

**T.C  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PARASETAMOL ZEHİRLENMESİ İLE OLUŞTURULAN  
KARACİĞER HASARINDA LEPTİN'İN KARACİĞER HASARI  
ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Murat POLAT**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Ömer YILMAZ**

**ERZURUM 2013®**

**T.C  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PARASETAMOL ZEHİRLENMESİ İLE OLUŞTURULAN  
KARACİĞER HASARINDA LEPTİN'İN KARACİĞER HASARI  
ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Murat POLAT**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Ömer YILMAZ**

**ERZURUM 2013<sup>©</sup>**

[Bu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 2011/269 Proje No ile desteklenmiştir.]

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No.

İÇİNDEKİLER .....	III
ONAY .....	IV
KISALTMALAR .....	V
ÖZET .....	VII
ABSTRACT .....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
3. MATERYAL VE METOD .....	20
4. BULGULAR .....	32
5. TARTIŞMA .....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	50
KAYNAKLAR .....	51

## ONAY

‘Parasetamol Zehirlenmesi İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Leptin’in Karaciğer Hasarı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi’ konulu tez alışması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kurulunun 24.12.2010 tarih ve 13 No’lu oturumunun 2. bendinde görüşülmüş olup, Dr. Murat POLAT’ın tez yöneticiliğini Doç. Dr. Ömer YILMAZ’ın yürütmesi kararı alınmıştır.

‘Parasetamol Zehirlenmesi İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Leptin’in Karaciğer Hasarı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi’ konulu tez alışması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı Bölüm Kurulunun 01.03.2012 tarih 1 no’lu oturumunda görüşülmüş ve 1 no’lu kararı ile Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

‘Parasetamol Zehirlenmesi İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Leptin’in Karaciğer Hasarı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi’ konulu tez alışması Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 26.10.2011 tarih ve 10 no’lu oturumunda incelenmiş ve 74 no’lu kararı ile Etik Kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

‘Parasetamol Zehirlenmesi İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Leptin’in Karaciğer Hasarı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi’ konulu tez alışması Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 2011/269 Proje No ile desteklenmiştir.

## KISALTMALAR

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>AHH</b>	: Akut Hepatik Hasar
<b>ALT</b>	: Alanin aminotransferaz
<b>APAP</b>	: N-asetil-P-aminofenol
<b>AST</b>	: Aspartat aminotransferaz
<b>ATADEM</b>	: Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>AÜHADYEK</b>	: Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CMC</b>	: Karboksimetil Selüloz
<b>COX</b>	: Siklooksijenaz
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>FKY</b>	: Fulminan Karaciğer Yetmezliği
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>GSSG</b>	: Okside Glutasyon
<b>GST</b>	: Glutasyon S-Transferazlar
<b>HE</b>	: Hepatik Ensefalopati
<b>I.P</b>	: Intraperitoneal
<b>Ig</b>	: İmmünoglobülin
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>INR</b>	: International Normality Ratio
<b>kDa</b>	: Kilodalton
<b>KGH</b>	: King College Hospital
<b>LEP</b>	: Leptin
<b>LOOH</b>	: Lipid Peroksidleri
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>mRNA</b>	: Messenger Ribonükleik Asit
<b>M.Ö</b>	: Milattan Önce
<b>Mr</b>	: Relatif Moleküler Ağırlıklı
<b>MSS</b>	: Merkezi Sinir Sistemi

<b>NAC</b>	: N-asetilsistein
<b>NADP</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>NADPH</b>	: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>NAPQI</b>	: N-acetyl-p-benzoquinonimine
<b>NSAİİ</b>	: Non-Steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar
<b>PARA</b>	: Parasetamol
<b>PBS</b>	: Fosfat Tampon Solüsyonu
<b>PG</b>	: Prostaglandin
<b>PT</b>	: Protrombin Zamanı
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Ürünleri
<b>SAĞ</b>	: Sağlıklı
<b>SH</b>	: Sülfhidril
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>TBARS</b>	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri
<b>TH1</b>	: T helper-1
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekrozis Faktör-Alfa
<b>TR</b>	: Tiyoredoksin Redüktaz
<b>VY %</b>	: Vücut Yağ Yüzdesi

## ÖZET

### **Parasetamol Zehirlenmesi İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Leptin'in Karaciğer Hasarı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi**

**Amaç.** Parasetamol zehirlenmesi, acil servislerde sık olarak karşılaşılan ve ölümle sonuçlanacak kadar ciddi karaciğer hasarına neden olabilen durumdur. Tedavisi semptomatik yaklaşım ve antidot kullanımı ile yapılır. Antidot olarak N-asetilsistein (NAC) kullanılmaktadır. Fakat hastaların NAC ile tedavisinde kızarıklık, döküntü-kaşıntı, anjiödem, bronkospazm, bulantı-kusma, hipotansiyon, taşikardi ve solunum sıkıntısı gibi yan etkiler görülebilir. Bu nedenle daha az yan etki ve ölüm oranına sahip tedavi yöntemlerinin bulunması, bu sık görülen zehirlenme türünde morbidite ve mortaliteyi daha da azaltabilir. Biz çalışmamızda antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri gösterilmiş olan leptinin parasetamol toksisitesi ile oluşturulan karaciğer hasarlanması üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

**Materyal ve Metot.** Çalışmamızda 5 gruptan oluşan 30 adet dişi rat kullanıldı. Gruplar; **I. Grup:** Kontrol grubu, **II. Grup:** 20 µg/kg leptin verilen grup, **III. Grup:** 2 g/kg parasetamol verilen grup, **IV. Grup:** 2 g/kg parasetamol+10 µg/kg leptin verilen grup, **V. Grup:** 2 g/kg parasetamol+20 µg/kg leptin verilen grup. Parasetamol uygulamasından 24 saat sonra çalışma sonlandırıldı ve deney hayvanlarından alınan doku ve kan örneklerinde biyokimyasal ve histopatolojik incelemeler yapıldı.

**Bulgular.** Yapılan ölçümlerde serum tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-α), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz seviyeleri parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta artarken, leptin ile tedavi edilen gruplarda bu parametreler düzelme eğilimine girdi (p<0,05). Parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta, karaciğerde ölçülen glutatyon (GSH) miktarları azalma gösterirken, leptin ile tedavi edilen gruplarda bu parametreler istatistiksel olarak anlamlı şekilde düzeldi (p<0,05). Aynı zamanda karaciğer dokusunda malondialdehit (MDA) miktarları parasetamol grubunda yükselirken, leptin ile tedavi edilen gruplarda artmış olan MDA miktarları istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı (p<0,05). Histopatolojik bulgularda ise parasetamol karaciğerde hasara neden olurken, leptin bu etkiyi önledi.

**Sonuç.** Çalışmamızda, parasetamolün deney hayvanlarının karaciğerlerinde oksidatif stres ve inflamasyona neden olarak hasarlanmaya yol açtığını bulduk. Leptin, bu hayvanların karaciğerlerinde deneysel olarak oluşturulan parasetamol zehirlenmesine karşı koruyucu etki oluşturdu. Leptinin antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği olduğu kanısına vardık.

**Anahtar Kelimeler:** Leptin, karaciğer, parasetamol toksisitesi.



## ABSTRACT

### Evaluation of the effect of leptin on liver damage which is created by paracetamol toxicity.

**Aim.** Paracetamol poisoning is a frequently confronted intoxication in emergency departments. Severe liver damage may occur in paracetamol poisoning, also in some cases it can be resulted by death. Treatment is consists of symptomatic approach and the use of antidotes. N-acetylcysteine (NAC) is used as an antidote. But there may be side effects such as redness, rashes, irritation, angioedema, bronchospasm, nausea, vomiting, hypotension, tachycardia, and respiratory distress in treatment with NAC. So finding new treatment methods which has lower mortality and lower side effects than treatment method which is currently used may further reduce morbidity and mortality in this common type of poisoning. In this study we aimed to evaluate the effect of an antioxidant and anti-inflammatory molecule that is called leptin on liver damage which is created by paracetamol toxicity

**Material and methods.** 30 female rats which consist of 5 groups were used in this study. Groups were; **Group I:** control group, **Group II:** the group given 20 µg/kg leptin, **Group III:** the group given 2 g/kg parasetamol, **Group IV:** the group treated 2 g/kg parasetamol+10 µg/kg leptin, **Group V:** the group treated 2 g/kg parasetamol+20 µg leptin. The study has been ended 24 hour after paracetamol administrations and the tissue and blood samples from rats were collected for biochemical and histopathological examinations.

**Results.** The measurements of serum tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase levels increased in the group which is created paracetamol toxicity. On the other hand, in groups treated with leptin these parameters were becoming normal (p<0.05). Level of liver glutathione (GSH) decreased in the group which is created paracetamol toxicity. But in groups treated with leptin these parameters were becoming normal (p<0.05). Also liver malondialdehyde (MDA) levels increased in the group which is created paracetamol toxicity. But in groups treated with leptin MDA levels were becoming normal too

( $p < 0.05$ ). And all of these changes were statistically significant. Histopathological findings showed that paracetamol caused liver damage and leptin prevented this effect.

**Conclusion.** In this study, we found that paracetamol causes damage at rats' livers, because of its oxidative stress and inflammation effects. Leptin made a protective effect in experimental paracetamol-induced liver damage of rats. And by this result, we estimated that leptin has antioxidant and anti-inflammatory activity.

**Keywords:** Leptin, liver, paracetamol toxicity.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Birçok ülkede analjezik ve antipiretik olarak kullanılmakta olan asetaminofen (N-acetyl-p-aminophenol) kolaylıkla ulaşılabilir olduğundan intihar amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Uzun zamandan beri asetaminofenin yüksek dozlarının karaciğer ve böbrek hasarına hatta ölüme neden olduğu bilinmektedir. Hepatorenal hasarın mekanizması tam olarak kesinlik kazanmamakla birlikte en çok oksidatif hasar üzerinde durulmaktadır. Asetaminofen toksik reaktif metaboliti olan N-acetyl-p-benzoquinonimine (NAPQI)'ne metabolize olur. Yüksek doz asetaminofen alımında aktif metabolit glutatyona (GSH) bağlanamaz, dokularda sitozol proteinlere bağlanarak hücrenel nekroz oluşturur (1). N-asetilsistein (NAC) glutasyon prekürsörüdür ve asetaminofen toksisitesinde klinik tedavide kullanılmaktadır. Hastaların NAC ile tedavisinde kızarıklık, döküntü-kaşıntı, anjioödem, bronkospazm, bulantı-kusma, hipotansiyon, taşikardi ve solunum sıkıntısı görülebilir. Günümüzde halen asetaminofenin toksisite tedavisinde ilk seçenek olarak NAC kullanılmasına rağmen, muhtemel yan etkilerinden ve mortaliteden dolayı asetaminofen intoksikasyonunda kullanılabilir alternatif tedavi seçenekleri araştırılmaktadır. Leptin, keşfedildikten sonra üzerinde geniş incelemeler yapılan obezite geninin 167 aminoasitli hormonal protein ürünüdür. Başlangıçta doygunluk ve enerji dengesi ile ilgili olduğu tanımlanan leptinin adipositlerden salınıp hipotalamus üzerinde feedback etkili antiobezite faktörü olduğu ileri sürülmüştür (2). Diğer yandan araştırma sonuçlarına göre leptin, metabolizmanın düzenlenmesi, cinsel gelişim, üreme gibi birçok fizyolojik olayda rol oynamaktadır (3).

Leptinin doğal ve edinsel immünitede önemli rol oynadığı bilinmektedir. Enfeksiyon/inflamasyon sırasında leptin düzeyinin artması konağın inflamasyona verdiği yanıtta önemli bir faktör olduğunu düşündürmektedir. Enfeksiyonların seyri sırasında görülen anoreksinin konağın akut faz yanıtı olduğuna inanılmaktadır. Bakteri/virüs ürünleri de proinflamatuvar sitokinlerin (İnterlökinler, TNF- $\alpha$  İnterferonlar) yapımını uyarır. Sitokinler de yağ dokusunda leptin ekspresyonunu artırır. Hem mikrobik ürünler, hem de oluşan sitokinler ve leptin gıda alımını azaltır. Bu nedenle, inflamasyon ve enfeksiyon sırasında gelişen anoreksiden özellikle TNF- $\alpha$ , İnterlökin-1 (IL-1) ve IL-6'nın sorumlu olduğu ve sitokinlerin bu etkilerinde kısmen leptinin aracılık ettiği

düşünülmektedir (4). Leptinin çeşitli metabolik etkilerinin yanı sıra oksidan/antioksidan dengenin düzenlenmesinde de rolü olduğu düşünülmektedir. Bazı in vivo ve in vitro çalışmalar ile leptin eksikliğinin antioksidanlardaki yetersizlikle birlikte olduğu gösterilmiştir. Hatta sistemik leptin uygulamasının, leptin eksikliği olan ob/ob farelerde ve leptin gen mutasyonuna sahip insanlarda plazmada yetersiz bulunan antioksidan etkinliği artırabildiği gösterilmiştir (5). Artan kanıtlar, hem hayvanlarda hem de insanlarda vücut ağırlığı ve yiyecek alımı düzenlenmesinde çok önemli bir hormon olan leptinin önemini vurgulamaktadır (6).

Çalışmamızın amacı; leptinin, toksik dozlardaki parasetamolün neden olduğu karaciğer hasarına karşı koruyucu olup olmadığını histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırmaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Zehirlenmeler**

Oral veya parenteral alındığında toksik belirtilere yol açan ve organizmaya zarar veren, bazen de yaşamı tehdit eden maddeler genel olarak zehir olarak adlandırılmaktadır. Zehirlenme ise toksik veya toksik olmayan ancak vücuda zarar verecek kadar yüksek dozlardaki bir maddenin çeşitli yollardan vücuda alınması sonucu organizmada bazı belirti ve bulguların ortaya çıkmasıdır.

Zehirlenmenin tarihi antik çağlara kadar uzanmaktadır. M.Ö. 400 yıllarında yazıldığı sanılan Ebers papirüslerinde pek çok zehirle (katran ağacı, akonit, opium, kurşun, bakır) ilgili bilgi bulunmaktadır. Hipokrat da kitabında zehirlerden ve bunların tedavisinden söz etmektedir (7).

Yapılan bir araştırmada acil servislere başvuran hastaların % 59,6'sının ilaç zehirlenmeleri olduğu, bunların ise % 43 ağrı kesici ilaç kullanımı ile gerçekleştiği belirlenmiştir. Bunların haricinde temizlik maddeleri (% 26,2), hidrokarbonlar (% 7,3), besinler (% 7), insektisitler (% 6,7), karbonmonoksit (% 1,7) ve diğer maddeler (% 5,9) de sık zehirlenme nedenleri arasında sayılabilir (8).

### **2.2. Leptin**

#### **2.2.1. Tarihçe**

G.C. Kennedy besin alımı ve vücut ağırlığının kontrolünde lipostatik teoriyi açıklamaya çalışırken yağ dokusundan üretilen bir hormonun varlığını 1953 yılında ilk defa ileri sürdü. Bu çalışmada ob/ob farenin, normal farenin kanında bulunan maddeyi üretmediği, bu yüzden hayvanın şişmanladığı vurgulandı (9). 1958 yılında G.R. Harvey ilk defa vücut ağırlığını düzenleyen bir hormonu ve bu hormonun yağ dokusundan salgılandığını deneylerle göstermeye çalıştı. 1959'da F.X. Hausberger genetik olarak obez (ob/ob) farenin, normal (obez olmayan) farenin kanındaki bir madde ile zayıfladığını gösterdi (10).

1994 yılında J. Fridman ve Y. Zhang uzun süren yağ hücresi kültürü çalışmaları sonucunda ob-genini izole ettiler. Leptinin ob-gen tarafından yağ hücresinde üretildiği ve plazmada belirli bir kan seviyesi oluşturduğu ilk defa aynı ekip tarafından bildirildi ve ob-genin yokluğunda farelerin ağırlığının iki katına çıktığı gösterildi (2). Yine aynı yıl J.Flier tarafından leptinin vücut yağ miktarıyla orantılı plazma seviyesi gösterdiği, hipotalamusu etkileyerek tokluk duyusuna yol açtığı bulundu (11). 1996'da J. Caro aşırı kilolularda kan leptin düzeyinin, leptin reseptör mutasyonu nedeniyle, yüksek olduğunu gösterdi (9).

### **2.2.2. Yapısı**

Daha önceden leptinin 4- $\alpha$ -heliks sitokin yapısına sahip olduğu bilinmiyordu, fakat diyabetik şişman farelerin db/db lokusunda mutant gen olarak leptin reseptörünün klonlanması ve diğer tip 1 sitokin reseptörlerine net bir homoloji göstermesi (özellikle gp130) leptinin bir 4- $\alpha$ -heliks yapısına sahip olduğunun öne sürülmesine yol açmıştır (12). Tip 1 sitokin reseptörüne benzerlik gösteren leptin reseptörünün genelde hipotalamusta bulunduğu bildirilmiştir (13).

Leptin ribonükleik asiti (RNA), in situ hibridizasyon ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak adipositlerde gösterilmiştir. Leptin, fare ve insan plazmasında 16.000 relatif moleküler ağırlıklı (Mr 16K) protein olarak bulunur. Sıçan mide ekstrelerinde ilaveten bir 19K formu da tanımlanmıştır, ancak bu formun moleküler yapısı ve fonksiyonel önemi bilinmemektedir. Leptinin plazma düzeyleri ile adipoz doku kütlesi arasında önemli ilişki vardır. İnsanlarda ve farelerde kilo kaybında plazma leptin düzeyleri düşer. Ayrıca leptin düzeyleri şişman insanlarda ve obez kemirici formlarında çeşitli genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle artar (14).

