

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**ASETAMİNOFEN'İN NEDEN OLDUĞU HEPATOTOKSİSİTEDE  
ANTİOKSİDAN OLAN ERDOSTEİN VE N-ASETİLSİSTEİN'İN  
KORUYUCU ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Ayhan KÖSEOĞLU**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak hazırlanmıştır**

**ANKARA  
2010**

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**ASETAMİNOFEN'İN NEDEN OLDUĞU HEPATOTOKSİSİTEDE  
ANTİOKSİDAN OLAN ERDOSTEİN VE N-ASETİLSİSTEİN'İN  
KORUYUCU ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Dr. Ayhan KÖSEOĞLU**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Seda Banu Akıncı**

**ANKARA  
2010**

## TEŞEKKÜR

Öncelikle asistanlığım boyunca iyi bir şekilde yetişmem için bilgi, birikim ve deneyimlerini bizlerle paylaşan, her zaman sağladığı sonsuz olanak ve sınırsız çalışma ve araştırma imkanı ile maddi-manevi desteğini hep hissettiğimiz başta Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ülkü AYPAR olmak üzere çok değerli tüm hocalarıma,

Bilgi ve tecrübesinin yanında anlayışı hoşgörüsü ve yakınlığı ile yaptığımız çalışmalarda ve tezimin tüm aşamalarında özveri ve sabırla desteğini hiç esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Seda Banu AKINCI'ya

Tezimin her safhasında bana destek verip yol gösteren tezimin tamamlanmasında çok büyük katkısı olan Sayın Uzm. Dr. İsmail Aydın ERDEN'e

Çalışmamın yapım aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. Hüseyin TURGUT'a

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım ve hayatıma farklı renkler katan çok değerli asistan arkadaşlarıma ve tüm ameliyathane personeline,

Zamanın değiştiremediği duygularla, his dünyaları derin sevgili annem ve babama, Zorlu asistanlık maratonunda, her zaman yanımda olan bana katlanan sevgili eşim Esra KÖSEOĞLU'na ve sevgili kızlarım Nihal ve Yasemin'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

## ÖZET

**Köseoğlu, A. Asetaminofenin Neden Olduğu Hepatotoksisitede Antioksidan Olan N-Asetilsistein ile Erdosteine'in Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Tezi. Ankara, 2010.** Asetaminofen (parasetamol, N-acetil-p-aminofenol; APAP) uygun dozlarda kullanıldığında analjezik ve antipiretik özellik gösterir. APAP'ın yüksek dozlarda alınması klinikte oldukça sıktır. Bu durum karaciğer ve renal harabiyete neden olabilir. APAP'ın neden olduğu harabiyet serbest radikallerle literatürde ilişkilendirilmiştir. Bir tiyol derivativesi olan erdosteine KOAH'lı hastaların tedavisinde mukolitik amaçlı kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Aynı zamanda çeşitli çalışmalar erdosteinein serbest oksijen radikallerini yakalayabildiğini göstermiştir. Yapılan çalışmalarda erdosteinein karaciğerde vankomisine ve sisplatinine bağlı oksidatif hasarlarda antioksidan etkisi nedeni ile koruyucu olduğu gösterilmiştir. N-asetil sistein (NAC), bir tiyol derivativesi mukolitik bir ajan olup OH gibi reaktif oksijen radikalleriyle etkileşerek serbest radikalleri temizleyip, endotelial disfonksiyonu ve apoptozu önleyebilmektedir. Biz bu çalışmada klinikte sık gözlenen asetaminofen toksisitesine bağlı gelişen karaciğer hasarında erdosteinein ve N-Asetilsistein'in antioksidan ve karaciğeri koruyucu etkilerini değerlendirmeyi ve karşılaştırmayı amaçladık. Hacettepe Üniversitesi Hayvan Etik kurulunun izni alındıktan sonra Wistar albino cinsi sıçanlar (180-200 g) deneye alındı. Hayvanlar rastgele ve her grupta 8 hayvan olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. Tüm gruplara ilaçlar kodlanmış enjektörler ile gavajla verildi.

1. Grup; kontrol (tedavi edilmeyen grup) 1 mL/kg serum fizyolojik (%0.9 NaCl) peroral tek doz
2. Grup; sadece erdosteine verilen grup (150 mg/kg/gün peroral tek doz)
3. Grup; sadece APAP verilen grup (1g/kg peroral tek doz)
4. Grup; hem APAP hem de erdosteine verilen grup (150mg/kg/gün peroral erdosteine verildikten sonra 1g/kg APAP peroral tek doz)
5. Grup; sadece NAC tek doz 1.2g/kg peroral verilen grup
6. Grup; hem APAP hem NAC verilen grup (1g/kg APAP + 1.2 g/kg NAC peroral tek doz)

APAP verilmesinden 24 saat sonra tüm gruplardaki hayvanlar sakrifiye edildi. APAP verilmeyen 2. grupta da erdosteinin son dozundan 24 saat sonra hayvanlar sakrifiye edildi ve kardiyak ponksiyonla toplanan kan heparinize tüplere kondu. Karaciğer hemen çıkarılarak formaldehit içinde tespit edilerek ve bir patoloji uzmanı tarafından kör olarak değerlendirildi. Karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesi için alınan kandan interlökin-6 (IL-6), interlökin-10 (IL-10), tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), ve Granülosit-Monosit Koloni Stimüle Eden Faktör (GMCSF) ölçümleri yapıldı. Histopatolojik olarak incelendiğinde APAP (Grup 3) verilen grupta diğer gruplara kıyasla inflamasyon gelişimi anlamlı olarak yüksekti. Nekroz gelişimi açısından gruplar arasında anlamlı fark görülmedi. Sinüzoidal gelişme açısından bakıldığında APAP verilen grup (Grup 3) ve APAP+ N-Asetil sistein verilen grupta (Grup 6) diğer gruplara göre daha fazla düzensizlik tespit edildi. APAP+Erdostein verilen grupta (Grup 4) hafif sinüzoidal düzensizlik tespit edildi. Gruplar arasında, interlökin düzeyi, GMCSF düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Erdosteinin APAP'a bağlı hepatotoksisitedeki etkinliğini araştırdığımız ve NAC ile karşılaştırdığımız; histolojik olarak ve proinflamatuvar, inflamatuvar sitokin düzeyleri açısından erdosteinin NAC'a üstünlüğü tespit edilememiştir.

