, 1979.
37. Özdamar, K.: *Bioistatistik. İkinci Baskı*, Bilim ve Teknik yayınevi,  
Eskişehir, 1986.
38. Piretti. M.V., Pagliuca, G., Vasine, M.: Proposal of analytical  
method for the study of the oxidation products of membrane  
lipids. *Anal. Biochem.*, 167: 358-361, 1987.
39. Sachin, N.P.: *Pharmacology In Medicine: Principles and Practise.*  
Chapter 10.2, Analgesic-Antipyrtics. Paul Mazel (Eds.), SP  
Press International Inc., pp. 224-233, 1986.
40. Sengupta, T., Chattopathyay, D., Grash, N., Maulik, G.,  
Chattrerjee, G.C.: Impact of chromium on lipoperoxidative  
processes and subsequent operation of the glutathione cycle in  
rat renal system. *Ind. J. Biochem. and Biophy.*, 29: 287-290,  
1992.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

41. Serrine, S.L., Barbara, A.H., Robert, J.H., Terrence, J.M.:  
Sequential oxidation and glutathione addition to 1,4-benzoquinone: Correlation of toxicity with increased glutathione substitution. *Mol. Pharmacol.*, 34: 829-836, 1988.
42. Shinzo, K., Tateo, K., Jeffrey, A., Nobuhiro, I., Charles, S.L.:  
Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Gastroenterology*, 98: 303-310, 1990.
43. Sies, H.: Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am. J. Med.*, 91(3): 131-139, 1991.
44. Southorn, P.A., Powis, G.: Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. *Mayo. Clin. Proc.*, 63: 390-408, 1988.
45. Tarloff, J.B., Goldstein, R.S., Morgan, D.G., Hook, J.B.:  
Acetaminophen and p-aminophenol and fischer 344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 12: 78-91, 1991.
46. William, A.T., Burk, R.F.: carbon tetrachloride hepatotoxicity: An example of free radical-mediated injury. *Seminar in Liver Disease*, 10: 279-284, 1990.
47. Wilson, O.C., Gisvold, O., Doerge, F.R.: *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. Seventh Edition.* J.B. Lippincott Company, pp. 63-119, 1977.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

48. Winternbourn, C.C., Hawkins, R.E., Brian, M., Carrell, R.W.: The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J.Lab. Clin. Med. 49: 84-95, 1957.
49. Yenson, M.: Klinik Biyokimya Laboratuar Çalışmaları. Beşinci Baskı. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, No. 2950, s.447-458, 1982.



Ek-Çezelge 1. Gruplara ait eritrosit SOD aktiviteleri (U/g Hb).

Gruplar	Kan Alma Zamanı					
		1	24	48	72	96
Kontrol Grubu (n=8)	1	3696	3680	3669	3770	4181
	2	4527	4240	5197	4121	3925
	3	4065	4140	5010	3751	4382
	4	4092	3560	4693	4305	4931
	5	4263	4240	4199	3927	4899
	6	3986	3510	3907	3760	4090
	7	3880	3090	4201	3529	4400
	8	3899	3690	4198	3720	4100
PAF Grubu (n=8)	1	3814	3210	4037	3459	3867
	2	3590	3620	4675	4203	4711
	3	3339	4310	4636	3822	4465
	4	2877	3810	4675	4575	4977
	5	2920	4110	4389	4475	4493
	6	2917	3480	4102	3682	4493
	7	3300	3800	3603	3579	4560
	8	3305	4750	4200	4055	4690
PAF + GSH Grubu (n=8)	1	3710	3210	3960	4924	3857
	2	4176	3600	4371	4296	4324
	3	5160	3450	5389	4221	4940
	4	4247	4065	5137	2477	5099
	5	4003	2895	3977	3545	4550
	6	4016	3300	3883	4225	4655
	7	4150	3240	4400	4150	4550
	8	4170	3450	4350	4200	4600

Ek-Çezelge 2. Gruplara ait plazma MDA değerleri (nmol MDA/ml)