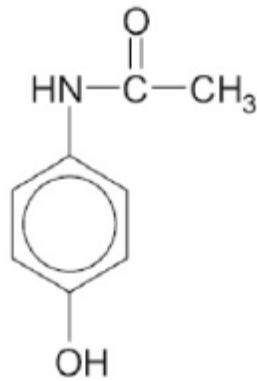
### **2.2.3. Fizyolojik Etkileri**

Leptini, vücut ağırlığının uzun süreli kontrolünü düzenleyen hipofajik hormon olarak tanımlamak mümkündür (15). Leptin 167 aminoasit içeren, 16 kilodalton (kDa) molekül ağırlığında, yağ hücresi ve birçok dokudan salgılandığı saptanan, plazmada belirli bir kan düzeyi oluşturan, kanda serbest ve proteine bağlı olarak taşınan bir polipeptittir (16). Leptinin yağ dokusu dışından salgılanması ile ilgili yayınlar henüz

çok yenidir ve bu dokulardaki fonksiyonları da tam olarak bilinmemektedir (12). İnsanda leptin geni 7q31 kromozomunda yerleşiktir ve leptin yağ hücresinde ob-gen tarafından üretilmektedir. (16). Deri altı yağ dokusu hücrelerinde leptin messenger ribonükleik asit (mRNA) miktarı visseral yağ dokusuna göre 2 misli fazladır ve yağ hücresinden salgılanması  $\beta 3$  adrenerjik reseptörler aracılığı ile olur (9). Leptin organizmadan böbrekler tarafından dolaşımdan alınarak idrarla atılır (17). Leptin plazmada ve diğer dokularda radioimmünoassey yöntemiyle ölçülebilir. Normal sağlıklı erişkinlerde plazma leptininin fizyolojik sınırları 5-50 ng/ml düzeylerindedir. İnsanda vücut yağ yüzdesi (VY%) ve plazma leptin düzeyi arasında, VY% değeri arttıkça plazma leptin düzeyinin artması şeklinde güçlü korelasyon vardır (9). Leptin etkisini özel reseptörleri aracılığıyla gösterir. Leptin reseptörleri hem periferde hem de merkezi sinir sisteminde bulunur ve sitokin reseptörü sınıfında yer alır (18). Leptin reseptörünün (transmembran protein) hücre içi kısa (OB-R<sub>S</sub>) ve hücre dışı uzun (OB-R<sub>L</sub>) olmak üzere iki kısmı vardır (9). Bilinen leptin reseptörleri: OB-R<sub>A</sub>, OB-R<sub>B</sub>, OB-R<sub>C</sub>, OB-R<sub>D</sub>, OB-R<sub>E</sub>'dir ve hipotalamusta bulunan leptin reseptörleri OB-R<sub>A</sub> ve OB-R<sub>B</sub> reseptörleridir (18).

### 2.3. Parasetamol (Asetaminofen)

Para-aminofenol türevi olan parasetamol aynı zamanda asetaminofen ve N-asetil-P-aminofenol (APAP) olarak da bilinmektedir (Şekil 2.1) ve yaygın şekilde ağrı kesici ve ateş düşürücü ilaç olarak kullanılmaktadır (19).



P-Hydroxyacetanilide (Parasetamol)

Şekil 2.1. Parasetamolün Moleküler Yapısı (20).

### 2.3.1. Tarihçe

İlk çağlarda, ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak, halk çeşitli bitkilerden faydalanmaktaydı. Halk arasında söğüt ağacı kabuğu ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılan geleneksel tedavi yöntemlerinden biriydi. 17. yüzyıldan itibaren kınakına ağacı da aynı amaçlar için yaygın olarak kullanılmaya başlandı (7).

Harmon Northrop Morse 1877 yılında p-nitrofenolü asetik asitle indirgeyerek parasetamolü sentezledi. 1887'de Von Mering tarafından kullanılmaya başlayana kadar parasetamolün klinik kullanımı yan etkilerinden dolayı sınırlı kalmıştır (20). Brodie ve Axelrod (21) 1948 yılında yaptıkları çalışmada parasetamolün asetanilid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirdiler. Parasetamolün klinik kullanımından önce yaygın olarak kullanılan fenasetinin methemoglobinemi ve analjezik nefropatisine yol açtığına tespit edilmesi 1950'lerde parasetamolün yaygın olarak kullanılmasına neden oldu. Parasetamol, nefrotoksitesi nedeniyle klinik kullanımı azalan fenasetinin yerine Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) 1955'de ağrı kesici ve analjezik yaygın olarak kullanılmaya başlandı (22).

### 2.3.2. Parasetamol Metabolizması

Parasetamol oral yoldan alındığı zaman gastrointestinal sistemden hızlı olarak neredeyse tamamen emilir ve biyoyararlanımı % 70 - % 90 arasında değişmektedir. Yarılanma ömrü 2 saat olan parasetamol, kan pik düzeyine 2. saatte ulaşır. Ancak bu ilacın emilimi açlık ve tokluğa bağlı olarak değişeceği için kan pik düzeyine ulaşması 4. saate kadar uzayabilmektedir. Ayrıca opioidler ve antikolinergik ilaçlarla birlikte alındığı zaman kan pik düzeyine ulaşma süresi gecikir. Oral olarak kullanılan dozlarda rektal yoldan da verilebilir. Parasetamol plazma proteinlerine zayıf bağlanırken (% 25) birçok vücut sıvısına yaygın şekilde dağılmaktadır (23).

Parasetamolün erişkinlerde ve adölesanlarda kullanımı ağızdan 500-1000 mg, günlük en yüksek dozu genellikle 4 g olarak kabul edilir. Eğer kişinin böbrek yetmezliği varsa veya alkolik ise kullanım sırasında doz azaltılmasına gidilebilir (24).

Parasetamol terapötik dozlarda kullanıldığı zaman % 90 oranında karaciğerde glukroniltransferaz enzimi yardımıyla glukronik asitle (% 60 kadarı), sülfoniltransferaz



enzimi yardımıyla sülfürik asitle (% 35 kadarı) veya sistein (az miktarda) ile konjuge olarak idrardan atılır. % 2'lik kısmı ise idrardan değişmeden atılmaktadır (25). Küçük ama yine de önemli bir miktarı hepatik sitokrom P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) yoluyla N-hidroksilasyona girerek oldukça reaktif bir ürün olan N-asetil-p-benzokinonimine (NAPQI) dönüşür ve bu metabolit diğer intraselüler proteinlere kovalent olarak bağlanarak zarar verir (26). Fizyolojik koşullarda NAPQI, GSH ile reaksiyona girerek zarar vermeden safra yoluyla atılmaktadır (27). Bu molekülün karaciğer hasarı oluşturabilmesi için parasetamolün yüksek dozlarda alınması gerekir ki bu durumda bu reaktif ürün GSH depolarını bitirerek oksidatif stres yoluyla karaciğer hasarı oluşturur (28). Parasetamolün hepatotoksisitedeki asıl mekanizmasının bu yoldan olduğu düşünülmektedir (27).

### **2.3.3. Etkileri**

Piyasada satılan ticari ilaçların prospektüsünden de kolayca erişebileceğimiz parasetamolün endikasyonları; baş ağrısı, migren, adet sancıları, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara bağlı ağrı, nevralji, nefrit, siyatik, lumbago, kas ve eklem ağrıları, orta kulak ağrıları, sinüzit ve cerrahi operasyonlardan veya yaralanmalardan kaynaklanan ağrılardır. Parasetamolün ateş düşürücü etkisi hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda parasetamolün beyin omurilik sıvısındaki prostaglandin (PG) benzeri maddeleri inhibe ederek ateşi düşürdüğü gösterilmiştir (29). Yapılan yeni çalışmalarda parasetamolün merkezi sinir sisteminde (MSS) tespit edilen siklooksijenaz-3 (COX-3) olarak adlandırılan yani bilinen COX (COX-1, COX-2 'den farklı ) enzim varyantlarından farklı bir enzimi selektif olarak bloke ettiği düşünülmektedir (30).

İnflamasyona sebep olan PG sentezini fazla etkilemediği için parasetamolün antiinflamatuvar etkinliği bulunmamaktadır (20). Antitrombotik etkinliği zayıf olup kanama süresini değiştirmemektedir (24).

### **2.3.4. Yan Etkileri**

Parasetamol tedavi dozlarında kullanıldığında genellikle iyi tolere edilebilmektedir. Nadir de olsa alerjik cilt reaksiyonları (kızarıklık, döküntü), alerjik

ilaç ateşi, hematolojik bozukluklar, hipoglisemi ve böbrek yetmezliği gibi yan etkiler görülmektedir. Bazen de karaciğer enzimlerinde ılımlı yükselmelere sebep olabilmektedir fakat bu durum geri dönüşümlüdür. Daha yüksek dozlarda kullanıldığı zaman baş dönmesi, huzursuzluk ve yönelim bozukluğuna yol açsa da parasetamolün toksik dozunda (en az 10-15 g) en ciddi yan etkisi ölümcül olabilen hepatik nekrozdur (4). Bu durumda bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır. Bu etki normal kullanım sonrasında da ortaya çıkabilmektedir (31).

Asetaminofenin kardiyovasküler, solunum sistem ve asit-baz dengesi üzerine belirgin etkileri yoktur. Gebelerde güvenlidir ve fetal ductus arteriosusun kapanmasını etkilemezler. Bunun yanında alkol kullanımını toksik etkiyi ciddi biçimde artırmaktadır. Oral antikoagülanlar ile birlikte kullanıldığı zaman belirgin etkileşme göstermemektedir (24).

#### **2.4. Parasetamol Toksisitesi**

Aspirinden daha az toksik olan bu ilaç, 1960'lardan bugüne kadar analjezik ve antipiretik ajan olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Marketlerde bile kolayca bulabileceğimiz bu ilacın intihara meyilli kişiler tarafından akla gelen ilaçlar arasında ilk sırada olmasından dolayı parasetamolün aşırı alımına bağlı hepatotoksisite dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmiştir. Amerikan Zehir Kontrol Veri Merkezi verilerine göre ilaç zehirlenmelerine bağlı ölüm oranları 1997'den 2001'e kadar yaklaşık iki kat artmıştır ve her yıl parasetamol aşırı alımına bağlı olarak yaklaşık 458 ölüm meydana gelmiştir (32).

İlaça bağlı hepatotoksisite intrinsek ve idiyosenkrazik olarak 2'ye ayrılmaktadır. İntrensek hepatotoksisite; ilacın direkt kendisi veya metabolitinin doza bağlı olarak oluşturduğu hepatotoksisiteden bahsetmektedir. Parasetamole bağlı oluşan hepatotoksisite, intrinsek nedenlere bağlı gelişen hepatotoksisite nedenleri arasında yer almaktadır.

Normal dozlarda alınan parasetamolün metabolize edilmesi sonucu oluşan NAPQI'yı vücut detoksifiye edebilir. Ancak yüksek dozlarda alındığı zaman GSH depolarının tükenmesine bağlı olarak NAPQI'nın detoksifiye edilme kapasitesi

düşmektedir. Bu yüzden arta kalan NAPQI karaciğer hücresi proteinlerine kovalent olarak bağlanarak hepatik nekroza bağlı hasara yol açar (33). Aynı zamanda NAPQI'yı detoksifiye eden GSH'ın % 70 'in altına düşmesi de karaciğer hasarına yol açar ve hepatik nekroz oluşur (34).

Pek çok laboratuvar çalışmalarında parasetamol toksisitesinde makrofaj hücrelerinin aktivasyonu çalışılmıştır (35). Kupffer hücreleri aktive oldukları zaman, hidrolitik enzimleri, eikozanoidleri, nitrik oksit ve süperoksitler de dahil pek çok sinyal molekülünü serbest bırakırlar (36). Parasetamol toksisitesinde Kupffer hücreleri aynı zamanda multipl inflamatuvar sitokinleri (IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  dahil) serbest bırakırlar (35, 37).

Yapılan bazı çalışmalarda inflamatuvar sitokinlerin parasetamol toksisitesini artırdığı rapor edilmiştir. Blazka ve arkadaşları (38) parasetamol toksisitesinde TNF- $\alpha$  ve IL1- $\alpha$  seviyelerinin arttığını göstermiştir. Yapılan bu çalışmada TNF- $\alpha$  ve IL1- $\alpha$ 'nın selektif olarak immünonötrale edilmesi sonucu toksisiteye bağlı gelişen hasarın azaldığı gösterilmiştir.

Parasetamole bağlı gelişen hepatotoksistede kronik kullanılan diğer ilaçların da aditif etkilerinin olduğu yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Bu ilaçlar arasında antikoagülan ilaçlar, anti-tüberküloz ilaçlar yer almaktadır (39).

Uzun süre aç kalımı da GSH depolarını boşaltarak ve CYP2E1 aktivitesini artırarak parasetamole bağlı gelişebilecek hepatotoksistenin şiddetlenmesine veya erkenden oluşabilmesine neden olabilmektedir (40). Aynı şekilde kronik alkol alımı da CYP2E1 aktivitesini artırarak GSH depolarını bitirerek kişilerin parasetamol hepatotoksisitesine duyarlılığını artırabilmektedir (41).

#### **2.4.1. Klinik Bulgular**

Parasetamol genellikle baş, diş, sırt ağrısı, akciğer hastalıkları ve karın ağrılarında kullanılmaktadır. Toksikiteye bağlı olan bulantı, kusma ve ağrı gibi abdominal şikâyetleri, hastanın geçirmiş olduğu soğuk algınlığı ve baş ağrısı ile ilgili olabileceğini düşündürerek tanıda gecikmeye yol açmaktadır. Böyle bir durumda hasarı biyokimyasal olarak tanılamaya çalışsak bile 24-36 saate kadar anormal bulgular

görülmebilir. Bu yüzden parasetamolün aşırı doz alınması durumunda semptom ve bulgu beklenmeden antidot tedavisine başvurulmalıdır (42).

#### **2.4.2. Teşhis**

Parasetamol toksisitesinde ki semptom ve bulgular ilaç alımının süresine bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle semptomları süreye bağlı olarak faz 1 (ilk 24 saat), faz 2 (24-72 saat) ve faz 3 (72-96 saat) olarak değerlendirmenin daha doğru bir davranış olacağı ve yanlış teşhis ve tedaviyi en aza indireceği düşünülmektedir. Faz 1’de karın ağrısı, diare, iştahsızlık, kusma ve letarji görülürken faz 2’de semptomlar kaybolmakta ve biyokimyasal değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu biyokimyasal değişiklikler içinde ise en önemlileri transaminaz ve bilirubinlerin yükselmesi ve protrombin zamanında (PT) uzamadır. Faz 2’nin sonlarına doğru ise hepatomegali ve sağ üst kadranda yerleşmiş ağrı dikkati çeker. Faz 3’ de ise kusma yeniden ortaya çıkar veya daha kötü hal alır, sarılık fizik muayenede rahatlıkla tespit edilir hale gelirken santral sinir sistemi bulguları ortaya çıkar ki bu bulgular faz 3’ ün önemli bulguları olup bu noktadan sonra çok hızlı hareket edilmesi gerektiğini gösteren önemli bir aşamadır. MSS bulguları içinde konfüzyon, somnolans ve koma bulunmaktadır. Parasetamole bağlı ölüm genellikle bu safhada görülmektedir. Karaciğer enzim anormallikleri bu safhada en üst seviyeye çıkmış olup oligüri ve akut tübüler nekrozda görülebilmektedir. Faz 4 de ise karaciğer hasarının düzeldiği ve enzimlerin eski haline geldiği dönem olup tam düzelmeye 3 ay kadar sürebilmektedir. Akut karaciğer hasarı gelişmiş hastaların % 70’i faz 4’e girerek tamamen iyileşir (35).

#### **2.4.3. Tedavi**

Parasetamolün aşırı dozda alımından sonra yapılması gerekenlere bakarsak ilk işlemler standart zehirlenmelerde yapılacak işlemlerden bir farklılık göstermemektedir. Prensip olarak öncelikle parasetamolün emilimini azaltmak, kanda miktarını en kısa sürede optimum düzeye indirmek, toksik metabolitin miktarını azaltmak ve/veya toksik metabolitini detoksifiye etmektir. Yukarıdaki tedavi yöntemlerinin hangisinden başlayacağımız özellikle parasetamol alımından sonraki geçen zamana bağlı olarak değişiklik gösterecektir. Kısa zaman önce alınan parasetamol toksisitesinde emilim azaltımından başlamak en uygun yaklaşımdır. Bununla beraber eğer alımdan sonra uzun

zaman geçmişse toksik metabolitin atılımını hızlandırmak ve bu metaboliti detoksifiye etmeğe başlamak daha akılcı bir çözüm olacaktır. Gastrik lavaj uygulaması, ipeka şurubu ile kusturma ve aktif kömür uygulaması ilk birkaç saatte yapılması gereken ve absorpsiyonu önlemede çok önemli yöntemlerdir (43). Simetidin kullanılması sitokrom p450 enzimini inhibe ederek parasetamolün bu enzim aracılığıyla toksik metaboliti olan NAPQI dönüşümünü azaltmakla beraber yapılan çalışmalarda simetidin ile birlikte NAC'ın kullanımının yararlı etki göstermediği tespit edilmiştir (44). NAPQI'nın etkisiz hale getirilmesinde NAC, sistiamin ve methionin kullanılmaktadır. Yapılan klinik çalışmalarda her 3 maddede hepatotoksisiteyi engellemesine rağmen methionin ve sistiaminde daha fazla MSS ve gastrointestinal yan etkiler görülmüştür. Bu nedenle NAC parasetamol toksisitesine bağlı gelişen akut karaciğer hasarında en iyi antidot olarak seçilmiştir (45).