**Anahtar kelimeler:** Asetaminofen intoksikasyonu, Asetaminofen antidot, erdostein, NAC.

## ABSTRACT

**Köseoğlu, A. Comparison of NAC and Erdosteine in Acetaminophen Induced Hepatotoxicity. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Department of Anesthesiology and Reanimation, Ankara, 2010.** APAP has analgesic and antipyretic activities at proper dose. In clinical practice acetaminophen overdose is not a rare entity. Renal and hepatic tissues are primary effected systems when acetaminophen overdose occurs. It may lead renal and hepatic failure. Many studies focused on the relationship between APAP induced tissue damage and free radicals. Erdosteine a thiol derivative is used as a mucolytic agent in COPD. In addition to its mucolytic activities several studies show that erdosteine has anti-oxidant effect in vancomycine oral clsglutine induced hepatotoxicity. N-Acetyl cystein (NAC) a thiol derivative is a mucolytic agent and has anti-oxidane effect that protects cells from endothelial dysfunction and apopitozis. In this study we aimed to evaluate anti-oxidane and hepatoprotective effects of erdosteine and compare with NAC in acetaminophen induced hepatic injury in rats. The rats were randomly divided into 6 groups each consisting of 8 animals.

Group 1: Control group (%0.9NaCl group): Receiving saline at a dose of 1 ml/kg orally

Group 2: Erdosteine treated group: Receiving erdosteine at a dose of 150 mg/kg/day orally

Group 3: APAP treated group: Receiving APAP at a single dose of 1gr/kg orally

Group 4: APAP plus erdosteine group: Receive 150 mg/kg/day orally after that plus receiving 1gr/kg APAP orally

Group 5: NAC treated group. Receiving NAC at a single dose of 1.2 g/kg orally

Group 6: NAC plus APAP group. Receiving 1gr/kg APAP orally after that (plus) 1.2 gr/kg NAC orally

After 24 hours from receiving APAP dose, all the animals were sacrificed and blood was collected with cardiac puncture in to the heparinized tubes. The liver has been evaluated by all blinded pathologist. Evaluating hepatic functions serum interleukin 6, 10, TNF- $\alpha$ , activities were measured. These parameters have been determined by using Adviya 1800 (Siemens) biochemical auto analyzer and with original kits.

Histopathological examination revealed that inflammation in APAP treated group (Group 3) was remarkably high. Necrosis development was not different between groups. Sinusoidal narrowings around the central vein were slightly more visible in the APAP-alone (Group 3) and APAP+N-Acetyl cysteine groups (Group 6) than other groups. Minimal sinusoidal narrowing was observed in APAP+Erdostein administered group (Group 4). There was no difference between groups for the levels of interleukin, GM-CSF.

To our knowledge this is the first study that investigates the efficacy of Erdostein and compares with NAC in APAP induced hepatotoxicity. Results of study indicate that erdostein is not superior to NAC histologically and proinflammatory, inflammatory cytokin levels.

**Key Words:** Acetaminophen intoxication, Acetaminophen antidote, erdostein, NAC.

**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
TABLOLAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Parasetamol	6
2.2. N-Asetil Sistein (NAC)	13
2.3. Erdostein	15
2.3.1. Klinik olarak erdosteinin kullanım endikasyonları	17
2.4. Sitokinler	19
2.4.1. İnterlökinler	24
2.5. Hayvan Modeli Olarak Sıçan	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
4. BULGULAR	36
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
7. KAYNAKLAR	53



## SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	Alanin Transaminaz
APAP	N-Asetil-P-Aminofenol
AST	Aspartat Transaminaz
COX	Siklooksijenaz
CRP	C-Reaktif Protein
ELAM	Endothelial Cell-Adhesion Molecule
G-CSF	Granülosit Koloni Stimüle Eden Faktör
GM-CSF	Granülosit-Monosit Koloni Stimüle Eden Faktör
GSH	Glutasyon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
HLA	Human Leukocyte Antigen
HO <sub>2</sub>	Hidroperoksit Radikali
ICAM-1	İntraselluler Adezyon Kuvvet Molekül-1
IL	İnterlökin
M-CSF	Monosit-Makrofaj Koloni Stimüle Eden Faktör
MDA	Malondialdehid
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NAC	N-Asetilsistein
NAPQI	N-Asetil-P-Benzoquinone-Imine
NK	Natural Killer
NO	Nitrik Oksit
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit Radikali
OH	Hidroksil Radikali
PGE	Prostaglandin E
PT	Protrombin Zamanı
SCF	Stem Cell Faktör
TGF	Transforming Growth faktör
TH1	T Helper-1
TNF	Tümör Nekroz Faktör
V-CAM	Vascular Cell Adhesion Molecule

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Ülkemizde 5 yaşından küçük çocuklarda ağız ve solunum yoluyla alınan zehirli maddelerin dağılımı	5
2.2. Dünyada 5 yaşından küçük çocuklarda ağız yoluyla alınan zehirli maddelerin dağılımı	5
2.3. Parasetamol serum düzeyinin zamana bağlı değişimini gösteren eğrinin karaciğer hasarı ile ilişkisi (Rumack-Matthew nomogramı)	11
2.4. TNF etkileri	26

**RESİMLER**

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
3.1. Deney hayvanlarında anestezi sonrası tespit	32
3.2. Deney hayvanlarında göğüs ve karın boşluğunun açılması	32
3.3. Deney hayvanlarında karaciğer eksizyonu için serbestleştirme	33
3.4. Deney hayvanlarında intrakardiyak kan alınması	33
3.5. Deney hayvanlarında karaciğer çıkartılması	34
4.1. APAP+NAC verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen inflamasyonun mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x40)	39
4.2. APAP+NAC verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen inflamasyonun mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x10)	40
4.3. APAP+Erdosteine verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen sinüzoidal düzensizliğin mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x10)	41
4.4. APAP verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen sinüzoidal düzensizliğin mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x40)	42
4.5. APAP verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen nekrozun mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x40)	43
4.6. APAP verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen nekrozun mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x40)	44