Gruplar	Kan Alma Zamanı					
		1	24	48	72	96
Kontrol Grubu (n=8)	1	3.5	2.8	3.2	3.0	3.2
	2	3.4	2.2	3.1	3.5	3.6
	3	3.5	2.4	3.5	4.4	3.0
	4	3.4	2.8	3.3	3.9	3.3
	5	3.9	3.0	3.3	3.7	3.1
	6	3.1	2.8	3.2	3.8	3.9
	7	3.5	2.9	2.7	2.5	3.8
	8	3.3	2.9	3.2	3.8	3.0
PAF Grubu (n=8)	1	3.3	3.3	4.1	4.4	5.3
	2	4.4	3.6	3.5	5.1	4.7
	3	2.7	3.7	3.3	4.2	5.1
	4	2.8	3.2	3.6	4.3	5.6
	5	2.8	3.5	3.3	4.0	5.5
	6	2.5	3.2	3.2	5.0	5.0
	7	2.8	3.5	3.5	4.5	6.1
	8	2.9	3.6	3.5	4.8	4.8
PAF + GSH Grubu (n=8)	1	2.7	3.4	4.0	3.9	5.5
	2	3.1	3.2	3.5	3.1	7.0
	3	3.4	3.7	4.3	3.9	6.7
	4	4.1	4.3	3.3	3.5	3.3
	5	2.8	3.4	3.8	3.9	3.8
	6	3.1	3.8	3.8	3.4	4.4
	7	2.8	3.4	3.5	3.4	3.9
	8	3.0	3.2	3.6	3.6	4.3

Ek-Çizelge 3. Karaciğer Dokusunda ölçülen SOD (U/mg protein) ve MDA (nmol MDA/mg protein) düzeyleri

Gruplar		SOD	MDA
Kontrol Grubu (n=8)	1	4.6	0.75
	2	5.3	0.53
	3	5.6	1.10
	4	5.8	0.65
	5	6.4	0.60
	6	6.0	0.47
	7	5.9	0.60
	8	5.6	0.63
PAF Grubu (n=8)	1	4.1	1.12
	2	6.2	0.92
	3	4.0	1.33
	4	6.7	0.88
	5	6.1	0.94
	6	4.9	0.51
	7	6.3	0.93
	8	6.1	0.89
PAF + GSH Grubu (n=8)	1	4.3	0.77
	2	4.5	1.10
	3	4.8	0.95
	4	5.1	0.43
	5	4.8	0.96
	6	5.3	0.89
	7	4.9	0.89
	8	4.8	0.67

Ek-Çizelge 4. Böbrek dokusunda ölçülen SOD (U/mg protein) ve MDA (nmol MDA/mg protein) değerleri

Gruplar		SOD	MDA
Kontrol Grubu (n=8)	1	4.2	0.65
	2	4.5	0.51
	3	5.2	0.43
	4	5.1	0.43
	5	5.0	0.51
	6	5.1	0.87
	7	5.0	0.51
	8	5.1	0.52
PAF Grubu (n=8)	1	6.2	0.86
	2	5.4	1.31
	3	5.4	0.96
	4	3.9	1.00
	5	4.9	1.36
	6	6.0	1.15
	7	5.4	1.21
	8	5.9	1.08
PAF + GSH Grubu (n=8)	1	6.0	1.07
	2	6.5	1.20
	3	6.2	0.89
	4	9.0	0.95
	5	8.2	0.76
	6	6.7	0.95
	7	7.2	0.92
	8	6.9	1.03

## ÖZGEÇMİŞ

1963 yılında İstanbul'da doğdu. İlk öğrenimini Ankara, orta öğrenimini Zonguldak ve yüksek öğrenimini Trabzon'da tamamladı. 1985 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölüm'ünden mezun oldu. 1988 yılında Biyokimya Bilim Uzmanı ünvanını aldı. 1989 yılında Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Bölüm'ünde göreve başladı. Halen Osmangazi Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Öğretim Görevlisi olarak çalışmaktadır.