#### **2.4.3.1. N-Asetil Sistein**

Prescott ve Matthew ilk olarak 1974 yılında NAC'ın parasetamol toksisitesinde kullanılabilirliğini göstermiş olup 1977 yılında 15 hastada etkinliğini ispatlamışlardır (46). NAC eğer yeterli dozda ve kısa zamanda uygulanmışsa parasetamole bağlı gelişebilecek karaciğer hasarını önleyebilmektedir (47). NAC'ın karaciğer hasarı, böbrek hasarı ve ölümü önleyebilmesi için ilk 8-10 saat içinde verilmesi gerekmektedir (48). NAC 140 mg/kg oral olarak verildikten sonra her 4 saatte bir 70 mg/kg oral olarak verilmelidir ve bu en az 17 kez tekrarlanmalıdır. Eğer hastalara oral olarak vermek imkânsızsa 150 mg/kg % 5 dekstroz solüsyonu içinde 15 dakikada verildikten 4 saat sonra 50 mg/kg % 5 dekstroz içinde NAC verilip 16. saate 100 mg/kg verilerek tedavi protokolü sonlandırılır (49). Oral ve parenteral veriliş yolu arasında karşılaştırmalı geniş bir çalışma yapılmamakla beraber oral uygulamanın daha fazla yan etkisi olduğu gösterilmiştir. Oral uygulama esnasında karın ağrısı, kusma, diare ve döküntüler görülebilmekle beraber parenteral uygulamada ise nadirde olsa anafilaktik reaksiyonlar görülmüştür (45). Anafilaktik reaksiyon ilk doz verilişinden sonraki 30 dk içinde daha sık oluşmaktadır. Anafilaktik reaksiyon insidansı % 3 ile % 6 arasında değişmektedir (50). Oral ve parenteral uygulamanın karşılaştırmasında etkinlik bakımından farklılık yoktur. Fakat parenteral uygulamada hastaların hastanede daha az kalım süresi gösterdikleri rapor edilmiştir. Ayrıca eğer gelen kişinin geçmişinde anafilaktik

reaksiyon hikâyesi varsa oral NAC tedavisi tercih edilmelidir. NAC tedavisinin başlamasında ve sonlandırılmasındaki en önemli ölçüt serum parasetamol miktarıdır. Hastaneye başvuran hastaların kan parasetamol seviyeleri 4 saatte hepatotokisiteye neden olabilecek kan seviyesine yükselmemişse tedavi verilmeden taburcu edilebilmektedir. Kan parasetamol seviyesi tedavi edilmesi gereken kan parasetamol seviyesinden aşağıya düşmüşse tedavi sonlandırılabilir. Eğer hastalarda koagülopati gelişmişse veya kreatinin seviyesi yüksekse günlük kreatinin seviyesi ve International Normality Ratio (INR) seviyesi takip edilmeli, normal seviyelere gelene kadar 150 mg/kg günlük doz NAC tedavisi devam ettirilmelidir (51).

#### **2.4.3.2. Aktif Kömür Uygulaması**

Oral aktif kömür uygulaması parasetamol zehirlenmesinin ilk 4 saatinde uygulanır ise etkin bir tedavi yöntemi olabilmektedir. Gastrik lavaj, ipeka şurubu ve aktif kömür uygulaması arasında 20 hasta üzerinde yapılan karşılaştırmalı çalışmada aktif kömür uygulamasının kan parasetamol düzeyini dramatik şekilde azalttığı göstermiş olup diğer yöntemlerden üstün bulunmuştur. Oral aktif kömür uygulaması tek doz olarak 1 g/kg olarak verilir. Yapılan çalışmalarda bölünerek verilen dozlar ile tek doz uygulaması arasında farklılık bulunamamıştır (43).

#### **2.4.3.3. Simetidin**

Simetidin CYP2E1 enzimi tarafından metabolize olmaktadır. Parasetamolde aynı enzim üzerinden metabolize olduğu için ikisinin beraber alınması CYP2E1 enzimini kompetatif olarak inhibe ederek parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI'ın üretimini azaltacaktır. Fakat Slattery ve arkadaşları (52) yaptığı çalışmada parasetamol alımından 8 saat sonra 300 mg simetidin kullanımının NAPQI üretimini azaltmadığını ve bu nedenle simetidin uygulamasının erken saatlerde yapılması gerektiğini belirtmişlerdir.

#### **2.4.3.4. Diyaliz**

Parasetamolün ekstrakorporal eliminasyonu parasetamol toksisitesi tedavisinde tartışmalıdır ve var olan bilgiler karışıktır. Hemodiyaliz; şiddetli parasetamol

toksitesinde kullanılmış olup hemodiyalizin hepatotoksitesiyi önlediğini veya azalttığını gösteren güvenilir bilgiler elde edilememiştir (53).

#### **2.4.3.5. Karaciğer Transplantasyonu**

Karaciğer transplantasyonu parasetamol toksitesine bağlı olarak gelişmiş yaygın karaciğer hasarındaki altın standart tedavi yöntemidir (54). Çok az parasetamol toksitesi gelişmiş hastada karaciğer transplantasyonu gerekmektedir (55). Akut hepatik hasar (AHH) gelişmiş hastalarda karaciğer transplantasyonu King College Hospital (KCH) kriterlerine göre yapılmaktadır (33). KCH kriterlerine göre karaciğer transplantasyonu gereken hastaların transplantasyonsuz mortalite oranı % 90'lara yaklaşmaktadır (55). KCH kriterlerine kısaca değinmemiz gerekirse pH'nın <7,3 olması, PT'nin >100 sn olması, INR >6,5 olması, serum kreatinin seviyesinin >3,4 mg/dL olması ve hastaların evre 3 veya evre 4 ensefalopatik olmasıyla değerlendirilir. Bu kriterlerin spesifitesi çok iyi olmasına rağmen zayıf sensitivitesi bulunmaktadır (56).

#### **2.4.4. Prognoz**

Aşırı doz parasetamol almış hastaların % 90' ı tam anlamıyla şifaya ulaşır (25). KCH kriterlerini tam karşılamayan hastaların % 90-93 'ü sağ kalmakta olup, parasetamol harici gelişen AHH'ların oranından çok daha iyidir. Parasetamolle indüklenen karaciğer hasarında transplantasyonsuz sağkalım oranı % 65-73 arasında değişmektedir (57). Serum kreatinin ve PT ile sağkalım arasında çok güçlü korelasyon bulunmaktadır (58). PT 90 sn olan hastalarda sağkalım oranı % 80 iken PT'si 180 sn olan hastalardaki sağkalım oranı % 8'lere kadar gerilemektedir (58). Parasetamol ile indüklenen karaciğer hasarında transplantasyon ihtiyacı diğer nedenlerle oluşan karaciğer hasarındaki transplantasyon ihtiyacından oldukça düşüktür (59).

#### **2.5. Fulminan Karaciğer Yetmezliği**

Fulminan karaciğer yetmezliği (FKY); bilinen her hangi bir karaciğer hastalığı olmayan bireylerde ani başlangıçlı hiperbilirubinemi, hepatik ensefalopati (HE) ve koagülopati ile karakterize yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden klinik bir sendromdur (60). FKY'nin Türkiye'de en sık sebebi akut viral hepatit'dir. Viral hepatitler arasında FKY'nin en sık sebebi hepatit B'dir. Hepatit B'den sonra FKY'ye

yol açan diğer viral etkenler arasında görülme sıklığı itibarı ile az gelişmiş ülkelerde hepatit E, gelişmiş Batı ülkelerinde, özellikle Kuzeybatı Avrupa'da hepatit A gelir. Hepatit C FKY'nin nadir bir sebebidir, fakat FKY yapabildiği kanıtlanmıştır. Viral hepatit dışında FKY'ye yol açan nedenlerin başında ilaçlar gelir. İlaçlar direkt (doza bağımlı) veya indirekt (dozla ilişkisiz) hepatotoksisite yoluyla FKY'ye neden olabilirler. FKY'ye yol açan etkenin yaptığı primer karaciğer hasarı, karaciğerin vücudun immün sisteminde oynadığı koruyucu bariyer fonksiyonunu yitirmesine ve enfeksiyona yatkınlığın artmasına yol açar. Patogeneze yönelik yapılan çalışmalardan, FKY'yi tedavi edici ideal bir tedavi ortaya çıkmamıştır. FKY tedavisinde ideal hedef, karaciğer yetmezliğini ortadan kaldıracak universal bir antidot bulunmasıdır (61).

## **2.6. Serbest Radikaller**

Serbest radikal, dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan bir atom veya moleküldür. Hem organik hem de inorganik moleküller halinde bulunurlar. İn vivo olarak hücrede normal metabolizmanın ürünleri şeklinde açığa çıkan radikaller olduğu kadar, organizmanın iyonize edici radyasyona, oksitleyici özellik taşıyan ajanlara ve doğal durumda serbest radikal metabolitleri oluşturabilen ksenobiotiklere maruz kaldığı durumlarda da meydana gelirler. Canlılığın devamının zorunlu bir parçası olan oksijen radikalleri sayısız enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyonlar için gereklidirler. Ancak, her bir radikalın yapısı ve etkili olduğu yere göre hücrelerin değişik bölümleri risk altındadır (62).

### **2.6.1. Serbest Radikallerin Etkileri**

Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfidril grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal deoksiribonükleik asit (DNA) okside olur. Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. Serbest radikaller hücreye 3 farklı mekanizma ile zarar vermektedir (63).

Bu mekanizmalar;



**1. Membran Lipitlerinin Peroksidasyonu;** Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Serbest radikaller, hücre membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırarak, hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olurlar. Lipid peroksitleri (LOOH) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir. MDA kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır (64).

**2. Disülfit Bağı Oluşumu;** Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, methionin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfit bağı bulunan immünoglobülin G ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler (65).

**3. DNA Hasarı;** DNA molekülü yeniden sentezlenemeyen ancak kopyalanabilen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları mutasyonlara ve genetik bozukluklara neden olmaktadır. Bu yüzden DNA hasarının reaktif oksijen ürünleri (ROS) ile indüklenen hücresel modifikasyonların en ciddi olduğu düşünülmektedir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (65).

## **2.7. Oksidatif Stres**

Organizmada serbest radikallerin oluşumu ile bunların ortadan kaldırılması sürekli denge halindedir. Oksidatif denge dediğimiz bu durum sürdürülebildiği sürece serbest radikaller organizmada herhangi bir patolojik sonuç doğurmamaktadır. Ancak

serbest radikallerin oluşum hızında artış ya da ortadan kaldırılma hızında bir azalma olduğunda 'oksidatif stres' olarak adlandırılan süreç gözlenmekte ve bu durum doku hasarı ile sonuçlanmaktadır (66).

## **2.8. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Reaktif oksijen ürünleri oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler.

### **2.8.1. Endojen antioksidanlar**

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Enzim olan endojen antioksidanlar: 1- Süperoksit dismutaz (SOD) 2- Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) 3- Glutatyon S-Transferazlar (GST) 4- Katalaz 5- Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi 6- Hidroperoksidaz.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar: 1- Melatonin 2- Seruloplazmin 3- Transferrin 4- Miyogloblin 5- Hemogloblin 6- Ferritin 7- Bilirubin 8- Glutatyon 9- Sistein 10- Methionin 11- Ürat 12- Laktoferrin 13 - Albümin (22).

### **Glutatyon**

Glutatyon karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptit olup çok önemli antioksidandır. GSH serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Hemogloblinin oksitlenerek methemoglobline dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar, eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (67).

### **2.8.2. Eksojen Antioksidanlar**

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler. Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol),  $\beta$ -karoten, askorbik asit (vitamin C) ve folik asit (folat) eksojen antioksidan grubundadırlar (68).

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar ise; ksantin oksidaz inhibitörleri, redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz inhibitörleri, rekombinant SOD, trolox-C (vitamin E analogu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar, nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar, demir redoks döngüsü inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar ve demir şelatörleridir (68).

### **2.9. Sitokinler**

Lökositler veya diğer hücrelerden üretilen sitokinler protein veya glikoprotein yapısında, bir hücreden diğerine bilgi, sinyal ileten kimyasal haberci moleküllerdir. Molekül ağırlıkları 6000-60000 dalton arasındadır. Sitokinler, inflamatuvar ve immün yanıtın gelişimi ve düzenlenmesinde hematopoietik hücrelere aracılık ederler. Özellikle immün yanıt ve inflamasyonda önemli rolleri bulunmaktadır (69).

#### **2.9.1. Tümör Nekrozis Faktör Alfa**

Kupffer hücreleri büyük endotoksinleri elimine edebilme kapasitesine sahiptirler. Endotoksinler Kupffer hücrelerini aktive ederek sistemik komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynarlar. Kupffer hücreleri bir kere aktif hale getirildikten sonra, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını başlatırlar. Bu sitokinler sistemik inflamatuvar cevabın oluşmasına ve endotelial hücreler, plateletler, monositler, makrofajlar ve polimorfonükleer hücrelerin aktive olmasına neden olurlar. Son zamanlarda, Kupffer hücrelerinin ve iki proinflamatuvar mediatör olan TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\alpha$ 'nın parasetamolün neden olduğu karaciğer toksisitesindeki rolü araştırılmıştır (37, 70). Laskin ve arkadaşları (70) parasetamol verilen hepatositlerin Kupffer hücreleri için aktive edici faktörler salgıladığını ve bu hepatositlerin daha sonra nekroz gelişen alanlarla ilişkili olduğunu göstermişlerdir. TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\alpha$  aktive olan Kupffer hücreleri tarafından üretilir ve ayrıca reaktif oksijen ürünleri gibi diğer ürünlere

ek olarak inflamatuvar cevapta merkezi role sahip olabilir. Her iki sitokin de nötrofil ve endotel hücre aktivasyonu, nötrofillerin endotel hücrelere alınmasını ve bağlanmasını teşvik eden ve ilave sitokin ve reaktif oksijen araçlarının üretiminin uyarılması gibi birçok biyolojik etkisi ve hücre hedefi vardır (71).

## **2.10. Biyokimyasal Parametreler**

### **2.10.1. Alanin Aminotransferaz**

Alanin aminotransferaz sitoplazmik enzimdir. Hepatoselüler membran permeabilitesinin artışında hücre dışına salınımı artar. Yüksek serum ALT seviyesi hepatoselüler hasarın şiddetli olduğunu gösterir. ALT transferazlar grubunda yer alır ve albumin metabolizmasında AST ile birlikte görev almaktadır. ALT, hücre sitoplazmasında L-alanin ve  $\alpha$ -ketoglutarat'ın piruvat ve glutamata geri dönüşümlü transaminasyonunu katalize eder. Piridoksal 5'-fosfat, ALT ve pek çok aminotransferazlara sıkı şekilde bağlanan kofaktördür. Serum ve spinal sıvıda ALT aktivitesi olmasına rağmen, çok düşük renal spesifik aktivitesi nedeniyle idrarda ALT aktivitesi yoktur. AST ve ALT'nin serumdaki yükselmiş aktiviteleri genellikle klinik pratikte ve sağlık taramalarında karaciğer hastalıklarının belirteci olarak kullanılır. Bu bozukluklar yüksek alkol alımı ve hepatit virüsü enfeksiyonu olmadan rastlanan alkolik olmayan karaciğer yağlanması tanısında önemlidir. Diyabetli hastalarda serum aminotransferazlarının yükselmesi sıklıkla gözlenmekte ve bu çoğunlukla karaciğere yağ infiltrasyonundan kaynaklanmaktadır. Şişmanlıkta da serum aminotransferazlarının özellikle de ALT aktivitesinin yükseldiği bilinmektedir (72).

### **2.10.2. Aspartat Aminotransferaz**

Aspartat aminotransferaz organa spesifik olmayan enzimdir. Hepatositlerde, kalp kasında, iskelet kaslarında, böbrek dokusunda ve plasentada bulunur. Bu dokularda nekroz geliştiğinde serum AST konsantrasyonunda artış görülür. Hepatositlerin içinde bulunan AST'nin % 60-80'i mitokondri içinde bulunurken diğer bölümü çözünür formda sitoplazma içinde bulunur. AST'nin mitokondriyal formunun salınımı için membran permeabilitesinde değişime neden olan harabiyetten daha şiddetli bir bozukluğun olması gereklidir. Bunun sonucu olarak AST aktivitesindeki artış, ALT'nin

artışından daha geç gerçekleşir. AST konsantrasyonundaki artış en yaygın olarak hepatoselüler hastalıklarda görülür (73). AST, L-aspartat ve  $\alpha$ -ketoglutarat'ın oksaloasetat ve glutamata transaminasyonunu katalize eder. B6 vitaminin aktif metaboliti olan Piridoksal 5'-fosfat, AST'ye sıkıca bağlanan kofaktördür ve enzimin aktivitesi için gereklidir. Bu vitaminin alımındaki yetersizlik enzim aktivitesinde azalmaya sebep olur (74). AST'nin sitozolik (AST1) ve mitokondriyal (AST2) iki izoenziminin çok sayıda formları vardır (35). AST pek çok yumuşak dokuda bulunduğundan (iskelet kasları, kalp kası ve karaciğerde yüksek konsantrasyonda; eritrositler ve böbreklerde daha az) serum aktivitesinde yükselme yumuşak doku hasarının bir göstergesidir (75).

### 3. MATERYAL METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deney ve Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen, 15 dişi 15 erkek olmak üzere toplam 30 adet, ağırlıkları 175-265 gram arasında değişen Albino Wistar cinsi sıçanlar kullanıldı. Deney süresince, sıçanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22<sup>0</sup>C) barındırıldı ve beslendi. Çalışmamızın bütün aşamalarının etik kurallara uygun olduğu “Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AÜHADYEK)” tarafından verilen 26 Ekim 2011 tarihli ve B.30.2.ATA.023.85-121 sayılı yazı ile onaylanmıştır. Bütün deneyler Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji A.D ve Histoloji A.D laboratuvarlarında çalışıldı.

##### 3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

**Parasetamol** (Doğa İlaç Hammaddeleri Ticaret Ltd. Şti.): Çalışmada, PBS (fosfat tampon solüsyonu) içinde %1’lik CMC (Karboksimetil Selüloz) içinde 2 gr çözülerek ve hafif sıcaklıkta karıştırılarak kullanıldı.

**Leptin** L5037-1mg (SIGMA ALDRICH) recombinant, expressed in *E. coli*, lyophilized. 10cc 1X PBS ile çözüldü. 10 µg/kg ve 20 µg/kg olarak ratlara ip olarak uygulandı.

**Tiopental Sodyum** (İE ULAGAY): Çalışmada i.p. olarak ötenazi için 50 mg/kg olarak verildi.

### 3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Deneyler esnasında kullanılan tüm aletler aşağıda gösterilmiştir.

<b>Cihazlar</b>	<b>Modeli ve Firması</b>
Eliza Okuyucu	Invitrogen-KRC3011 (USA)
Mikroplate Yıkayıcı	Stat Fax 2600 Microplate Washer, USA
Santrifüj (Soğutmalı)	Hettich Zentrifugen 320R, Germany
pH Metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Manyetik Karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A, Germany
Doku Homojenizatörü	Tissue Lyser II Qiagen, Germany
Hassas Terazı	Shimadzu ATX224, USA
Etüv	Memmert WNB 7-45, Germany
Karıştırıcı	IKA- MS 3 basic, USA
Buzdolabı (-86 °C'ye soğutabilen)	Nuaire NU-9483E, USA
Derin Dondurucu	Vestel BZP-XL3402W, Türkiye
Otomatik Multikanal Pipet	Eppendorf Research Pro (20-300µ)
Pipet Seti	Eppendorf Research Plus

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Deney Planı

Çalışmada, 4 deney grubu ve bir kontrol grubu olmak üzere toplam 5 grup oluşturuldu. Her bir grupta 6 adet olmak üzere toplam 30 adet sıçan kullanıldı. Deney öncesi tüm gruplar 24 saat aç bırakıldı. Deney planı, Tablo 3.1'de verilmiştir.