**TABLolar**

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. Parasetamol zehirlenmesinde belirti ve bulgular	12
2.2. İmmunitede Rolü Olan Sitokinler	21
2.3. Sıçanların biyofizik ve biyokimyasal ölçütleri	30
4.1. Histopatolojik inceleme sonuçları	36
4.2. Sinüzoidal düzensizlik şiddeti açısından grupların karşılaştırılması	38
4.3. İnflamasyonun şiddeti açısından grupların karşılaştırılması	38
4.4. Nekroz şiddeti açısından grupların karşılaştırılması	39
4.5. TNF- $\alpha$ , GM-CSF, IL-6 ve IL-10 düzeyi ortalamalar	39

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Zehirlenmeler, sık karşılaşılan ve ölümcül olabilen önemli bir sağlık sorunudur. Akut zehirlenmeler, potansiyel olarak ciddi sonuçlara yol açabilmekte ve olguların %3-5'i yoğun bakım ünitesinde izlenmeye gereksinim duyulabilmektedir.

İnsan ve hayvan organizmasına değişik yollardan giren maddelerin, aşırı dozlarına bağlı yan etkilerden ya da zehirli etkilerinden ileri gelen bozukluklara “zehirlenme” adı verilmektedir. Zehrin en tipik özelliği bu zararlı etkisini en küçük dozlarda bile göstermesidir. Ülkemizde her yıl 150 000-200 000 akut zehirlenme olgusuna rastlanmaktadır; bunların %58,6'sına ilaçlar neden olmaktadır (4).

Asetaminofen (parasetamol, N-asetil-p-aminofenol; APAP) uygun dozlarda kullanıldığında analjezik ve antipiretik özellik gösterir. APAP'ın yüksek dozlarda alınması klinikte oldukça sıktır. Bu durum karaciğer ve renal harabiyete neden olabilir. NAS mukolitik bir ilaç olarak 1960'lardan itibaren kullanılmaktadır. Klasik mukolitikler serbest sülfhidril (tiol) grubu içerirler. Mukustaki disülfid bağlarını kırarak, mukoproteinleri parçalar ve mukusun vizkozitesini azaltırlar. Başlıcaları

NAS, karbosistein ve erdosteindir. NAS iv, inhalasyon ve oral yol ile diğerleri ise yalnız oral yoldan uygulanırlar. Bu ilaçların hücre içinde sistein miktarını arttırarak glutasyon üretimini ile antioksidan özellik gösterdikleri bilinmektedir.

Bir tiyol derivesi olan erdostein KOAH'lı hastaların tedavisinde mukolitik amaçlı kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Aynı zamanda çeşitli çalışmalar erdosteinin serbest oksijen radikallerini yakalayabildiğini göstermiştir.

N-asetil sistein (NAC), mukolitik bir ajan olup OH gibi reaktif oksijen radikalleriyle etkileşerek serbest radikalleri temizleyip, endotelial disfonksiyonu ve apopitozu önleyebilmektedir. Biz bu çalışmada klinikte sık gözlenen asetaminofen toksisitesine bağlı gelişen karaciğer hasarında erdosteinin ve N-Asetilsistein'in karaciğeri koruyucu etkilerini değerlendirmeyi ve karşılaştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

Zehir ve zehirlenme, insanlığın var oluşundan bu yana önemini yitirmemiş kavramlardır. İlk çağlardan beri insan sağlığının bozulmasında hastalıklar kadar, zehirlenmelerin de önemli rolü olmuştur. Akut zehirlenmeler çeşitli nedenlere bağlı gelişmekte, tıbbi ve toplumsal bir problem olmaya devam etmektedir. Gelişmiş endüstri ülkelerinde meydana gelen tehlikeli akut zehirlenmelerin sayısının, miyokard enfarktüsü sayısının yaklaşık iki katı olduğu belirtilmektedir. Ülkemizde zehirlenme insidansı %0,8-5 olarak rapor edilmiştir (1-3). Her yıl 150 000-200 000 oranında akut zehirlenme olgusuna rastlanmaktadır, bunların %58,6'sı ilaçlardan ileri gelmektedir. Kaza sonucu olan zehirlenmelerin büyük bir kısmı ağız yolu ile gerçekleşir. Zehirlenme olgularının bir kısmı, sağlık kuruluşlarına başvurmaksızın geleneksel yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Bu nedenle gerçek oranın daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir (6).

Vücuda yüksek dozda bir ya da birçok kez, küçük dozlarda ardı ardına ya da uzun süre girdiğinde, anında ya da daha sonra geçici ve/veya kalıcı fizyolojik bozukluklara neden olan hatta ölümlü sonuçlanabilen kimyasal maddelere “*zehir*” adı verilir. Bir diğer tanımla hücrelere ve yaşayan dokulara kimyasal, biyokimyasal ya da radyoaktif nitelikte zararlar veren her türlü maddedir. İnsan ve hayvan organizmasına değişik yollardan giren maddelerin, aşırı dozlarına bağlı yan etkilerden ya da zehirli etkilerinden ileri gelen bozukluklara “*zehirlenme*” adı verilmektedir. Zehrin en tipik özelliği bu zararlı etkisini en küçük dozlarda bile göstermesidir. 1573’de ünlü hekim Paracelsus’un “*Her şey zehir olabilir, zehir olmayan bir şey yoktur, bir şeyi zehir yapan dozdur*” sözleri günümüzde önemini yitirmemiştir. İnsan sağlığının bozulmasında hastalıklar kadar, zehirlenmeler de önem taşımaktadır (4,5,10).