Aç kalan hayvanlar aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine alındı:

- Grup I (Kontrol)** : Kontrol grubu.
- Grup II (LEP)** : 20 µg/kg Leptin i.p. yoldan verildi.
- Grup III (PARA)** : 2 g/kg 2 ml Parasetamol çözeltisi gavaj ile oral yoldan verildi.
- Grup IV (PARA+LEP 10 µg/kg)** : 10 µg/kg Leptin i.p. yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi.
- Grup V (PARA+LEP 20 µg/kg)** : 20 µg/kg Leptin i.p. yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi gavaj ile oral yoldan verildi.

Çalışmada uygulanan bütün parasetamol ve leptin dozları, ilgili literatüre göre belirlenmiştir (76, 77). Parasetamol uygulamasından 4 saat sonra tüm gruptaki ratlara deney sonuna kadar, yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) verildi.

**Tablo 3.1.** Deney Planı.

<b>Gruplar</b>	<b>Hayvan sayısı</b>	<b>Tedavi</b>	<b>Verilen Doz</b>
I	6	Kontrol	Sağlıklı
II	6	LEP	20 µg/kg
III	6	PARA	2 g/kg
IV	6	LEP+PARA	10 µg/kg+2 g/kg
V	6	LEP+PARA	20 µg/kg+2 g/kg

LEP: Leptin, PARA: Parasetamol



Tüm gruplara parasetamol uygulamasından 24 saat sonra yüksek 50 mg/kg dozda tiopental ile ötenazi uygulanarak deney sonlandırıldı. Tüm gruplardaki hayvanların kan örnekleri toplandı ve karaciğerleri alındı. Alınan karaciğerin bir kısmı biyokimyasal analiz için ayrıldı ve - 80 °C’de saklandı. Karaciğerin geri kalan kısmı ise, histolojik çalışma için % 10 nötral formaldehit çözeltisine konularak tespit edildi. Toplanan kanlar - 80 °C’deki dondurucuda muhafaza edildi.

### 3.2.2. Histolojik Çalışmalar

Konvansiyonel ışık mikroskobu işlemlerinin tümü Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Tüm gruplardaki sıçanlardan alınan karaciğer dokularına kod numaraları verilerek içinde % 4’lük formaldehit içeren şişelere bırakıldı. Ardından aşağıda belirtilen sırası ile doku takip işlemlerine geçildi.

1. Akarsuda yıkama (gün boyu)
2. %70’lik Alkolde (Merck)<sup>®</sup> 1 gece,
3. %80’lik Alkolde 1 saat,
4. %96’lık Alkolde 1 saat,
5. %96’lık Alkolde 1 saat,
6. %100’lük Alkolde 1 saat,
7. %100’lük Alkolde 1 saat bekletildi.
8. Ksilende (Merck)<sup>®</sup>10 dakika,
9. Ksilende 10 dakika bekletildi.
10. Ksilen + boncuk parafin (Merck)<sup>®</sup> karışımında 60°C’lik etüvde 1 saat,
11. Boncuk parafinde 60°C’lik etüvde 1 saat,
12. Boncuk parafinde 60°C’lik etüvde 2 saat bekletildi.

Daha sonra dokular parafin bloklara gömülerek kesit alınması işlemlerine hazır hale getirildi. Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT) ile kesilen 5 µm’lik kesitler cam lamalar üzerine alındı ve boyama amacıyla aşağıda sıralanan işlemlere tabi tutuldu.

1. Ksilol 'de (20 dk.)
2. Ksilol 'de (10 dk.)
3. %80'lik Alkol (10 dk.)
4. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (5 dk.)
5. Çeşme suyunda yıkama
6. Hematoksilen boyasında (1 dk.)
7. Asit-Alkol karışımına batırılıp çıkarma
8. Eozin solüsyonunda (1 dk.)
9. Suda (1 dk.) yıkama
10. %80'lik Alkolde (10 dk.)
11. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (10 dk.)
12. Ksilol serilerinde (20 dk.) bekletildi
13. Entellan ile kapatma işlemi gerçekleştirildi.

İncelemeye hazır hale gelen kesitler, Olympus BH 40 marka kamera ataçmanlı ışık mikroskobu altında incelenerek ilgili tüm gruplara ait fotoğraflar çekildi.

### **3.2.3. Biyokimyasal Çalışmalar**

#### **3.2.3.1. Karaciğer Dokusunda Yapılan Analizler**

Makroskopik analizlerden sonra, rat dokuları -80°C'de saklandı. Her ratın 100 mg dokusu spesifik homojenat tamponunda (uygun bufferda) buz üzerinde ultra-turrax ile homojenize edildi. Daha sonra kitteki direktiflere göre santrifüj edildi. Biyokimyasal çalışmalar için her süpernatanttan MDA seviyeleri ve GSH seviyeleri sırasıyla özellikle rat dokusu için dizayn edilmiş yüksek hassasiyetteki Cell Biolabs OxiSelect™ TBARS Assay Kit (MDA Quantitation) STA-330 ve Cell Biolabs OxiSelect™ Total Glutathione (GSSG/GSH) Assay Kit STA-312 ELISA kitleleriyle her bir rat karaciğeri ikişer tekrarlamalı olarak ölçüldü. Ayrıca uygun tampon ile homojenize edilmiş tüm karaciğer süpernatantlarında bütün datalar her mg protein için ort ± standart sapma olarak gösterildi.

Protein tayini: Protein konsantrasyonları ticari protein standartları kullanılarak Lowry metodu ile tespit edildi. (Sigma Aldrich, Total protein kit-TP0300-1KT-USA).

### 3.2.3.1.1. Glutasyon Tayini

**Kullanılan reaktifler:** Glutathione reductase, Chromogen, Assay buffer, Metaphosphoric asid, Glutathione disulfide, NADPH.

**Deneyin prensibi:** Cellbiolabs'ın oxiselect GSH kiti ile deney yapıldı. GSH-Px hidrojen peroksit varlığında redükte glutasyonun (GSH) okside glutasyon (GSSG)'a yükseltgenmesini katalizler. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GSH-Px 'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH'ın nikotinamid adenin dinükleotid fosfata (NADP<sup>+</sup>) yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 405 nm'de okunmasıyla hesaplanır.

Enzim ünitesi; birim zamanda okside olan mikromol NADPH miktarıdır.

**Deneyin yapılışı:** Dalga boyu 405 nm'ye ayarlanan Elisa cihazında numunelerin absorbans değerleri 10 dakika boyunca kaydedildi. Lineer aktivite azalışının 1 dakikalık süresi esas alınarak hesap yapıldı.

### Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkanıp,
2. Sıvı azot altında dokular homojenize edildi.
3. Sonra 1 ml MPA çözeltisi (5g MPA kristalleri 100 ml deiyonize suda çözülür) eklenerek ve Ultra Turrax homojenizatörde 1 dakika buzda homojenize edildi.

### Deneyin yapılışı;

1. Homojenize numuneler 15 dakika + 4 derece 12000 Rpm'de santrifüjlenip süpernatantları ölçüm için toplandı.
2. 96 kuyuluk plate'e 25 µl 1X glutasyon redüktaz herbir kuyuya eklendi.
3. 1X NADPH solüsyonundan 25 µl her kuyuya eklendi.

4. Hazırlanan glutasyon standartlarından veya örneklerden 190 µl her kuyuya eklendi. Plate okuyucu kinetik ölçüm ve 405 nm'de okumaya ayarlandı. 1X kromojenden 50 µl eklenip ve karıştırıldı. Acele bir şekilde 10 dk boyunca 1 dk aralıklarla 405 nm'de absorbans okundu.

#### **GSH-Px aktivitesinin hesaplanması:**

$$\text{IU/L} = [(\text{AA}/t) / 6,22 \times 10^{-6}] \times (1/0,02)$$

$$\text{Spesifik aktivite IU/L mg protein} = (\text{IU/L}) / (1000 \times W)$$

W: gram protein miktarı

#### **3.2.3.1.2. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) miktarının tayini**

**Kullanılan reaktifler:** MDA standart (malondialdehyde bis), Thiobarbituric acid (TBA), SDS lysis solution, TBA acid diluent, Sodyum hidroksit solüsyonu, BHT solüsyonu (İçerisinde % 5 lik butylated hydroxytoluene)

**Deneyin Prensi:** Cellbiolabs'ın oxiselect MDA quantitation kitine göre çalışıldı. En çok kullanılan lipid peroksidasyon tayin yöntemidir. Asidik ortamdaki tiyobarbitürik asit ile 90-95 C° de reaksiyona giren MDA ve diğer TBARS, pembe renkli kromojen meydana getirir. 15 dakika kaynatıldıktan sonra hızla soğutulan numunelerin absorbansları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu.

#### **Deneyin Yapılışı:**

##### **Doku homojenizasyonu;**

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkanıp,
2. Sıvı azot altında dokular homojenize edildi.
3. Homojenize dokulardan 100'er mg tartılarak tüplere konuldu. Her tüpe hazırladığımız 1X BHT in PBS solüsyonundan 1 ml eklendi.
4. Tüpler buz içine konularak homojenizatörde 30 sn homojenize edildi.

5. Homojenize dokular 10.000 Rpm'de 5 dk boyunca santrifüj edildi ve süpernatantları toplandı.

Çalışma 96 kuyucuklu plateelerde yapıldı.

1. Santrifüj sonrasında elde ettiğimiz süpernatantları yeniden numaralandırdığımız başka tüplere 100 µl hacminde eklendi. Bunun yanında standartlarımız da ayrı tüplere 100'er µl olacak şekilde koyuldu.
2. Kristalize durumdaki SDS lysis solüsyonunu çözdürdükten sonra her bir numunemize (standartlar da dahil) 100'er µl eklendi.
3. Oda sıcaklığında 5 dk. inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra ölçüm yapacağımız her tüpe 250 µl TBA reagent eklendi.
4. Tüplerin ağzını kapatıp 95 °C de 45 ila 60 dk inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrasında tüpler 5 dk buz üzerinde bekletildi.
6. Daha sonra tüm tüpler 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatantı alındı.
7. 96 well plate'e numuneler yüklendi (her well e 200 µl) ve 532 nm'de okutuldu.

**Hesaplama:** 20 mM/L stok standart çözeltisinden değişik konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar, numunelerle aynı şartlarda çalışıldı ve elde edilen sonuçlar ile standart grafiği çizildi. Bu grafikten elde edilen eğim sabiti numunelere uygulanarak TBARS miktarı yaş gram doku başına nanomol olarak hesaplandı.

### **3.2.3.2. Serumda Yapılan Analizler**

**TNF-α ölçümü için serumun elde edilmesi:** EDTA'lı biyokimya tüpüne konulan kanlar 4.000 rpm'de 10 dk +4 °C'de santifüj edildi. Analiz yapılana kadar -80 °C'de saklandı. Her örneğin TNF-α seviyeleri ikişer kere yüksek hassasiyetteki ELISA kitiyle (Invitrogen-KRC3011-USA) ölçüldü.

**AST, ALT ölçümü için serumun elde edilmesi:** EDTA'lı biyokimya tüpüne konulan kanlar 4000 rpm'de 10 dakika +4 °C'de santifüj edildi. Analiz yapılana kadar 86 °C'de saklandı. Her örneğin AST ve ALT seviyeleri ikişer kere yüksek hassasiyetteki ELISA kitiyle (USCN life science-E90207Ra, E91214Ra (China) ölçüldü.

### 3.2.3.2.1. TNF- $\alpha$ Tayini

**Kullanılan reaktifler:** Rt TNF- $\alpha$  Standart (% 0,1 sodyum asid içerir), Standart diluent buffer (% 0,1 sodyum asid içerir), Incubation buffer, Rt TNF- $\alpha$  High ve low kontrol, Rt TNF- $\alpha$  Biotin conjugate (Biotinleşmiş anti- TNF- $\alpha$ ), Streptavidin-HRP (3,3 mM Tymol), Streptavidin-HRP Diluent, Wash buffer, Stabilize chromogen, Tetrametil benzidin (TMB), Stop solution.

**Deney prensibi:** Bu çalışmada Invitrogen Rt TNF- $\alpha$  kiti kullanıldı. Kit içinde mevcut olan platelerin kuyuları Rt TNF- $\alpha$ 'ya spesifik monoklonal antikorlar ile kaplıdır. Standartlar ve numunelerin kuyulara eklenmesi ile TNF- $\alpha$ 'lar spesifik antikorlara yapışır. Bu komplekse özgü biotinleşmiş antikorlar eklenerek immobilize TNF- $\alpha$ 'ya yapışması sağlanır. Daha sonra Streptavidin – Peroxidase (ikincil antikor) eklenerek komplekse yapışması sağlanır. Substrat solüsyonu eklenir ve komplekse bağlı enzim ile etkileşerek renk oluşturur. Reaksiyonu durdurmak için stop solüsyonu eklenir.

#### Deneyin yapılışı:

1. Blank kuyusuna 100 ul Standart Diluent buffer eklendi.
2. Standartlar, numuneler ve kontrollerden kuyulara 100 ul eklendi. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra 2 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
3. Tüm sıvılar aspire edildi ve yıkama işlemi uygulandı.
4. Kör kuyusu hariç diğer kuyulara 100 ul biotinleşmiş Rt TNF- $\alpha$  biotin conjugate eklendi.
5. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
6. Tüm sıvılar aspire edildi ve yıkama işlemi uygulandı.
7. Kör kuyusu hariç diğer kuyulara 100 ul Streptavidin HRP working solution eklendi.
8. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra yarım saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
9. Tüm sıvılar aspire edildi ve yıkama işlemi uygulandı.
10. Her kuyuya 100 ul Stabilize Chromogen eklendi ve sıvılarda ki renklenme mavi olmaya başladı.

11. Plate'in üzeri kapatıldıktan sonra yarım saat oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
12. Her kuyuya stop solution eklendi. Sıvılardaki renklenme sarı renge dönüştü.
13. 450 nm'de ölçüm yapıldı.

**Hesaplanması:** Ölçümler Epoch Elisa reader cihazında yapıldı. Cihazın Gen 5 programı kullanılarak hesaplama yapıldı. Standart lineer eğri hazırlandı. Y axis: TNF- $\alpha$  kons. X axis: abs. Standartlara en uygun şekilde bir doğru çizildi ve Numunelerimizin konsantrasyonları belirlendi. Konsantrasyonlar pg/ml olarak hesaplandı.

#### **3.2.3.2.2. AST Tayini**

**Kullanılan reaktifler:** Standart (dondurulmuş), Detection reagent A, Detection reagent B, TMB substrate, Wash buffer, Standart diluent, Assay Diluent A, Assay diluent B, Stop solution.

**Deney prensibi:** USCNK Life Science AST kiti kullanıldı. Rat AST 'sine özgün antikorlar ile kaplı olan plate'lere standart ve numunelerin eklenmesi ile antijen antikor birleşmesi olmaktadır. Bu AST'ye spesifik olan biotin konjugatlı polyclonal antikorları AST ile birleşir. Daha sonra bu antikor HRP içeren avidin konjugatına bağlanır. TMB substrat solüsyonu biotinlenmiş antikor ve HRP avidini etkileyerek renk oluşumuna sebep olur. Enzim substrat reaksiyonuna sülfirik asid ile son verilir.

#### **Deneyin yapılışı:**

1. Kuyulara standart, kör ve numunelerden 100  $\mu$ l eklendi. Plate'in üstü kapatıldıktan sonra 2 saat 37 °C de inkübasyona bırakıldı.
2. Kuyulardan tüm sıvılar alındı, yıkama işlemi uygulanmadı.
3. Her kuyuya 100  $\mu$ l Detection Reagent A solüsyonu eklendi. 1saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
4. Solüsyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
5. Her kuyuya 100  $\mu$ l Detection Reagent B solüsyonu eklendi. 30 dk. 37°C'de inkübasyona bırakıldı.

6. Solüsyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
7. Her kuyuya 90 µl Substrat solüsyonu eklendi. 15-20 dk. 37 °C'de inkübasyona (karanlıkta) bırakıldı.
8. Her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendi ve sıvılarda sarı renk gözlenmeye başlandı.
9. 450 nm'de ölçüm alındı.

### **Hesaplanması:**

Ölçümler Epoch Elisa reader cihazında yapıldı. Cihazın Gen 5 programı kullanılarak hesaplama yapıldı. Standart Log-Log eğri hazırlandı. Y axis: AST kons. X axis: abs. Standartlara en uygun şekilde bir doğru çizildi ve Numunelerimizin konsantrasyonları belirlendi. Konsantrasyonlar U/L olarak hesaplandı.

### **3.2.3.2.3. ALT Tayini**

**Kullanılan reaktifler:** Standart (dondurulmuş), Detection reagent A, Detection reagent B, TMB substrate, Wash buffer, Standart diluent, Assay Diluent A, Assay diluent B, Stop solution.

**Deney prensibi:** USCNK life science ALT kiti kullanıldı. Rat ALT 'sine özgün antikorlar ile kaplı olan plate'lere standart ve numunelerin eklenmesi ile antijen antikor birleşmesi olmaktadır. Bu ALT'ye spesifik olan biotin konjugatlı polyclonal antikorları ALT ile birleşir. Daha sonra bu antikor HRP içeren avidin konjugatına bağlanır. TMB substrat solüsyonu biotinlenmiş antikor ve HRP avidini etkileyerek renk oluşumuna sebep olur. Enzim substrat reaksiyonuna sülfirik asid ile son verilir.

### **Deneyin yapılışı:**

1. Standart, blank ve numunelerimizden her kuyuya 100 µl eklendi. 2 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı.
2. Tüm sıvılar alındı, yıkama işlemi uygulandı.
3. Her kuyuya 100 µl Detection Reagent A solüsyonu eklendi. 1saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
4. Solüsyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.



5. Her kuyuya 100 µl Detection Reagent B solüsyonu eklendi. 30 dk. 37°C'de inkübasyona bırakıldı.
6. Solüsyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.
7. Her kuyuya 90 µl Substrat solüsyonu eklendi. 15-20 dk. 37 °C'de inkübasyona (karanlıkta) bırakıldı.
8. Her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendi ve sıvılarda sarı renk gözlenmeye başlandı.
9. 450 nm'de ölçüm alındı.

### **Hesaplanması:**

Ölçümler Epoch Elisa reader cihazında yapıldı. Cihazın Gen 5 programı kullanılarak hesaplama yapıldı. Standart Log-Log eğri hazırlandı. Y axis: ALT kons. X axis: abs. Standartlara en uygun şekilde bir doğru çizildi ve Numunelerimizin konsantrasyonları belirlendi. Konsantrasyonlar U/L olarak hesaplandı.

### **3.2.4. İstatistik Analiz**

Histolojik çalışmaların istatistik değerlendirmeleri, SPSS 18.0 ve InStat 3.0 yazılımları kullanılarak yapıldı ve yarı nitel değerlendirme ölçümünde *Ki-kare* testi uygulandı. İkili grup karşılaştırmaları için parametrik olmayan *Mann-Whitney U* testi kullanıldı ve 0,05 'in altındaki p değerleri anlamlı olarak kabul edildi. Biyokimyasal çalışmaların istatistik analizi SPSS 18.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi.

Parametrik verilerin analizinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ve post-hoc testlerinden “*Duncan*” tekniği kullanıldı. Elde edilen değerler, ortalama ± standart sapma olarak verildi ve 0,05 'in altındaki p değerleri, istatistik açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Histopatolojik Bulgular

Çalışmanın bu aşamasında, deney gruplarının karaciğerleri mikroskopik olarak incelendi.

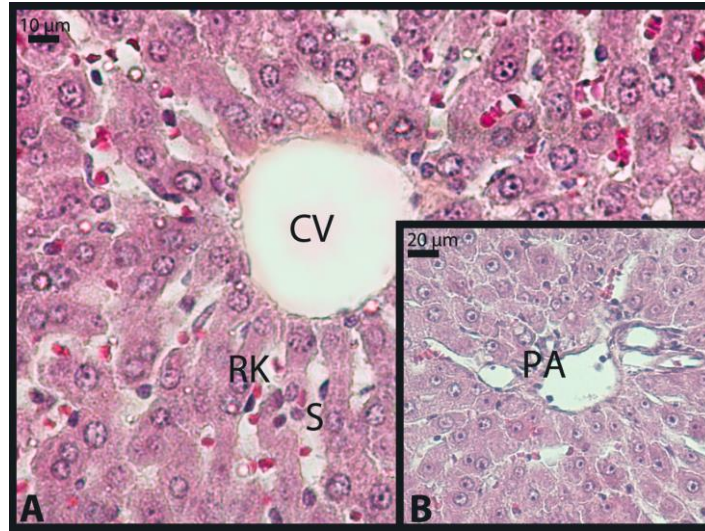
Deney hayvanlarının karaciğer lobüllerini oluşturan parankimdeki hepatositlere bakıldığında, yapının sağlıklı (69) grupta normal olduğu görüldü. Yani vena sentralisten lobulusun periferine doğru radier dizilmiş olan bu hücre kordonları (Remark plakları) yapının normal olduğunu işaret eden veri olarak kaydedildi (Şekil 4.1 A). Remark kordonları arasında yerleşik bulunan sinüzoidlere (lobul içi kan kapillerleri) sözü edilen bu yapıların duvarlarında yerleşik bulunan endotel hücrelerine yakından bakıldığında her hangi bir yapısal bozukluğa rastlanmadı (Şekil 4.1 A, B). Portal alanlara bakıldığında; vasküler yapılarda herhangi bir anormalliğe rastlanmadı (Şekil 4.1 B).

Parasetamol verilen grubun karaciğer dokusu incelendiğine şiddetli nekrotik odaklar gözlemlendi (Şekil 4.2 A). Diğer bir deyişle; parankimde çok sayıda hepatositin sitoplazmasında yoğun eozinofili artışı, çekirdeğinde yoğun hiperkromazi ve hücre membranında düzensizlik olduğu belirlendi. Remark kordonlarının düzenliliğini kaybettiği, sinüzoidlerin dilate olduğu ve yoğun eritrosit agregasyonu dikkat çeken bulgular arasındaydı (Şekil 4.2 A). Ayrıca gerek central ven gerekse portal alandaki vasküler yapılarda konjesyon varlığı tespit edilen bulgular arasındaydı (Şekil 4.2 A, B).

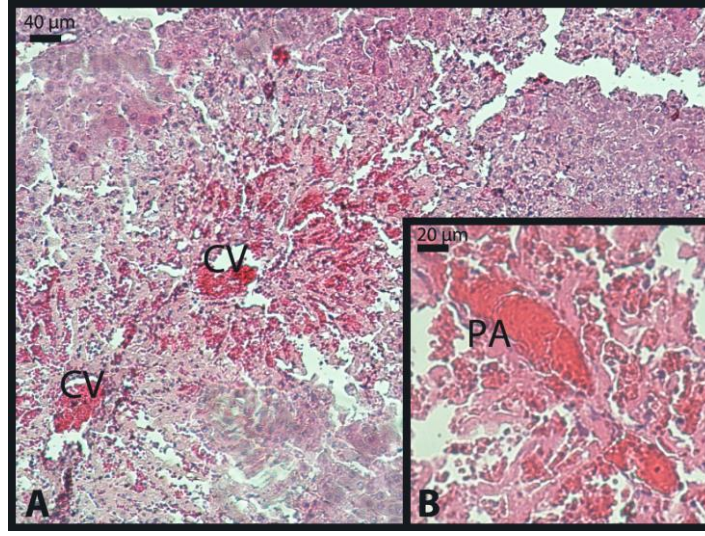
Diğer gruplardaki deney hayvanlarının karaciğerlerini incelediğimizde; leptinin karaciğerde parasetamol toksisitesini önemli ölçüde önlediği gözlemlendi. Gerek 10 µg/kg leptin uygulanan grupta, gerekse 20 µg/kg leptin uygulanan grupta; parankimde vena sentralisten uzanan hepatosit kordonlarının dizilimi 2 g/kg parasetamol verilen gruba göre oldukça düzenli ve neredeyse kontrol grubuna yakındı (Şekil 4.3 A, B ve 4.4 A, B). Ayrıca hepatositler daha yakından incelendiğinde 2 g/kg parasetamol verilen grupta gözlenen değişiklikler bu grupta yoktu, hepatositler son derece düzgün bir görünüme sahipti (Şekil 4.3 A, B ve 4.4 A, B). Parasetamol toksisitesi meydana getirilmiş grupta gözlenen vasküler dejenerasyonlar ve konjesyonlar 10 µg/kg leptin ile tedavi edilen grupta neredeyse tamamen düzelmişken (Şekil 4.3 A, B) 20 µg/kg leptin

uygulanan grupta 10 µg/kg leptin uygulanan gruba kıyasla biraz daha belirgindi (Şekil 4.4 A, B). Fakat bu belirginlik fizyolojik sınırları geçecek kadar çok değildi. Özetle dozlar arasında bir karşılaştırma yapılacak olursa 10 µg/kg leptin uygulanan gruptaki karaciğere ait yapılar 20 µg/kg leptin uygulanan gruba kıyasla daha düzenliydi.

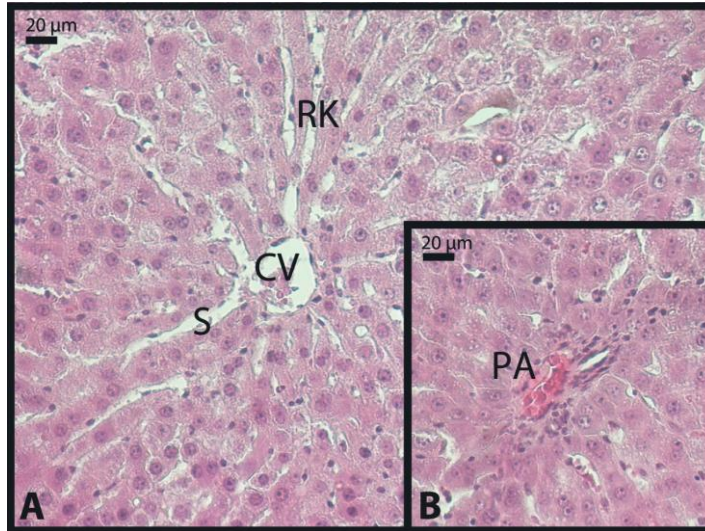
Leptin ile tedavi edilen gruplardaki diğer dikkat çekici düzensizlik 20 µg/kg leptin verilen sağlıklı grupta izlenmekteydi. Bu gruba ait veriler kontrol grubu ve parasetamol toksisitesi sonrası 20 µg/kg leptin ile tedavi edilen grupla paralellik arzitemekteydi (Şekil 4.5 A, B).



**Şekil 4.1.** Sağlıklı Gruba Ait Karaciğer Örneklerinden Elde Edilen Spesmenlerin Işık Mikroskopundaki Görüntüleri (Boya: Hematoksilen & Eosin ) (CV: Vena Sentralis, RK: Remark Kordonları, S: Sünizoid, PA: Portal Alan)

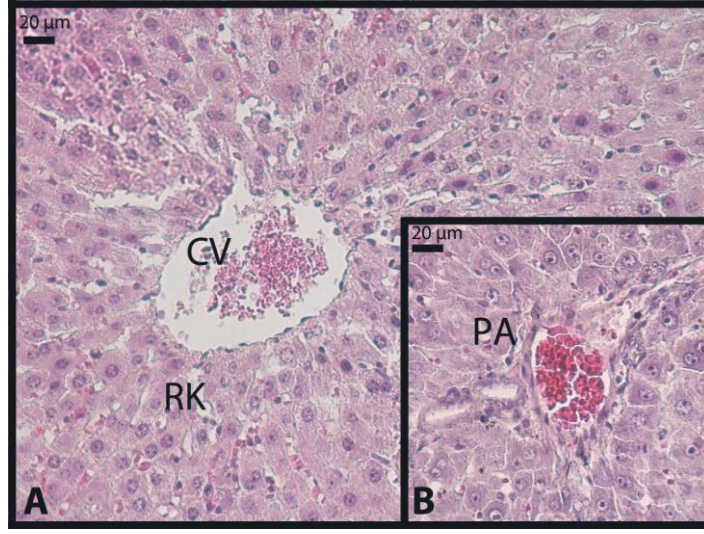


**Şekil 4.2.** 2 g/kg Parasetamol Verilen Gruba Ait Karaciğer Örneklerinden Elde Edilen Spesmenlerin Işık Mikroskopundaki Görüntüleri (Boya: Hematoksilen & Eosin ) (CV: Vena Sentralis, PA: Portal Alan)

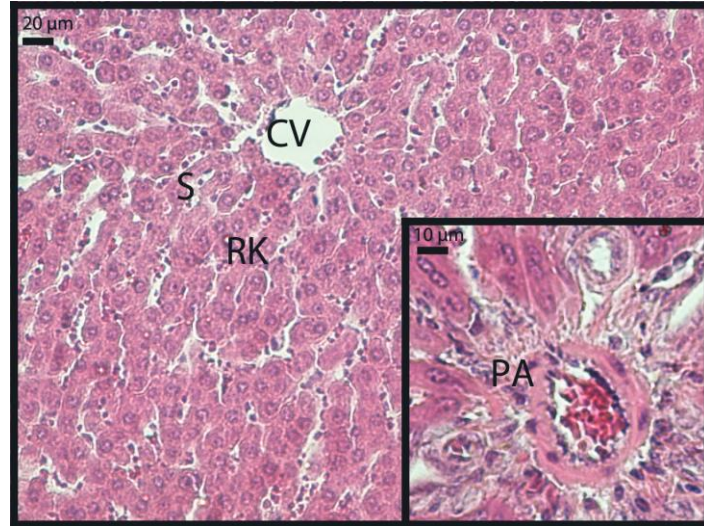


**Şekil 4.3.** 2 g/kg Parasetamol + 10 µg/kg Leptin Verilen Gruba Ait Karaciğer Örneklerinden Elde Edilen Spesmenlerin Işık Mikroskopundaki Görüntüleri (Boya: Hematoksilen & Eosin ) (CV: Vena Sentralis, RK: Remark Kordonları, S: Sünizoid, PA: Portal Alan)





**Şekil 4.4** 2 g/kg Parasetamol + 20 µg/kg Leptin Verilen Gruba Ait Karaciğer Örneklerinden Elde Edilen Spesmenlerin Işık Mikroskopundaki Görüntüleri (Boya: Hematoksilen & Eosin ) (CV: Vena Sentralis, RK: Remark Kordonları, S: Sünizoid, PA: Portal Alan)



**Şekil 4.5.** 20 µg/kg Leptin Verilen Gruba Ait Karaciğer Örneklerinden Elde Edilen Spesmenlerin Işık Mikroskopundaki Görüntüleri (Boya: Hematoksilen & Eosin ) (CV: Vena Sentralis, RK: Remark Kordonları, S: Sünizoid, PA: Portal Alan)

## 4.2. Biyokimyasal Bulgular

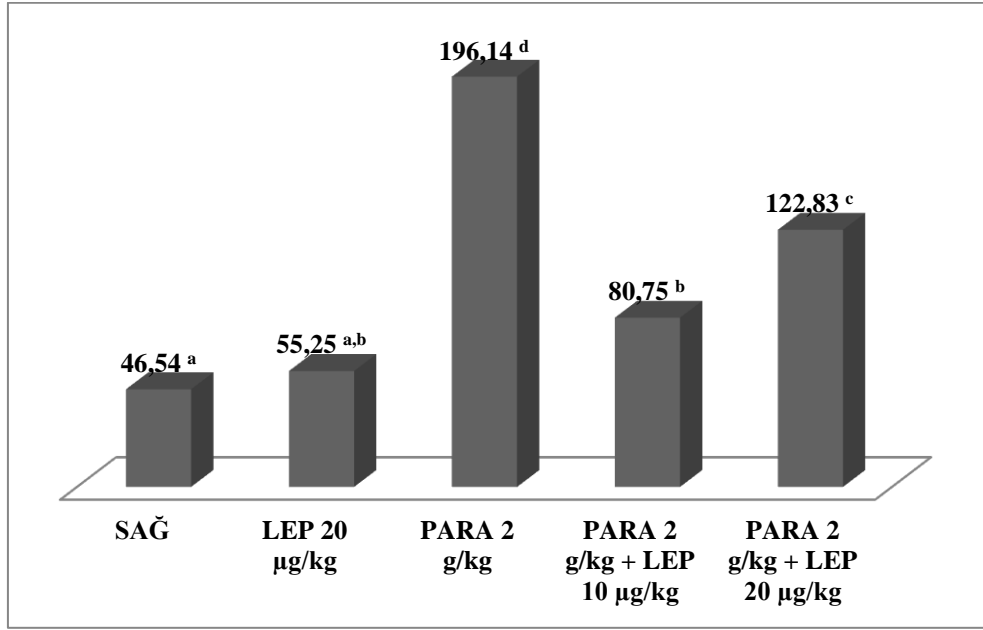
### 4.2.1. AST ve ALT Ölçümleri

Tablo 4.1’de görüldüğü gibi deney gruplarındaki ALT değerleri; Sağlıklı grupta 46,54 U/L, Sağlıklı – LEP 20 µg/kg verilen grupta 55,25 U/L, PARA 2 g/kg verilen grupta 196,14 U/L, PARA 2 g/kg + LEP 10 µg/kg verilen grupta 80,75 U/L, PARA 2 g/kg + LEP 20 µg/kg verilen grupta 122,83 U/L olarak ölçüldü. Gruplar arasında ALT değerleri açısından en ciddi artma PARA 2 g/kg grubunda gözlenirken, tedavi grupları arasındaki en iyi düzelme PARA 2 g/kg + LEP 10 µg/kg verilen grupta gözlemlendi.

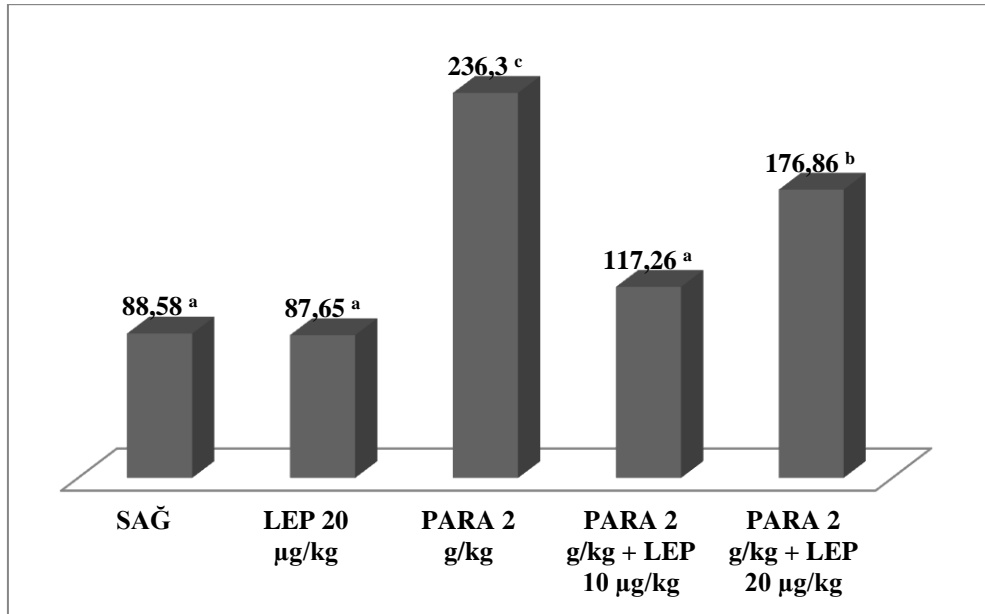
Tablo 4.1’de görüldüğü gibi deney gruplarındaki AST değerleri; Sağlıklı grupta 88,58 U/L, Sağlıklı – LEP 20 µg/kg verilen grupta 87,65 U/L, PARA 2 g/kg verilen grupta 236,30 U/L, PARA 2 g/kg + LEP 10 µg/kg verilen grupta 117,26 U/L, PARA 2 g/kg + LEP 20 µg/kg verilen grupta 176,86 U/L olarak ölçüldü. Gruplar arasında AST değerleri açısından en ciddi artma PARA 2 g/kg grubunda gözlenirken, tedavi grupları arasındaki en iyi düzelme PARA 2 g/kg + LEP 10 µg/kg verilen grupta gözlemlendi.