Zehirlenmelerin sıklığı ve özellikleri, coğrafi bölge, toplumların sosyokültürel ve ekonomik durumuna göre değişiklikler gösterir. Eski çağlarda zehir genelde avcılıkta, savaşta ve idam cezalarının infazında kullanılıyordu. Romalılar ve Yunanlılar zehirleri; hızlı etki eden ve yavaş etki eden, ya da bitkisel, kimyasal ve mineral zehirleri olarak sınıflandırmışlardı. Günümüzde zehir, cinayet ve intiharlarda araç olarak kullanıldığı gibi kimi zaman da savaşlarda bir tür silah olarak da

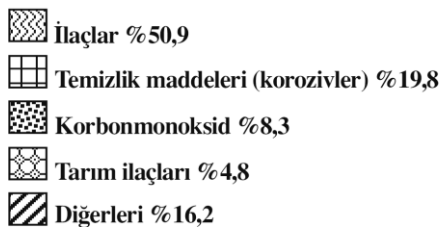
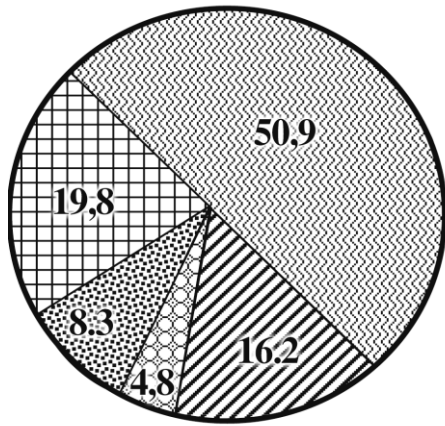
kullanılmıştır. Zehir ve toksik madde sözcükleri gibi zehirlenme ve entoksikasyon sözcükleri de eş anlamlıdır. Zehir terimi ilk kez İngiliz literatüründe milattan sonra 1230 yıllarında içeriği ölümcül olabilen ilaçları veya ilaç dozlarını tanımlamak için kullanılmıştır (7-10). Milattan önce 1500'lerde eski Mısır yazıtlarından olan Eber papirüslerinde arsenik, antimon (rastık taşı), kurşun, adamotu (kankurutan), ağiotu (baldıran), bildircin otu (kaplanboğan) ve siyanojenik glikozitlerin bulunduğu çok sayıda zehir tanımlanmıştır. Lekeli baldıran (*conium maculatum*), su baldıranı, kurtboğan, güzelavratotu, şeytan elması (*tatula*) gibi bitkiler ve mantarlardan, bunların dışında akrep, yılan ve karakurbağası zehirleri ve antik çağlarda bu amaçla civa, zincifre, arsenik de cadı kazanlarında yer almıştı. Tarih boyunca çok sayıda bitkisel veya hayvanlara ait zehirlerin okların ucunda kullanıldığı görülmektedir. Zehirlenmelere karşı bilinen ilk yasal düzenleme MÖ 82'de Sulla tarafından Roma'da dikkatsiz ilaç hazırlamaya karşı çıkartılmıştır (7-11).

Öldürmek amacı ile zehir kullanımına tarih boyunca da rastlamak mümkündür. Socrates'ın baldıran (ağiotu), içerek intihar ettiği iyi bilinmektedir. Markus Antonyus, Kleopatra'yı ziyarete gittiğinde yemekleri mutlaka bir hizmetkârına tattırıyordu. Kleopatra ise bunu hakaret addetmişti. Tarihçi, bir gün Kleopatra'nın tacından bir çiçek çıkardığını ve Marcus Antonyus'a bu çiçekle şarap ikram ettiğini, Marcus Antonyus'u ise şarabı içmek üzere iken durdurduğunu anlatır. Kleopatra şarabın yapraklarına zehir sürmüştür ve Marcus Antonyus'a "Seni öldürebilirdim" der. Sonra bir tutukluya şarabı içirerek haklılığını ispat eder. Yıllar içinde bitki, hayvan ve mineral zehirleri ile geleneksel antidotlara ilişkin çok sayıda çalışma yapıldığı bilinmektedir. Çağın en ünlü zehirlerinden olan arsenik, 8. yüzyılın sonlarında Arap simyacı Cabir Bin Hayyan tarafından işlenerek beyaz, kokusuz ve tatsız olan arsenik tozu haline getirildi. Bu toz bilinen tüm zehirlerden daha zehirliydi. Türk hekim Ebubekir Razi arseniği civa ile karşılaştırırken "ötekilerle karşılaştırıldığında arseniğin kesinlikle öldürücü etkisi var ve yan etkilerinden kurtulmak da mümkün değil" diyerek etkisini belirtmişti. Osmanlı arşivlerinde de bir Osmanlı hekim olan Ahmet Sani'nin 18. yüzyılda Panzehir adlı kitabında başta hayvan zehirleri, ısırılmalar sonucu bulaşan hastalıklar ve antidotlar üzerine çalıştığı bilinmektedir (5,10).

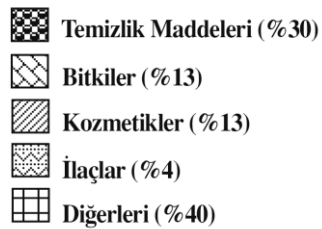
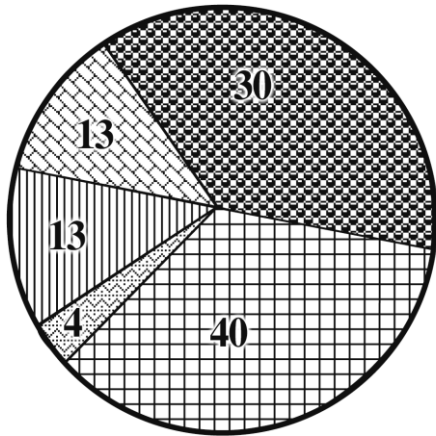
Toksikoloji ayrı bir uzmanlık dalı olarak 18. ve 19. yüzyıllarda ortaya çıkmıştır, gastrointestinal dekontaminasyon yöntemleri ile ilgili deneyler yapılmış ve paylaşılmıştır. Kuşkulu ölümlerin adli soruşturmalarında 1900'lu yılların başında zehirlenmeler de incelenmeye alınmıştır. ABD ve Avrupa'da 1940'ların sonunda zehirlenmelere özel hasta yatakları ayrılmış ve Hollanda'da ilk zehir danışma hizmeti başlamıştır. Amerikan Pediatri Derneği'nin 1952'de yayınladığı bir çalışmada çocukluk çağı kazalarının %50'den fazlasını yanlışlıkla olan zehirlenmelerin oluşturduğu bildirilmiştir. 1958'de Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Derneği (American Association of Poison Control Centers), 1968'de Amerikan Klinik Toksikoloji Cemiyeti (American Academy of Clinical Toxicology) kurulmuş ve merkezler arasında iletişimi artırmayı, standartları belirlemeyi ve uygulatmayı, sağlık personeline ve halka eğitim programları düzenlemeyi hedeflemişlerdir. Bilgilerin toplanması ve teknolojinin gelişmesi ile Toxifile ve POISINDEX adlı iki büyük ilaç ve zehir veritabanı oluşturulmuştur. Zehirlenmelerle ilgili çeşitli yasalar kabul edilmiştir (8,9).