**Tablo 4.1.** Ratların Serumunda Ölçülen ALT ve AST Miktarları. [SAĞ: Sağlıklı grup, LEP: Leptin verilen grup, PARA: Parasetamol verilen grup. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Post Hoc Duncan tekniği kullanılarak yapıldı.  $p < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: ORT  $\pm$ SD)]

	ALT (U/L)	AST (U/L)
SAĞ	46,54 $\pm$ 11,67 <sup>a</sup>	88,58 $\pm$ 21,03 <sup>a</sup>
LEP 20 µg/kg	55,25 $\pm$ 13,99 <sup>a,b</sup>	87,65 $\pm$ 11,08 <sup>a</sup>
PARA 2 g/kg	196,14 $\pm$ 53,80 <sup>d</sup>	236,30 $\pm$ 37,18 <sup>c</sup>
PARA 2 g/kg + LEP 10 µg/kg	80,75 $\pm$ 11,67 <sup>b</sup>	117,26 $\pm$ 25,31 <sup>a</sup>
PARA 2 g/kg + LEP 20 µg/kg	122,83 $\pm$ 39,81 <sup>c</sup>	176,86 $\pm$ 57,44 <sup>b</sup>



**Şekil 4.6.** Ratların Serumunda Ölçülen ALT Miktarının Grafikle Gösterilmesi [SAĞ: Sağlıklı grup, LEP: Leptin verilen grup, PARA: Parasetamol verilen grup. Aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli fark yoktu. ( $p < 0,05$ )]



**Şekil 4.7.** Ratların Serumunda Ölçülen AST Miktarının Grafikle Gösterilmesi. [SAĞ: Sağlıklı grup, LEP: Leptin verilen grup, PARA: Parasetamol verilen grup. Aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli fark yoktu. ( $p < 0,05$ )]

#### 4.2.2. TNF- $\alpha$ , GSH ve MDA Ölçümleri

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi deney gruplarındaki TNF- $\alpha$  düzeyleri; Sağlıklı grupta 41,31 pg/ml protein, Sağlıklı – LEP 20  $\mu$ g/kg verilen grupta 48,31 pg/ml protein, PARA 2 g/kg verilen grupta 154,88 pg/ml protein, PARA 2 g/kg + LEP 10  $\mu$ g/kg verilen grupta 43,25 pg/ml protein, PARA 2 g/kg + LEP 20  $\mu$ g/kg verilen grupta 50,75 pg/ml protein olarak ölçüldü. Gruplar arasında TNF- $\alpha$  düzeyi bakımından en fazla artma PARA 2 g/kg verilen grupta gözlemlendi. Tedavi edilen gruplarda TNF- $\alpha$  düzeylerinde en iyi düzelme PARA 2 g/kg + LEP 10  $\mu$ g/kg verilen grupta gözlemlendi.

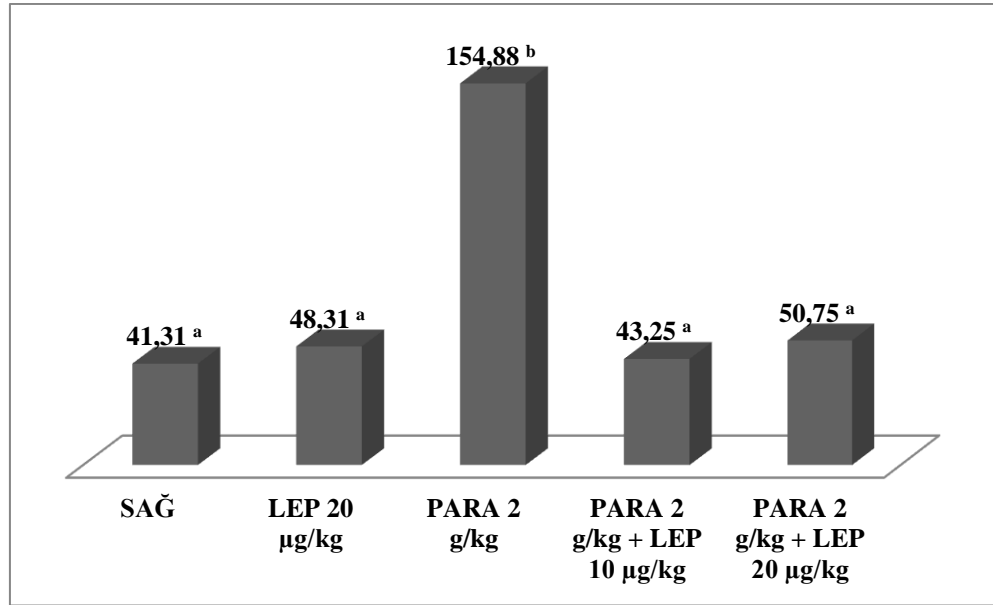
Tablo 4.2’de görüldüğü gibi deney gruplarındaki GSH seviyeleri; Sağlıklı grupta 3,84 nmol/mg protein, Sağlıklı – LEP 20  $\mu$ g/kg verilen grupta 3,33 nmol/mg protein, PARA 2 g/kg verilen grupta 1,74 nmol/mg protein, PARA 2 g/kg + LEP 10  $\mu$ g/kg verilen grupta 3,35 nmol/mg protein, PARA 2 g/kg + LEP 20  $\mu$ g/kg verilen grupta 2,81 nmol/mg protein olarak ölçüldü. Gruplar arasında GSH seviyesi açısından en ciddi azalma PARA 2 g/kg verilen grupta gözlenirken, tedavi grupları arasındaki en iyi düzelme PARA 2 g/kg + LEP 10  $\mu$ g/kg verilen grupta gözlemlendi.

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi deney gruplarındaki MDA seviyeleri; Sağlıklı grupta 1,37 nmol/mg protein, Sağlıklı – LEP 20  $\mu$ g/kg verilen grupta 1,29 nmol/mg protein, PARA 2 g/kg verilen grupta 4,04 nmol/mg protein, PARA 2 g/kg + LEP 10  $\mu$ g/kg verilen grupta 1,40 nmol/mg protein, PARA 2 g/kg + LEP 20  $\mu$ g/kg verilen grupta 1,91 nmol/mg protein olarak ölçüldü. Gruplar arasında PARA 2 g/kg verilen grupta MDA seviyesinin önemli derecede arttığı gözlenirken, tedavi grupları arasındaki en iyi düzelme PARA 2 g/kg + LEP 10  $\mu$ g/kg verilen grupta gözlemlendi.

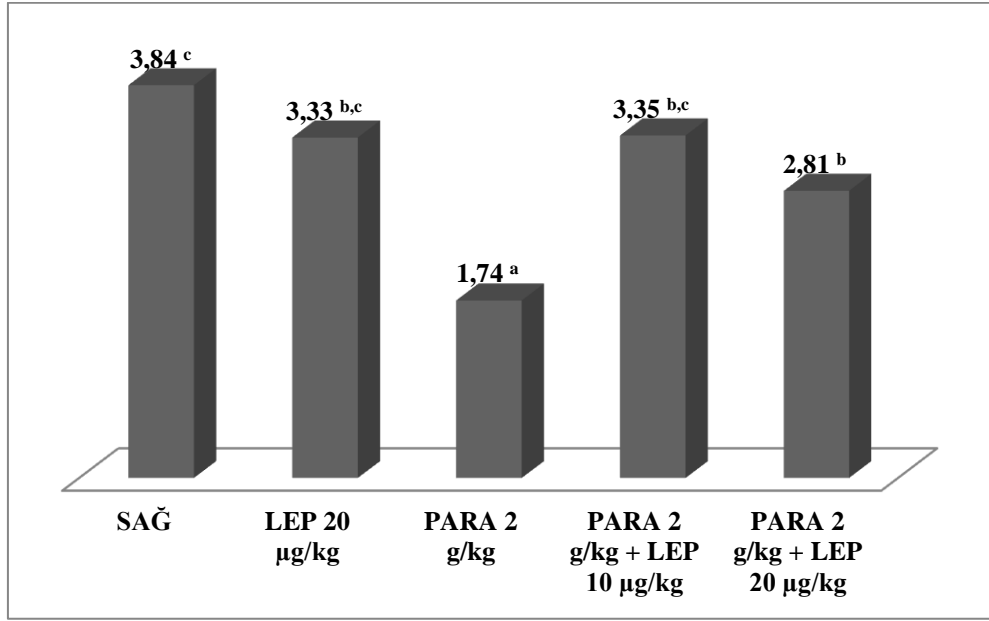


**Tablo 4.2.** Ratların Karaciğer Dokusunda Ölçülen GSH, MDA ve TNF- $\alpha$  Seviyeleri. [SAĞ: Sağlıklı grup, LEP: Leptin verilen grup, PARA: Parasetamol verilen grup. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Post Hoc Duncan tekniği kullanılarak yapıldı.  $p < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: ORT  $\pm$ SD)]

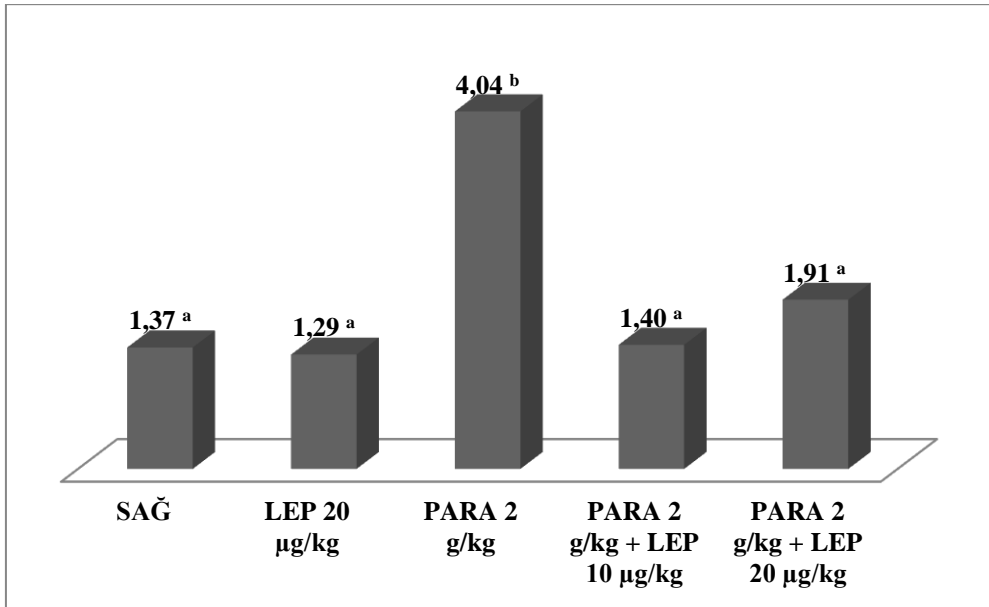
	GSH (nmol/mg protein)	MDA (nmol /mg protein)	TNF- $\alpha$ (pg/ml)
SAĞ	3,84 $\pm$ 0,79 <sup>c</sup>	1,37 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	41,31 $\pm$ 2,36 <sup>a</sup>
LEP 20 $\mu$ g/kg	3,33 $\pm$ 0,72 <sup>b,c</sup>	1,29 $\pm$ 0,76 <sup>a</sup>	48,31 $\pm$ 9,67 <sup>a</sup>
PARA 2 g/kg	1,74 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	4,04 $\pm$ 1,50 <sup>b</sup>	154,88 $\pm$ 34,14 <sup>b</sup>
PARA 2 g/kg + LEP 10 $\mu$ g/kg	3,35 $\pm$ 0,71 <sup>b,c</sup>	1,40 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>	43,25 $\pm$ 9,53 <sup>a</sup>
PARA 2 g/kg + LEP 20 $\mu$ g/kg	2,81 $\pm$ 0,66 <sup>b</sup>	1,91 $\pm$ 0,40 <sup>a</sup>	50,75 $\pm$ 12,25 <sup>a</sup>



**Şekil 4.8.** Rat Serumunda Ölçülen TNF-  $\alpha$  Miktarının Grafikle Gösterilmesi. [SAĞ: Sağlıklı grup, LEP: Leptin verilen grup, PARA: Parasetamol verilen grup. Aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli fark yoktu. ( $p < 0,05$ )]



**Şekil 4.9.** Ratların Serumunda Ölçülen GSH Miktarının Grafikle Gösterilmesi. [SAĞ: Sağlıklı grup, LEP: Leptin verilen grup, PARA: Parasetamol verilen grup. Aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli fark yoktu. ( $p < 0,05$ )]



**Şekil 4.10.** Ratların Serumunda Ölçülen MDA Miktarının Grafikle Gösterilmesi. [SAĞ: Sağlıklı grup, LEP: Leptin verilen grup, PARA: Parasetamol verilen grup. Aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli fark yoktu. ( $p < 0,05$ )]

## 5. TARTIŞMA

Parasetamol günümüzde yaygın olarak kullanılmakta olan, güvenli, etkin analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Parasetamol toksisitesi ABD ve İngiltere’de transplantasyon gerektiren ilaca bağlı akut karaciğer yetmezliğinin en yaygın nedenidir (59). Yılda tahminen 56.000 hasta parasetamol aşırı alımına bağlı olarak acil servislere başvurmakta ve bu hastaların 26.000’i hastaneye yatarak tedavi görmektedir. Bu nedenle parasetamol toksisitesi sağlık kuruluşları için büyük iş yükü oluşturmaktadır (78).

Son 30 yılda yapılan yoğun çalışmalara karşın parasetamole bağlı karaciğer hücre hasarının mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır. Kabul gören görüşe göre bu hasarlanma süreci, parasetamolün toksik reaktif bir metaboliti olan NAPQI’ya metabolize olmasıyla başlar. Bu metabolitin kanda artmaya başlaması ile ilk olarak GSH’yı tüketir, ardından mitokondriyal proteinleri de içeren bir takım hücresel proteinlere bağlanır. Bu sürecin sonucunda, mitokondriyal solunumun baskılanması, adenozin trifosfatın (ATP) tüketimi ve mitokondriyal oksidatif stres gözlemlenebilir. ATP tüketimi hepatositler ve sinüzoidal endotelial hücrelerde, selüler onkotik nekroza yol açar (79).

Aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz karaciğerde bulunan intraselüler enzimlerdir ve hepatosellüler hasar ya da nekroza bağlı olarak artan, en güvenilir iki parametredir (80).

Betto ve arkadaşları (81) tarafından yapılan çalışmada parasetamol ile toksisite oluşturulmuş ve enalaprilin tedavi edici etkisi araştırılmış. Yapılan bu çalışmada AST ve ALT değerlerinin toksik grupta, kontrol grubuna göre belirgin şekilde artış olduğu saptanmış. Aminotransferaz düzeylerinin kontrol grubuna benzer olması enalaprilin parasetamol toksisitesine karşı koruyucu olduğunu biyokimyasal olarak gösterilmiştir. Colle ve arkadaşları (82) tarafından yapılan çalışmada ise parasetamol ratlara oral yolla uygulanarak karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve *Taraxacum officinale* isimli maddenin koruyucu etkileri araştırılmış. Yapılan ölçümlerde AST ve ALT değerlerinin toksik grupta, kontrol grubuna göre belirgin derecede arttığı saptanmış. *Taraxacum officinale* ile tedavi edilen gruplarda hem AST ve ALT düzeylerinin kontrol grubuna yakın olarak

tespit edilmesi bu maddenin parasetamol toksisitesine karşı koruyucu olabileceğini göstermiş. Alipour ve arkadaşlarının (83) yaptığı çalışmada parasetamol toksisitesi oluşturulduktan sonra liposomal-N-asetilsisteinin karaciğer üzerine koruyucu etkisi araştırılmış. Yapılan bu çalışmada parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta AST ve ALT değerleri sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Liposomal-N-asetilsistein ile tedavi edilen grupta aminotransferaz düzeylerinin diğer gruplardan belirgin düşük olması bu maddenin parasetamol toksisitesine karşı biyokimyasal koruma sağlayabileceğini göstermiş. Liu ve arkadaşları (84) tarafından yapılan çalışmada farelerde parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve 5-methoxypsoralen'in hepatoprotektif etkileri araştırılmış. Bu çalışmada parasetamol uygulamasından 24 saat sonra alınan kan örneklerinde AST ve ALT değerleri, toksisite oluşturulan grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken 25 mg/kg ve 50 mg/kg 5-methoxypsoralen verilen gruplarda normal bulunması bu maddenin biyokimyasal olarak karaciğeri toksisiteye karşı koruduğunu göstermiş. Bizim çalışmamızda parasetamol toksikasyonu oluşturduğumuz deney hayvanlarından 24 saat sonra alınan kan örneklerinden yapılan ölçümlerde, toksisite oluşturulan grupta AST ve ALT değerlerinde ortalama üç ile dört kat artış saptandı. Leptin tedavisi uygulanan gruplarda ölçülen AST ve ALT değerlerinin, toksisite oluşturulan gruba göre belirgin şekilde düşük olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar literatürdeki çalışmalarda elde edilen sonuçlara uygunluk gösterdi ( $p<0,05$ ).