Zehirler genelde, kimyasal, fiziksel ve fiziko-kimyasal olmak üzere üç grupta toplanırlar. Değişik özellikler göz önüne alındığında, zehirlerin sınıflandırılması, elde edildikleri kaynaklara (mineral, bitkisel, hayvansal, sentetik), kimyasal yapılarına, etki şekline (dejeneratif, teratojenik, karsinojenik, koroziv, iritan vb) etki yerlerine (santral etkili ve periferik etkili, hematolojik zehirler, kas ve topik-lokal), ve tanı yöntemlerine göre sınıflandırılırlar (9). Zehirli maddeler etkilerini gösterebilmek için belirli bir konsantrasyonda membranlardan geçip etki yerine ulaşması gerekir. Bu yoğunlaşma, alınan toksik maddenin miktarına ve emilim hızına bağlı olarak değişir ve kan dolaşımıyla organizmaya dağılır (9,13). Zehirlenmelerin %70'i ağız yolu ile (özellikle küçük çocuklarda) meydana gelmektedir. Bunların büyük çoğunluğunu ilaç zehirlenmeleri oluşturur (13,14).





**Şekil 2.1.** Ülkemizde 5 yaşından küçük çocuklarda ağız ve solunum yoluyla alınan zehirli maddelerin dağılımı (38).



**Şekil 2.2.** Dünyada 5 yaşından küçük çocuklarda ağız yoluyla alınan zehirli maddelerin dağılımı (44).

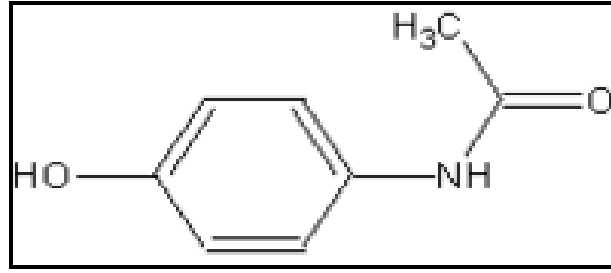
Zehirlenmelerde semptomların ortaya çıkması, maddenin alınmasından sonra geçen süre ile ilişkilidir. Bu nedenle gastrointestinal emilim önem taşımaktadır. Ağız yolundan alınan toksik maddelerin zararlı etkisi iki şekilde meydana gelmektedir. Birincisi bazı kostik ve iritan maddelerin gastrointestinal sistem mukozasında oluşturduğu bozukluklardır. Bunlar sistemik etkiden daha çok yerel zararlı etkileri önemlidir. İkincisi genelde zehirlenme adı verilen zehirli maddenin emilimi sonucu ortaya çıkan sistemik etkidir. Sindirim kanalından emilimi olan zehirli madde, kan dolaşımı yoluyla tüm vücuda dağılarak bir zehirlenme tablosu ortaya çıkarır. Bu tablo zehirin türüne, şiddetine ve emilim miktarına bağlı olarak değişiklikler gösterir (13-15).

Akut zehirlenmelerde acil girişimin yanı sıra, neden olan zehirin hızla tanısının konulması gerekmektedir (16). Acil servise gelen zehirlenmiş hastalardan alınan öykü ve klinik bulgulara göre uygulanacak destek tedavisi ve semptomatik tedavi başlangıçta büyük önem taşımaktadır. Alınan biyolojik örneklerden zehrin tipi ve miktarı, laboratuvar incelemeleriyle belirlendikten sonra özelliği tedavi uygulanması, özellikle ağır zehirlenmelerde mortalite ve morbidite riskini büyük ölçüde azaltmaktadır (9,17).

Bu projede acil servislerde çok sık olarak karşılaştığımız parasetamol (APAP) zehirlenmelerinde, karaciğerde meydana gelen toksik etkilerin incelenmesi ve deneysel tedavi yaklaşımlarının denenmesi amaçlanmıştır. Öncelikle ratlarda deneysel parasetamol toksisitesi oluşturulacaktır. Halen öksürüğün semptomatik tedavisinde kullanılan, antioksidan olduğu bilinen, kanser ilaçların karaciğer üzerindeki toksik etkilerinin giderilmesinde etkinliği daha önce gösterilmiş tiyol türevi ERDOSTEİN ile yine antioksidan ve mukolitik etkisi bilinen NAC'ın olası koruyucu etkisi ve birbiriyle karşılaştırılması araştırılacaktır.

## 2.1. Parasetamol

Parasetamol (*Asetilaminofenol*) kimyasal formülü  $C_8H_9NO_2$  olup moleküler ağırlığı 151,17 g/mol, yoğunluğu 1,263 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 169°C'dir. Parasetamol karaciğerde metabolize olur. Yarılanma ömrü 4 saattir.



**Parasetamol**

Parasetamol; Primer olarak merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu yoluyla ve olasılıkla serotoninergic sistemle indirekt etki ettiğine inanılan non-opioid bir ajandır (31).