Parasetamol toksisitesine bağlı oluşan karaciğer hasarı sadece enzimatik değişikliklere neden olmaz, karaciğer histopatolojisinde de değişikliklere neden olur. Parasetamolün toksik dozlardaki kullanımı ile sentrolobüler nekroz gelişmektedir (85). Bununla birlikte supratherapötik dozlarda, kronik ilaç uygulaması ile karaciğerde farklı seviyelerde sentrolobüler nekrozun görüldüğü, ayrıca zamana bağımlı olarak, hasarın karaciğer lobulusunun diğer bölümlerine yayıldığı bildirilmiştir (86). Anundi ve arkadaşları (87) yüksek doz parasetamol uygulamasının ardından, hücre kültüründe periportal ve perivenöz (sentrolobüler) hepatotoksisiteyi çalışmışlar. İnsanlarda sitokrom P450 2E1 enziminin daha çok sentrolobüler bölgede üretildiği, bu yüzden sentrolobüler hasarın periportal alana göre daha şiddetli seyrettiğini görmüşler. Yapılan başka çalışmada ise Shi ve arkadaşları (88) ratlarda parasetamol ile hepatotoksisite oluşturmuş ve nikotinamidin hepatoprotektif etkilerini araştırmışlar. Yapılan bu

çalışmada parasetamol ile zehirlenme oluşturulan gruptaki ratlardan alınan karaciğer kesitlerinde yapılan histopatolojik incelemede; santral ven etrafından başlayıp midzonal bölgeye kadar ilerleyen nekroz, sinüzoidal dilatasyon ve kanama odakları gösterilmiştir. Nikotinamid uygulanan grupta nekroz ve kanama alanlarının toksisite oluşturulan gruba göre çok daha az olduğu tespit edilmiş ve bu maddenin histolojik olarak karaciğeri koruduğu bildirilmiştir. Liu ve arkadaşları (84) tarafından yapılan çalışmada farelerde parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve 5-methoxypsoralen'in hepatoprotektif etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada parasetamol toksisitesi oluşturulan grubun histopatolojik incelemesinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile birlikte sentrolobüler nekroz tespit edilmiştir. Özellikle 50 mg/kg dozunda 5-methoxypsoralen uygulanan gruptaki bulguların kontrol grubuyla aynı olması bu maddenin parasetamol toksisitesine karşı histolojik olarak koruyucu olduğunu göstermiş. Ko ve arkadaşlarının (89) yaptıkları çalışmada parasetamol ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı *Silene Aprica* isimli antioksidan maddenin koruyucu etkileri araştırılmış. Bu çalışmada alınan karaciğer kesitlerindeki histopatolojik incelemede parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta diffüz nekroz alanları, sinüzoidal konjesyon ve lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir. *Silene Aprica* uygulanan gruptaki sentrilobüler nekroz ve inflamasyonun toksisite oluşturulan gruba göre daha az olduğu tespit edilmiş. Colle ve arkadaşları (82) tarafından yapılan çalışmada ise parasetamol ratlara oral yolla uygulanarak karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve *Taraxacum officinale* isimli bir maddenin koruyucu etkileri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada karaciğer histopatolojisinde santral ven etrafında perivasküler inflamasyon, sinüzoidlerde dilatasyon, perinükleer vakuolizasyon ve hidropik dejenerasyonla karakterize hepatosit hasarı olduğu tespit edilmiştir. *Taraxacum officinale* ile tedavi edilen grupta hepatositlerin normal olduğu, sinüzoidal dilatasyon ve perivasküler inflamasyonun toksisite grubuna göre daha az olduğu gösterilmiştir. Gül ve arkadaşları (90) tarafından yapılan çalışmada parasetamol toksisitesinde ozon terapisinin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada parasetamol toksisitesi oluşturulan grubun karaciğer dokuları incelendiğinde geniş nekroz alanları, hafif sinüzoidal dilatasyon ve karaciğer parankiminde balonlaşma olduğu görülmüştür. Ozon terapisinin uygulandığı grupta nekroz alanları ve sinüzoidal dilatasyonun toksisite grubuna göre çok daha az olduğu tespit edilmiş. Bizim çalışmamızda ise literatürdeki parasetamol ile yapılan deneysel çalışmalara benzer şekilde şiddetli nekrotik odaklar

gözlendi. Özellikle parankimde çok sayıda hepatositin sitoplazmasında yoğun eozinofili artışı, çekirdeğinde yoğun hiperkromazi, hücre membranında düzensizlik olduğu belirlendi. Remark kordonlarının düzenliliğini kaybettiği, sinüzoidlerin dilate olduğu ve yoğun eritrosit agregasyonu dikkat çeken bulgular arasındaydı. Bu bulguların yanı sıra; gerek sentral ven gerekse portal alandaki vasküler yapılarda konjesyon varlığı kaydedilen diğer patolojik değişiklikler arasındaydı. Tedavi gruplarına baktığımızda; leptinin karaciğerde parasetamol toksisitesini önemli ölçüde önlediği gözlemlendi. Gerek 10 µg/kg dozunda leptin uygulanan grupta, gerekse 20 µg/kg dozunda leptin uygulanan grupta; parankimde vena sentralisten uzanan hepatosit kordonlarının dizilimi parasetamol uygulanan gruba göre oldukça düzenli ve neredeyse kontrole yakındı. Ayrıca hepatositlere daha yakından bakıldığında parasetamol verilen gruptaki gibi herhangi bir nekrotik hücre varlığına rastlanmadı, hepatositler son derece düzgün bir görünüme sahipti. Parasetamol toksisitesi uygulanmış grupta gözlenen vasküler dejenerasyonlar ve konjesyonlar 10 µg/kg dozunda verilen leptin grubunda neredeyse tamamen düzelmişken 20 µg/kg dozunda verilen leptin grubunda, 10 µg/kg dozunda verilen leptin grubuna kıyasla biraz daha belirgindi fakat bu belirginlik fizyolojik sınırları geçecek kadar çok değildi. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların yukarıda bahsedilen çalışmalarda kullanılan maddelerin parasetamol toksisitesine karşı koruyucu olduğunu gösteren bulgulara benzer olması leptinin parasetamol zehirlenmesi ile oluşturulan karaciğer hasarında, karaciğer üzerine koruyucu etkisinin bulunduğunu ima etmektedir.

Parasetamolün karaciğer üzerine toksik etkisini leptinin azalttığını gözledik. Ancak bu etkiyi hangi mekanizmalar üzerinden gerçekleştirdiğini incelemek amacıyla parasetamol toksisitesinde çok önemli olan oksidatif stres parametreleri üzerine leptinin etkilerini değerlendirdik. Lipit peroksidasyonu parasetamole bağlı karaciğer hasarına neden olan en önemli mekanizmalardan biridir ve oksidatif stres sonucu serbest oksijen radikallerine bağlı olarak ortaya çıkar. Lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitlerine etki etmesi sonucu gerçekleşir. Lipit peroksidasyonunun oksidatif strese maruz kalan dokulardaki hücre fonksiyon kaybında majör rolü olduğu bildirilmiştir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipit peroksidasyonunu göstermede yaygın kullanılan belirteçlerden biridir. Oksidatif strese maruz kalan

dokularda, MDA düzeylerinde artış görülür. Bu bize plazma MDA düzeyinin oksidatif stres için biyomarker olarak kullanılabileceğini göstermektedir (91).

Zeybekoğlu ve arkadaşları (92) yaptıkları çalışmada, farelerde soğuk hareketsizliğe bağlı stres durumu oluşturmuş ve leptinin kandaki oksidan-antioksidan dengesi üzerine olan etkisini değerlendirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada stres oluşturulup leptin verilen gruptaki MDA, GSH-Px ve tiyoredoksin redüktaz (TR) seviyeleri analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda leptinin stres durumunda antioksidan etki gösterdiğini ve organizmayı oksidatif stresten koruduğu belirtilmiştir. Yapılan başka çalışmada Dinçer ve arkadaşları (93) leptin uygulanan sağlıklı ve diyabetik sıçanlarda yara dokusu MDA ve GSH düzeylerini çalışmışlar. Yapılan bu çalışmada diyabetik kontrol yaraları sağlıklı kontrol yaraları ile karşılaştırıldığında MDA düzeyleri anlamlı olarak yüksek, GSH düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu çalışmada leptin, sağlıklı sıçanlarda topikal olarak uygulandığında, diyabetik sıçanlarda ise topikal ve sistemik olarak uygulandığında yara dokusu MDA düzeylerini kontrol yaralarına göre anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir. Liu ve arkadaşları (84) tarafından yapılan çalışmada farelerde parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve 5-methoxypsoralen'in hepatoprotektif etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada parasetamol uygulamasından 24 saat sonra alınan kan örneklerinde MDA değerleri, toksisite oluşturulan grupta artarken 5-methoxypsoralen verilen gruplarda azalmıştır. Gül ve arkadaşları (90) tarafından yapılan çalışmada parasetamol toksisitesinde ozon terapisinin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada parasetamol uygulamasından sonra alınan kan örneklerinde MDA değerleri, toksisite oluşturulan grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Ozon terapisi uygulanan grupta elde edilen sonuçların toksisite oluşturulan gruba göre anlamlı düşük bulunması ozon terapisinin parasetamol toksisitesine karşı koruyucu olduğunu göstermiş. Gülen ve arkadaşlarının (94) yapmış oldukları çalışmada, ratlara streptozosin vererek diyabet geliştirdiler. Bu ratlara dışardan leptin vererek oksidatif stres üzerine olan etkisini araştırdılar. Sağlıklı sıçanlar, streptozosin ile diyabetik hale getirildikten sonra kan MDA miktarı artmış ve GSH miktarı azalmış olarak bulular. Bu sıçanlara dışardan leptin verilmesi sonucu MDA miktarlarında anlamlı derecede düşüş ve GSH miktarlarında anlamlı bir yükselme olduğunu gördüler. Literatüre baktığımızda bunlar ve bunlara benzer birçok deneysel

çalışmada parasetamol veya farklı ajanlarla oluşturulan oksidatif strese MDA değerlerinin arttığı, uygulanan tedavi yöntemlerinin ise MDA değerlerini azaltarak parasetamol toksisitesini engellediği gösterilmiştir. Biz çalışmamızda, karaciğer dokusundaki oksidatif stres artışının leptin ile engellenebileceğini tespit ettik. Karaciğer dokusundaki MDA değerinin, parasetamol verilerek toksisite oluşturulan grupta artmış olduğu saptandı. Çalışmamızda leptin ile tedavi ettiğimiz gruplarda ratların kanlarında MDA düzeylerinin anlamlı olarak artmadığını gördük ( $p<0,05$ ). Bu sonuç, literatürdeki elde edilen sonuçlara uygun olarak leptinin parasetamole bağlı gelişen oksidatif hasara karşı savunma oluşturarak lipit peroksidasyonunu önlediğini ve buna bağlı olarak hücre zarının bütünlüğünün korunmasında etkili olabildiğini bize düşündürdü.

Glutasyon, kimyasal olarak reaktif toksik bileşikler ya da oksidatif strese karşı hücrel savunmada rol oynayan en önemli antioksidanlardan biridir. GSH redükte ve okside durumlarda bulunur. Redükte formunda, sisteinin thiol grubu reaktif oksijen ürünleri gibi stabil olmayan moleküllere, indirgeyici ekivalanları verebilme yeteneğindedir. Bu mekanizma ile koruyucu etki ortaya koyar. GSH enzimatik olmayan antioksidan sistemin önemli bir parçasıdır. Azalmış hücrel GSH düzeyleri ve GSH sentez kapasitesi gibi durumlarda hücreler radyasyona ve bazı ilaçlara duyarlı hale gelir. Parasetamolün toksik dozlarında oksidatif stresin bir mediatörü olarak NAPQI'nın, GSH düzeylerinde azalmaya ve bu azalmaya bağlı olarak lipit peroksidasyonunda artmaya yol açtığı bilinmektedir. Bu toksik metabolit kritik hücrel proteinlere bağlanarak hepatik nekroza yol açar (95). Manda ve arkadaşları (96) tarafından yapılan çalışmada kan GSH değerleri parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre azalmış olarak saptanmış, verilen  $\beta$ -Karoten tedavisi ile bu değerlerde artış belirlenmiştir. Gül ve arkadaşları (90) tarafından yapılan çalışmada parasetamol toksisitesinde ozon terapisinin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada parasetamol uygulamasından sonra alınan kan örneklerinde GSH değerleri, toksisite oluşturulan grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalırken ozon tedavisi uygulanan grupta toksisite grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş. Yapar ve arkadaşlarınca (97) yapılan benzer çalışmada parasetamolle indüklenen toksisitede serum GSH değerleri azalmış olarak saptanmış ve verilen L-Karnitin tedavisi ile bu azalmış GSH değerlerinin arttığı tespit edilmiştir. Liu ve arkadaşları (84) tarafından yapılan çalışmada farelerde parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve 5-



methoxypsoralen'in hepatoprotektif etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada parasetamol uygulamasından 24 saat sonra alınan kan örneklerinde GSH değerleri, toksisite oluşturulan grupta anlamlı derecede azalmışken 5-methoxypsoralen ile tedavi edilen grupta kontrol grubu ile aynı değerler elde edilmiş. Dinçer ve Gülen diyabetik sıçanlar üzerindeki yaptıkları çalışmalarda, hem diyabet geliştirilen sıçanlarda hem de diyabetik yarısı bulunan sıçanlarda dışardan leptin verilmesi sonrası kan GSH seviyelerinin anlamlı derecede yükseldiğini göstermişlerdir (93, 94). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da doku GSH değerinin parasetamolle indüklenen hepatotoksistide azaldığı tespit edildi. Bu da bize literatür ile uyumlu olarak parasetamolle oluşturulan karaciğer toksisitesinde oksidatif stresin etkili olduğunu düşündürdü. Çalışmamızda ratların karaciğerinde GSH değerlerindeki azalmanın leptin ile tedavi edilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde engellendiğini tespit ettik ( $p<0,05$ ). Bu sonuç, leptinin parasetamol zehirlenmesinde hepatositlerde gerçekleşen oksidatif strese karşı koruma sağladığını, antioksidan özelliğinin bulunduğunu ve hücre hasarını azalttığını desteklemektedir.

Parasetamol toksisitesine bağlı gelişen karaciğer nekrozunda oksidatif stres ile beraber serum sitokinlerinin ve özellikle TNF- $\alpha$ 'nın da yeri olduğu son çalışmalarda tespit edilmiştir. TNF- $\alpha$  çoğunlukla karaciğerdeki makrofajlardan üretilen bir proinflamatuvar sitokindir. Sistemik toksisitenin ve karaciğer hasarının primer mediatörüdür. İskemi reperfüzyon ve fulminan hepatik yetmezlik de dahil olmak üzere karaciğer hasarının birçok formunda TNF- $\alpha$ 'nın önemli rolü olduğu bilinmektedir (73). TNF- $\alpha$  agresif inflamatuvar süreci başlatarak hücre hasarını daha da kötüleştirebildiği gibi apoptozisi ve hücre proliferasyonunu uyararak doku onarımına da yardım eden santral regülatördür. Yapılan bir çalışmada kısmi hepatektomiden önce TNF- $\alpha$  antikorlarının uygulanması karaciğer rejenerasyonuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (98). Bu bağlamda TNF- $\alpha$ 'nın insan ve kemirgen hepatositlerinde bir mitojen olarak görev yapması son zamanlarda yapılan in vitro deneylerle de desteklenmiştir (98). TNF- $\alpha$  hem hepatositler için mitojenik olup karaciğer hasarındaki onarımda ve kısmi hepatektomiye takiben rejenerasyonda görev alır hem de aşırı inflamatuvar cevabı indükleyerek hücre hasarına sebep olabilir (72). Teng ve arkadaşlarının (99) yaptığı çalışmada *Tournefortia sarmentosa* adlı maddenin parasetamol toksisitesine bağlı gelişen hepatotoksiste üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada parasetamol

toksitesini oluşturulan gruptaki TNF- $\alpha$  düzeyleri sağlıklı gruba göre anlamlı derecede artmıştır. *Tournefortia sarmentosa* ile tedavi edilen gruplarda ölçülen TNF- $\alpha$  düzeyleri toksisite grubuna kıyasla anlamlı düşük bulunmuş. Yan-Ling Wu ve arkadaşlarının (64) yaptığı çalışmada farelerde parasetamol ile toksisite oluşturulmuş ve parasetamol verilen gruplarda TNF- $\alpha$  seviyesinin yükseldiği tespit edilirken acanthoic acid verilen grupta belirgin düşük olduğu tespit edilmiş. Sheng-Lei Yan ve arkadaşlarının (66) yaptığı çalışma bütün diğer çalışmaları destekler nitelikte olup karaciğer toksitesini oluşturduğunda TNF- $\alpha$  seviyesinin yükseldiği ve uygulanan tedavinin başarısına göre toksisite azaldıkça TNF- $\alpha$  seviyesinin azaldığı gözlenmiştir. Bu çalışmalar dışında leptin ve TNF- $\alpha$ 'nın fizyolojik olarak birbirleri ile ilişkisi de pek çok çalışmada gösterilmiştir. Literatür incelendiğinde yapılan çalışmaların çoğu, leptinin proinflamatuvar etki gösterdiği yönünde olmasına rağmen leptinin antiinflamatuvar etkinliğinin varlığını gösteren çalışmalarda bulunmaktadır. Van Dielen ve arkadaşlarının (100) yapmış olduğu çalışmada plazma leptin seviyeleri ve plazma proinflamatuvar belirteçler arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Tsiotra ve arkadaşları (101) yüksek insülin ve leptin seviyelerinin insan mononükleer hücrelerinden proinflamatuvar sitokinlerin salınımını arttırdığını belirtmişlerdir. Bu çalışmalar leptinin proinflamatuvar etkinliğini gösterirken Koca ve arkadaşlarının (102) yaptığı çalışmada gram negatif sepsis modeli geliştirilen ratlara dışardan leptin verilmesi sonucu inflamasyonun sınırlandığı gözlenmiştir. Bu çalışma leptinin antiinflamatuvar etkinliğini göstermektedir. Lee ve arkadaşlarının (103) yapmış olduğu çalışmada ise bunların tersine leptinin hem proinflamatuvar hemde antiinflamatuvar etkinliğe sahip olabileceğini belirtilmişlerdir. Bizim çalışmamızda parasetamol verilen grupta TNF- $\alpha$  seviyesi diğer gruplara oranla yaklaşık 4 kat artmıştır. Bu da bize diğer çalışmalarda da olduğu gibi parasetamol toksitesini sonucu TNF- $\alpha$ 'nın önemli derecede arttığını bir kez daha göstermiştir. Bizim çalışmamız literatürdeki leptinin antiinflamatuvar etkinliğinin olduğunu belirten çalışmalara uygunluk göstermektedir. Çünkü leptin ile tedavi yapmış olduğumuz gruplarda TNF- $\alpha$  seviyesinde anlamlı düzelleme gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Bu da bize karaciğer hasarında önemli rol oynayan TNF- $\alpha$ 'nın proinflamatuvar etkilerini leptinin engelleyebileceğini ve eksojen leptinin antiinflamatuvar etkinliğinin olduğunu ima etmiştir.

Çalışma gruplarımızda, tedavi edilen gruplara 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ve 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dozlarında leptin verildi. 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  leptin verilen grupta 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  leptin verilen gruba göre

iyileşmenin histopatolojik ve biyokimyasal olarak daha fazla olması, leptinin bu endikasyondaki terapötik dozu olabileceğini, 20 µg/kg leptin dozunun supratherapötik dozlara tekabül edebileceğini bize düşündürdü.