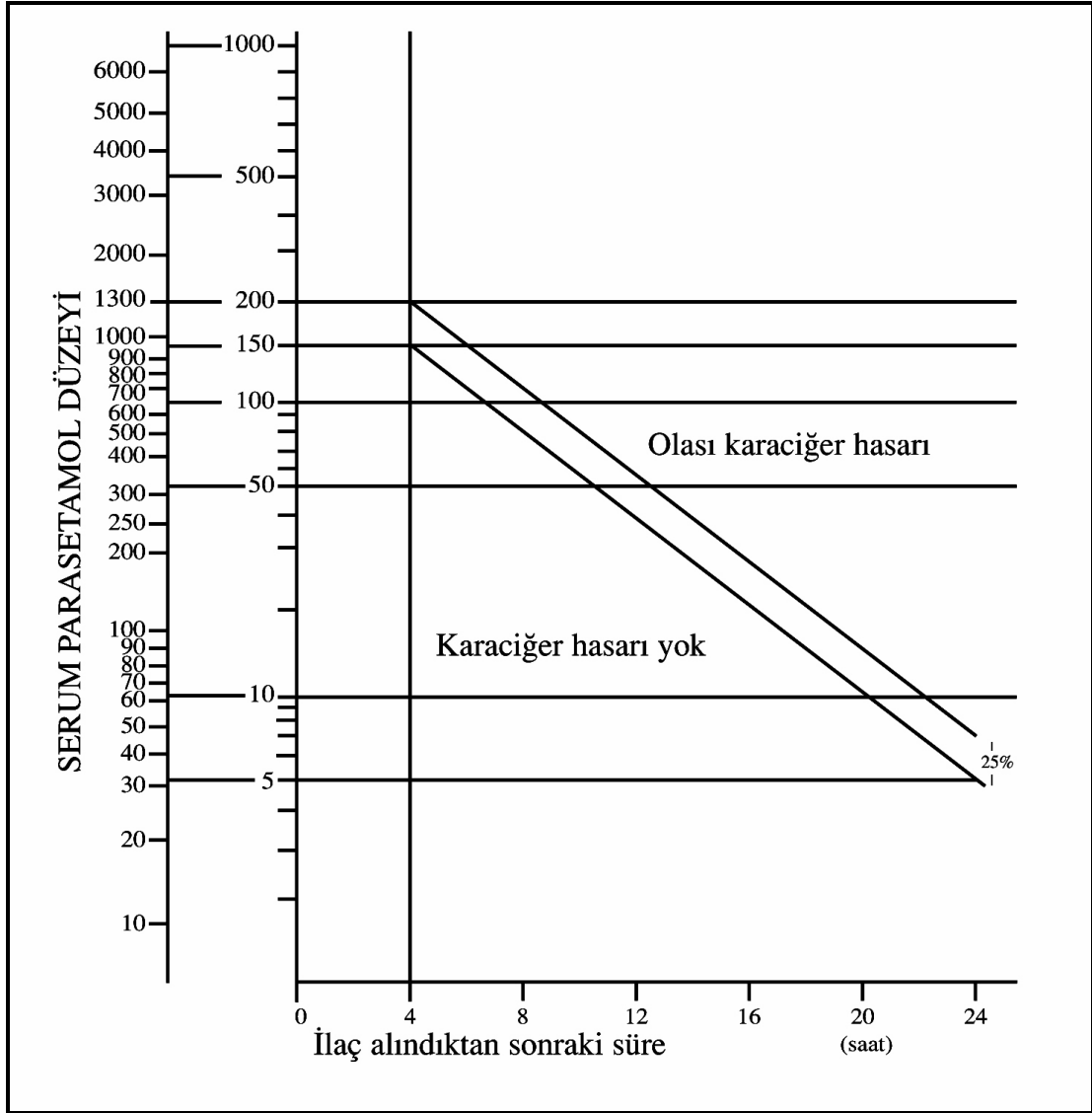
Parasetamol ya da asetaminofen Para-amino-fenol türevi olup 19. yüzyılın sonunda antipiretik olarak tedaviye girmiştir. Ağrı kesici ve ateş düşürücü etkiye sahip bir ilaç etken maddesidir. İntravenöz parasetamol ağrı ya da hiperterminin tedavisi için intravenöz yoldan kullanmak amacıyla geliştirilmiş infüzyon solüsyonudur. Her 1 ml'sinde etken madde olarak 10 mg parasetamol ve yardımcı madde olarak mannitol, sistein hidroklorür monohidrat, disodyum fosfat dihidrat ve distile su içerir. Parasetamolün suda çözünür hale gelmesini mannitol ve disodyum fosfat gibi iki hidrofilik katkı maddesi sağlar. Parasetamolün stabil kalabilmesi için perfalganın pH'sı 5,5 olarak ayarlanmıştır. Ayrıca güçlü bir antioksidan olan sistein hidroklorid monohidrat ilave edilerek oksidasyon önlenmiştir (27).

Parasetamol ağızdan alındığında gastrointestinal sistemde çabuk absorbe edilir ve etkisi erken başlar. İlaç alındıktan 30-60 dakika sonra maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır. Parasetamol bütün dokulara hızla dağılır. Bir dozdan sonra analjezik etkisi 3-4 saat kadar devam eder. Plazma proteinlerine bağlanması zayıftır. İdrarla parasetamolün %1-3'ü değişmeden atılır ve %80'i ise biyolojik olarak glükuronid veya sülfat bileşikleri olarak ıtrah edilir. Olağan dozda eliminasyon yarılanma ömrü 2,4 saattir, non-lineer eliminasyon kinetiği göstermesi nedeniyle aşırı dozda 7,3 saate kadar çıkabilir. Gastrointestinal toksisitesinin düşüklüğü nedeniyle tam dozda, antienflamatuar analjeziklerin düşük dozları ile kombine edilebilir. Analjezik etkisi yeni nesil analjeziklere göre hafif kalsa da gastrointestinal sisteme yan etkisinin hemen hemen hiç olmaması, güvenilirliği ve gebelerde kullanılabilir olması her zaman ön planda kalmasına neden olmuştur (18).

Parasetamol, aspirine yaklaşık olarak eşit derecede analjezik etki yapar. Antipiretik etkisi de aspirine yakın gutedir, ancak aspirinden farklı olarak, antienflamatuar etkinliği oldukça duşktr ve bu tür etkinlik gerektiren durumlarda kullanılmaz. Antitrombotik etkisi zayıftır, kanama zamanını değiştirmez. Parasetamol, benzeri diğer analjezik ilaçlardan farklı olarak, hipotalamus ve omurilik gibi peroksidlerden fakir ortamda, prostaglandin sentezini inhibe edebilir. Antipiretik ve analjezik etkilerin, sırasıyla, hipotalamus ve omurilik arka boynuzunda prostaglandin sentez ve salıverilmesini inhibe etmesi ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Parasetamolün uzun yıllar benzer yapısı nedeniyle asetilsalisilik asite benzer etki mekanizmasına sahip olduğu sanılıyordu. Siklooksijenaz enzimini inhibe ederek etki ettiği düşünülüyordu. Daha sonraları asetilsalisilik asit ve parasetamol arasında önemli farkların olduğu anlaşıldı. Asetilsalisilik asit COX enzimi üzerinde irreversible inhibitör etkiye sahiptir ve direkt olarak enzimin aktif bölgesini bloke eder. Parasetamol ise indirekt olarak COX enzimini bloke eder. Bu blokaj peroksidler varlığında ortadan kalkar. Bu durum neden parasetamolün yüksek düzeyde peroksid varlığında santral sinir sisteminde ve endotelial hücrelerde etkiliyken, platelet ve immün hücrelerde etkisiz olduğunu açıklayabilir. Bilinen COX-1 ve COX-2'den farklı bir COX enzim varyantının parasetamol tarafından selektif olarak bloke edildiği 2002 yılında rapor edilmiştir. Bu enzim sadece beyin ve spinal kordda tespit edilmiş ve COX-3 olarak adlandırılmıştır. COX-1'in varyantı olduğu kabul edilen COX-3 inhibitörü ve santral etkili parasetamolün (1000 mg) antihiperalezik etkisi ile ilgili farklı sonuçlar bildirilmiştir. Gönüllülerde yapılan bir çalışmada parasetamolün (1000 mg) antihiperalezik etkisi değerlendirilmiş ve sekonder hiperalezi alanını klttğ gösterilmiştir (15). Gönüllülerde yapılan başka bir çalışmada ise parasetamolün (1000 mg) antihiperalezik etkisi olmadığı rapor edilmiştir (21). Tam etki mekanizması halen anlaşılamamıştır ve bu konuda ileri çalışmalar gerekmektedir. Pina ve ark.'nın (29) yayınladığı bir çalışmada ratlara parasetamol verilmesinin serotonin biyoyararlanımını arttırdığı gösterilmiştir. Fakat bu mekanizma tam olarak bilinmiyor ve insanlarda henüz test edilmemiştir. Prostaglandin sistemi dışındaki beyin sistemlerinde santral analjezik etkisinde rol oynar. Periferdeki iltihabi dokular gibi peroksidden zengin ortamda, siklooksijenazi inhibe edememesi antienflamatuar etkisinin olmamasını açıklayabilir (27-30).

Parasetamol erişkinlerde ve adolesanlara ağızdan 500-1000 mg dozunda verilir. Gerekirse bu doz 4-6 saatte bir tekrarlanır. Günlük maksimum dozu genellikle 4g olarak kabul edilir, bazı kaynaklarda 3 g ve hatta 2,6 g olarak belirtilmiştir. Böbrek yetmezliği olanlarda ve alkoliklerde doz azaltılmalıdır. Yukarıda belirtilen dozda 5-10 günden fazla kullanılmaması önerilir. Çocuklarda hepatotoksisite potansiyeli daha düşük olduğu için kg başına verilen doz daha yüksektir; bir defalık 10-15 mg/kg dozunda verilebilir. 6-12 yaşlar arasında bir defalık dozun 20-30mg/kg'a çıkabileceği bildirilmiştir. Tek doz 150 mg/kg ve üzeri dozlar toksik kabul edilirken 300mg/kg/doz üzerindeki tek seferlik dozlar ölümcül olarak ifade edilir (9,18,19). Parasetamol tedavi dozunda karaciğerde sülfat ve glukoronid konjugatları şeklinde inaktive olmaktadır (bir kısmı sitokrom P450 etkisiyle). Bununla birlikte yaklaşık %8 oranında yüksek toksisitesi olan ara metabolitleri de oluşur. Bunlar karaciğerde glutasyonla redüksiyona uğrayıp, idrardan sistein ve merkaptürik asit konjugatları şeklinde elimine olmaktadır. Aşırı dozda parasetamol alınmasında bu toksik metabolitlerin (*N-asetil-pbenzoquinone-imine=NAPQI*) oluşumu artmakta ve karaciğerin sınırlı olan glutasyon depolarının hızla boşalmasına yol açmaktadır. NAPQI hepatositlerde nekroz oluşturan makromoleküllerle geri dönüşümsüz olarak bağlanır ve karaciğer nekrozuna yol açar. Oluşan karaciğer nekrozunun şiddeti, glutasyon depoları, sitokrom P450 sistemi ve glukuronizasyon sistemin aktivitesine bağlıdır. NAPQI'nin biyolojik yarı ömrü kısadır ve hızla bir glutasyonla birleşerek detoksifikasyona uğrar. Parasetamolün toksik ve elektrofilik metabolitleri normalde hepatik glutasyonla konjuge olurlar, ancak ortamdaki glutasyonun yetersiz kalması makromoleküller karaciğer nekrozunun başlıca nedenidir. NAPQI'nin aşırı oranda birikmesi ya da karaciğer glutasyon depoları tükenmesi durumunda, NAPQI proteinlere ve hepatositlerin lipid tabakasına bağlanarak hepatoselüler ölüme ve sentrolobüler nekroza yol açmaktadır (9,20-23). Parasetamol zehirlenmelerinde akut böbrek yetmezliği çok sık ortaya çıkmaz. Ancak ağır karaciğer yetmezliği olgularında görülebilir. Bu durumda parasetamol karaciğer nekrozu oluşumuna benzer şekilde renal tübüler nekroza da yol açabilmektedir. Ayrıca çeşitli nedenlere bağlı hepatik ensefalopatilerde de böbrek yetmezliği görülmektedir (19,23).