Sonuç olarak, parasetamol zehirlenmesi ile oluşan karaciğer hasarı, inflamasyon ve oksidatif stres sonucu gelişen hepatosit yıkımı ile seyretmektedir. Leptin, antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği sayesinde bu hasarı engelleyebilmektedir. Ancak bu konuda daha kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu kanısındayız.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Yapmış olduğumuz çalışmada parasetamol zehirlenmesi oluşturulan ratların karaciğerlerinde meydana gelen hasar hem biyokimyasal hemde histopatolojik olarak tespit edildi.
2. Parasetamol toksisitesi oluşturulan gruba göre leptin ile tedavi edilen gruplardaki AST ve ALT değerleri anlamlı olarak azaldığı görüldü.
3. Çalışmamızda leptin ile tedavi edilen gruplarda ölçülen MDA düzeylerinin artmadığı, GSH düzeylerinin azalmadığı tespit edildi. Yani leptinin antioksidan etki gösterebildiği kanısına varıldı.
4. TNF-  $\alpha$  düzeylerinin parasetamol verilen grupta arttığı, leptin ile tedavi edilen grupta artmadığı ve kontrol grubuna yakın seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç leptinin antiinflamatuvar etkisinin bulunduğunu göstermektedir.
5. Parasetamol toksisitesinde oksidatif stres ve inflamasyona bağlı gelişen karaciğer nekrozunda, leptinin tedavi edici etkisinin bulunduğu ve karaciğer dokusunun korunduğu histolojik olarak gösterilmiştir.
6. Bu endikasyonda kullanıldığı takdirde daha büyük gruplarda yapılan çalışmalarla leptinin terapötik dozu, yan etki ve güvenlik profilinin belirlenmesine ihtiyaç olduğu kanısına varıldı.
7. Leptinin parasetamol toksisitesine karşı tam olarak hangi mekanizmalar üzerinden karaciğeri koruduğunun aydınlatılması amacıyla daha geniş çalışma gruplarında ve leptinin farklı dozlarda etkinliğinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Benson GD, Koff RS, Tolman KG. The therapeutic use of acetaminophen in patients with liver disease. *American journal of therapeutics*. 2005;12(2):133-41.
2. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
3. Himms-Hagen J. Physiological roles of the leptin endocrine system: differences between mice and humans. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 1999;36(6):575-655.
4. Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *Journal of leukocyte biology*. 2000;68(4):437-46.
5. Watson AM, Poloyac SM, Howard G, Blouin RA. Effect of leptin on cytochrome P-450, conjugation, and antioxidant enzymes in the ob/ob mouse. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 1999;27(6):695-700.
6. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *The New England journal of medicine*. 1996;334(5):292-5.
7. Demirkıran O. Zehirlenmeler. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. 2002;29:109-39.
8. Akkose S, Bulut M, Armagan E, Cebicci H, Fedakar R. Acute poisoning in adults in the years 1996-2001 treated in the Uludag University Hospital, Marmara Region, Turkey. *Clinical toxicology*. 2005;43(2):105-9.

9. Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes*. 1996;45(11):1455-62.
10. Ergün A. Leptin (Ob Protein). *T Klin J Med Sci*. 1999;19:130-6.
11. Flier JS, Maratos-Flier E. Obesity and the hypothalamus: novel peptides for new pathways. *Cell*. 1998;92(4):437-40.
12. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, et al. The stomach is a source of leptin. *Nature*. 1998;394(6695):790-3.
13. Lewandowski K, Horn R, O'Callaghan CJ, Dunlop D, Medley GF, O'Hare P, et al. Free leptin, bound leptin, and soluble leptin receptor in normal and diabetic pregnancies. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1999;84(1):300-6.
14. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996;382(6588):250-2.
15. Ergün A. Obezite, Besin Alımı Ve Vücut Ağırlığının Kontrolünde Leptin. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*. 1998;18:220.
16. Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet*. 1998;351(9104):737-42.
17. Esler M, Vaz M, Collier G, Nestel P, Jennings G, Kaye D, et al. Leptin in human plasma is derived in part from the brain, and cleared by the kidneys. *Lancet*. 1998;351(9106):879.
18. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature*. 1996;379(6566):632-5.

19. Burke A, Smyth E, Fitzgerald GA. Analgesic-Antipyretic Agents: Pharmacotherapy of Gout. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, (editors). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11 ed. New York: McGraw Hill; 2006. p. 671-716.
20. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. CNS drug reviews. 2006;12(3-4):250-75.
21. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 1948;94(1):29-38.
22. Ferah I. İnfliksimab'ın Parasetamolle İndüklenen Akut Karaciğer Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması [Yüksek Lisans]. Erzurum: Atatürk Üniversitesi; 2012.
23. Forrest JA, Clements JA, Prescott LF. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. Clinical pharmacokinetics. 1982;7(2):93-107.
24. Kayaalp O, Melli M. Non-Steroidal Antiinflatuar İlaçlar. İçinde: Kayaalp O, (yazar). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 12. baskı. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2009. s. 837-70.
25. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. Clinics in liver disease. 2007;11(3):525-48.
26. Dahlin DC, Miwa GT, Lu AY, Nelson SD. N-acetyl-p-benzoquinone imine: a cytochrome P-450-mediated oxidation product of acetaminophen. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1984;81(5):1327-31.

27. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical reviews in toxicology*. 2001;31(1):55-138.
28. Hinson JA, Reid AB, McCullough SS, James LP. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug metabolism reviews*. 2004;36(3-4):805-22.
29. Feldberg W, Gupta KP, Milton AS, Wendlandt S. Effect of pyrogen and antipyretics on prostaglandin activity in cisternal c.s.f. of unanaesthetized cats. *The Journal of physiology*. 1973;234(2):279-303.
30. Davies NM, Good RL, Roupe KA, Yanez JA. Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice error? not as easy as 1, 2, 3. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2004;7(2):217-26.
31. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. New York: McGraw Hill Companies Inc; 2007. p. 591-2.
32. Arundel C, Lewis JH. Drug-induced liver disease in 2006. *Current opinion in gastroenterology*. 2007;23(3):244-54.
33. Dargan PI, Jones AL. Acetaminophen poisoning: an update for the intensivist. *Critical care*. 2002;6(2):108-10.
34. James LP, Letzig L, Simpson PM, Capparelli E, Roberts DW, Hinson JA, et al. Pharmacokinetics of acetaminophen-protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2009;37(8):1779-84.



35. Laskin DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ. Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*. 1995;21(4):1045-50.
36. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2003;31(12):1499-506.
37. Blazka ME, Wilmer JL, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*. 1995;133(1):43-52.
38. Blazka ME, Elwell MR, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Histopathology of acetaminophen-induced liver changes: role of interleukin 1 alpha and tumor necrosis factor alpha. *Toxicologic pathology*. 1996;24(2):181-9.
39. Bray GP, Harrison PM, O'Grady JG, Tredger JM, Williams R. Long-term anticonvulsant therapy worsens outcome in paracetamol-induced fulminant hepatic failure. *Human & experimental toxicology*. 1992;11(4):265-70.
40. Whitcomb DC, Block GD. Association of Acetaminophen Hepatotoxicity with Fasting and Ethanol Use. *Jama-J Am Med Assoc*. 1994;272(23):1845-50.
41. Zimmerman HJ, Maddrey WC. Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: analysis of instances of therapeutic misadventure. *Hepatology*. 1995;22(3):767-73.
42. Acetylcysteine For Acetaminophen Overdose. 2005; Available from: [http://uuhsc.utah.edu/poison/healthpros/utox/Vol7\\_No1.pdf](http://uuhsc.utah.edu/poison/healthpros/utox/Vol7_No1.pdf).

43. 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(3):148-54.
44. Burkhart KK, Janco N, Kulig KW, Rumack BH. Cimetidine as adjunctive treatment for acetaminophen overdose. *Human & experimental toxicology*. 1995;14(3):299-304.
45. Brok J, Buckley N, Gluud C. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane database of systematic reviews*. 2006(2):CD003328.
46. Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet*. 1977;2(8035):432-4.
47. Kozer E, Koren G. Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug safety : an international journal of medical toxicology and drug experience*. 2001;24(7):503-12.
48. Prescott LF, Illingworth RN, Critchley JA, Stewart MJ, Adam RD, Proudfoot AT. Intravenous N-acetylcysteine: the treatment of choice for paracetamol poisoning. *British medical journal*. 1979;2(6198):1097-100.
49. Polson J, Lee WM, American Association for the Study of Liver D. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology*. 2005;41(5):1179-97.
50. Lynch RM, Robertson R. Anaphylactoid reactions to intravenous N-acetylcysteine: a prospective case controlled study. *Accident and emergency nursing*. 2004;12(1):10-5.

51. O'Grady JG. Paracetamol-induced acute liver failure: prevention and management. *Journal of hepatology*. 1997;26 Suppl 1:41-6.
52. Slattery JT, McRorie TI, Reynolds R, Kalthorn TF, Kharasch ED, Eddy AC. Lack of effect of cimetidine on acetaminophen disposition in humans. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 1989;46(5):591-7.
53. Tan H-H, Chang CY, Martin P. Acetaminophen Hepatotoxicity: Current Management. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*. 2009;76(1):75-83.
54. Farmer DG, Anselmo DM, Ghobrial RM, Yersiz H, McDiarmid SV, Cao C, et al. Liver transplantation for fulminant hepatic failure: experience with more than 200 patients over a 17-year period. *Annals of surgery*. 2003;237(5):666-76.
55. Barshes NR, Gay AN, Williams B, Patel AJ, Awad SS. Support for the acutely failing liver: a comprehensive review of historic and contemporary strategies. *Journal of the American College of Surgeons*. 2005;201(3):458-76.
56. Russo MW, Galanko JA, Shrestha R, Fried MW, Watkins P. Liver transplantation for acute liver failure from drug induced liver injury in the United States. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2004;10(8):1018-23.
57. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiodt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, et al. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Annals of internal medicine*. 2002;137(12):947-54.

58. Harrison PM, O'Grady JG, Keays RT, Alexander GJ, Williams R. Serial prothrombin time as prognostic indicator in paracetamol induced fulminant hepatic failure. *British medical journal*. 1990;301(6758):964-6.
59. Bernal W, Wendon J, Rela M, Heaton N, Williams R. Use and outcome of liver transplantation in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatology*. 1998;27(4):1050-5.
60. Sass DA, Shakil AO. Fulminant hepatic failure. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2005;11(6):594-605.
61. Yurdaydın C. Fulminan Karaciğer Yetmezliği. İçinde: İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S, (yazarlar). *İç Hastalıkları*. 3. baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2012. s. 1528-35.
62. Erden M. Serbest Radikaller. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1992;12:201.
63. Kavas G. Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1989;9:1.
64. Wu YL, Jiang YZ, Jin XJ, Lian LH, Piao JY, Wan Y, et al. Acanthoic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum*, protects acetaminophen-induced hepatic toxicity in mice. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2010;17(6):475-9.
65. Hsu CC, Lin CC, Liao TS, Yin MC. Protective effect of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2006;44(3):393-7.

66. Yan SL, Wu ST, Yin MC, Chen HT, Chen HC. Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen-induced liver injury. *Journal of food science*. 2009;74(8):259-65.
67. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26 ed. New York: McGraw Hill; 2003. p. 88-260
68. Aydemir B, Sarı EK. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Vet J*. 2009;2(2):56-60.
69. Viviani B, Bartesaghi S, Corsini E, Galli CL, Marinovich M. Cytokines role in neurodegenerative events. *Toxicology letters*. 2004;149(1-3):85-9.
70. Laskin DL. Parenchymal and nonparenchymal cell interactions in hepatotoxicity. *Advances in experimental medicine and biology*. 1991;283:499-505.
71. Le J, Vilcek J. Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1987;56(3):234-48.
72. Luster MI, Simeonova PP, Gallucci RM, Bruccoleri A, Blazka ME, Yucesoy B, et al. The role of tumor necrosis factor alpha in chemical-induced hepatotoxicity. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000;919:214-20.
73. Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology*. 2006;43(2 Suppl 1):31-44.
74. Sun WY, Wei W, Gui SY, Wu L, Wang H. Protective effect of extract from *Paeonia lactiflora* and *Astragalus membranaceus* against liver injury induced by bacillus Calmette-Guerin and lipopolysaccharide in mice. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2008;103(2):143-9.

75. Gupta SK, Saxena A, Singh U, Arya DS. Bosentan, the mixed ETA-ETB endothelin receptor antagonist, attenuated oxidative stress after experimental myocardial ischemia and reperfusion. *Molecular and cellular biochemistry*. 2005;275(1-2):67-74.
76. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: part II. *Journal of ethnopharmacology*. 2003;89(2-3):217-9.
77. Hamarat M, Yenilmez A, Erkasap N, Isikli B, Aral E, Koken T, et al. Protective effects of leptin on ischemia/reperfusion injury in rat bladder. *The Chinese journal of physiology*. 2010;53(3):145-50.
78. Gyamlani GG, Parikh CR. Acetaminophen toxicity: suicidal vs. accidental. *Critical care*. 2002;6(2):155-9.
79. Jaeschke H, Knight TR, Bajt ML. The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology letters*. 2003;144(3):279-88.
80. Giboney PT. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *American family physician*. 2005;71(6):1105-10.
81. Betto MR, Lazarotto LF, Watanabe TT, Driemeier D, Leite CE, Campos MM. Effects of treatment with enalapril on hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2012;385(9):933-43.
82. Colle D, Arantes LP, Gubert P, da Luz SC, Athayde ML, Teixeira Rocha JB, et al. Antioxidant properties of *Taraxacum officinale* leaf extract are involved in

- the protective effect against hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice. *Journal of medicinal food*. 2012;15(6):549-56.
83. Alipour M, Buonocore C, Omri A, Szabo M, Pucaj K, Suntres ZE. Therapeutic effect of liposomal-N-acetylcysteine against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Journal of drug targeting*. 2013;21(5):466-73.
84. Liu WX, Jia FL, He YY, Zhang BX. Protective effects of 5-methoxypsoralen against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *World J Gastroenterol*. 2012;18(18):2197-202.
85. Farber JL, Gerson RJ. Mechanisms of cell injury with hepatotoxic chemicals. *Pharmacological reviews*. 1984;36(2 Suppl):71-5.
86. Mirochnitchenko O, Weisbrot-Lefkowitz M, Reuhl K, Chen L, Yang C, Inouye M. Acetaminophen toxicity. Opposite effects of two forms of glutathione peroxidase. *The Journal of biological chemistry*. 1999;274(15):10349-55.
87. Anundi I, Lahteenmaki T, Rundgren M, Moldeus P, Lindros KO. Zonation of acetaminophen metabolism and cytochrome P450 2E1-mediated toxicity studied in isolated periportal and perivenous hepatocytes. *Biochemical pharmacology*. 1993;45(6):1251-9.
88. Shi Y, Zhang L, Jiang R, Chen W, Zheng W, Chen L, et al. Protective effects of nicotinamide against acetaminophen-induced acute liver injury. *International Immunopharmacology*. 2012;14(4):530-7.
89. Ko YJ, Hsieh WT, Wu YW, Lin WC. Ameliorative effect of *Silene aprica* on liver injuries induced by carbon tetrachloride and acetaminophen. *The American journal of Chinese medicine*. 2002;30(2-3):235-43.

90. Gul H, Uysal B, Cakir E, Yaman H, Macit E, Yildirim AO, et al. The protective effects of ozone therapy in a rat model of acetaminophen-induced liver injury. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2012;34(1):81-6.
91. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical chemistry*. 1997;43(7):1209-14.
92. Zeybekoglu G, Kilic N, Yildirim Z, Ozer C, Babul A. Effects of leptin in rat liver antioxidant systems. *Turkish journal of biochemistry*. 2012;37(4):452-6.
93. Dinçer S, Gülen Ş. Leptin Uygulanan Sağlıklı ve Diyabetik Sıçanlarda Yara Dokusu Malondialdehit ve Glutatyon Düzeyleri. *Erciyes Tıp Derg*. 2010;32(3):161-6.
94. Gulen S, Dincer S. Effects of leptin on oxidative stress in healthy and Streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular and cellular biochemistry*. 2007;302(1-2):59-65.
95. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current opinion in pharmacology*. 2007;7(4):355-9.
96. Manda K, Bhatia AL. Role of  $\beta$ -carotene against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Nutrition Research*. 2003;23(8):1097-103.
97. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, et al. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie*. 2007;59(2):121-8.



98. Akerman P, Cote P, Yang SQ, McClain C, Nelson S, Bagby GJ, et al. Antibodies to tumor necrosis factor-alpha inhibit liver regeneration after partial hepatectomy. *The American journal of physiology*. 1992;263(4 Pt 1):579-85.
99. Teng C-Y, Lai Y-L, Huang H-I, Hsu W-H, Yang C-C, Kuo W-H. *Tournefortia sarmentosa* extract attenuates acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Pharmaceutical Biology*. 2012;50(3):291-396.
100. van Dielen FM, van't Veer C, Schols AM, Soeters PB, Buurman WA, Greve JW. Increased leptin concentrations correlate with increased concentrations of inflammatory markers in morbidly obese individuals. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2001;25(12):1759-66.
101. Tsiotra PC, Boutati E, Dimitriadis G, Raptis SA. High Insulin and Leptin Increase Resistin and Inflammatory Cytokine Production from Human Mononuclear Cells. *BioMed Research International*. 2013;2013:10.
102. Koca C, Kavaklı HŞ, Alici Ö. Immunomodulatory role of leptin treatment in experimental sepsis caused by gram negative bacteria. *Turk J Med Sci*. 2011;41:251-8.
103. Lee FY, Li Y, Yang EK, Yang SQ, Lin HZ, Trush MA, et al. Phenotypic abnormalities in macrophages from leptin-deficient, obese mice. *The American journal of physiology*. 1999;276(2 Pt 1):386-94.

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Parasetamol Zehirlenmesi İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında  
Leptin'in Karaciğer Hasarı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi**  
Dr. Murat POLAT

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 28.08.2009

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 23.09.2013

Uzmanlık Sınavı Tarihi : 31.10.2013

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ömer YILMAZ

Jüri üyesi : Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU

Jüri üyesi : Prof .Dr. İlhami KİKİ

Jüri üyesi : Prof. Dr. Fatih ALPER

Jüri üyesi : Doç. Dr. Ömer YILMAZ

Jüri üyesi : Doç. Dr. Serdar SEVİMLİ

Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

EKİM-2013  
ERZURUM