Kanda parasetamol düzeyi prognoz konusunda bilgi verir. İlaçın alınmasından 12 saat sonra kan düzeyi 50 µg/ml'in üzerine çıkarsa karaciğer zedelenme riski yüksektir (Şekil 2.3). Parasetamol erişkinlerde 10g'ın üzerinde alınırca sitotoksik hepatit riski oluşturabilmektedir. Akut zehirlenme oluşmasından yaklaşık 12 saat sonra ALT (Alanin transaminaz) ve AST (Aspartat transaminaz) düzeyleri artar ve doruk düzey 72-96 saat sonra oluşur (23). Aminotransferaz aktivitesi genellikle 10000 ünite'nin üstündedir. Buna karşın, alkali fosfataz yükselmesi fazla değildir. Plazma bilirubin konsantrasyondaki artma enzimlere oranla daha yavaş seyreder. Protrombin zamanı genellikle normalin üzerindedir. Karaciğer yetmezliği olan olgularda genellikle hipoglisemi de tabloya eşlik eder. Böbrek yetmezliği gelişmişse, plazma kreatin düzeyi üreden daha çabuk yükselir (19,21-25). Parasetamol zehirlenmesinde ayrıca anemi, methemoglobinüri, deri reaksiyonları, pankreatit ve miyokardiyal nekroz gibi belirtilerde görülebilmektedir (Tablo 2.1). Parasetamol maksimal tedavi dozunda (4g/gün) uzun süre kullanılırsa (1 yıldan fazla), kronik hepatit oluşturabilmektedir (19,23,24).



**Şekil 2.3.** Parasetamol serum düzeyinin zamana bağlı değişimini gösteren eğrinin karaciğer hasarı ile ilişkisi (Rumack-Matthew nomogramı) (26).

**Tablo 2.1.** Parasetamol zehirlenmesinde belirti ve bulgular.

Zehirlenme Evreleri	Belirti ve Bulgular
<b>1. Evre (ilk 24 saat)</b>	Hastada belirti olmayabilir İştahsızlık, bulantı, kusma, halsizlik Transaminazlarda yükselme
<b>2. Evre (25-72 saat)</b>	İştahsızlık, bulantı, kusma Karın sağ üst kadranda ağrı Transaminazlarda yükselme Bilirubin düzeyinde artma Protrombin zamanında uzama Böbrek işlevlerinde bozulma
<b>3. Evre (73-96 saat)</b>	Fulminan karaciğer yetmezliği (sarılık, pıhtılaşma bozukluğu, hepatik ensefalopati) Çoklu organ yetmezliğine bağlı ölüm

Parasetamol düzeyine kan, idrar ve visseral organlarda da bakılabilir. Asit veya nötr ortamda organik solventlerle (etilasetat, kloroform) ekstraksiyonu doğrudan ya da *Stas-Otto* yöntemiyle yapılabilmektedir. Daha sonra diğer testler yapılarak ayrıntılı ölçümler gerçekleştirilir.

1. Kolorimetri: Hidroklorik asitle hidrolizden sonra nitroz asit ve alfa-naftol ile diazokapulasyon sonucu oluşan 4-amino-fenol ölçülür, elde edilen rengin yoğunluğu, standardın 510nm dalga boyunda ölçülen değeri ile karşılaştırılır. Bu yöntemin kanda hassasiyeti 1mg/L.

2. Spektrofotometre: Ekstraksiyon rezidusu sodyum bikarbonat solüsyonla karıştırılır, sonra kloroformda yıkanır, bu sulu solüsyonun bir kısmı N-soda ile alkalileştirilir, alkalileştirilmemiş diğer kısımla optik dansitesi 224 nm dalga boyunda ölçülerek standardın dalga boyuna göre karşılaştırılır. Bu yöntemin kanda duyarlılığı 5mg/L.

3. Floresan polarizasyon yöntemi: Kanda hassasiyeti 0,7 mg/L'dir.

4. Gaz kromatografisi: Kanda duyarlılığı 0,5-2 mg/L'dir.

5. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi: Kanda duyarlılığı 0,1 mg/L'dir (9,19,23).

Parasetamol zehirlenmesinde erken tanı ve tedavi mortalite ve morbidite oranını önemli ölçüde düşürmektedir. Yaşamsal destek sağlandıktan sonra, ilk 1-2



saat içinde *aktif kömür* (1 mg/kg) uygulamasının yararlı olduğu bildirilmekle birlikte son yıllarda aksini bildiren yazılar da vardır (9,13,20,22,32).

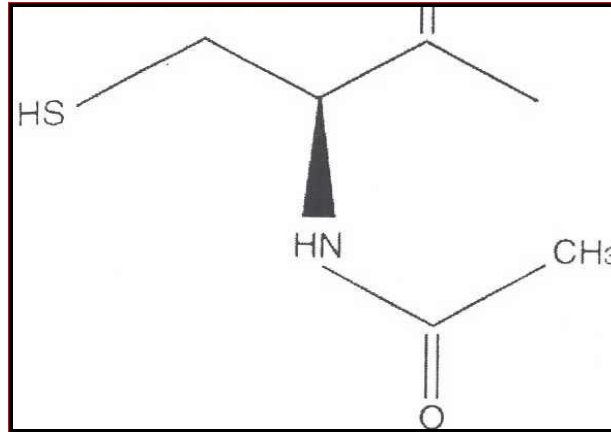
Aşırı dozda parasetamol alınması durumlarında ortaya çıkan toksik belirtilere karşı, antidot olarak *N-asetilsistein* (NAC) kullanılmaktadır. NAC karaciğerde glutasyon sentezini artırarak toksik metabolitlerin (NAPQI) detoksifikasyonunu sağlamaktadır. NAC zehirlenmiş hastanın karaciğerinde azalmış olan glutasyonun yerini alarak NAPQI ile konjuge olup, glutasyon depolarının yok olmasını önler. Aynı zamanda sulfidril (SH) gruplarının oluşmasına yardımcı olur. Başlangıçta oral veya intravenöz yoldan 140 mg/kg verilen N-asetilsistein, daha sonra 4 saat ara ile 70 mg/kg verilir. Böbrek yetmezliğinde diüretik olarak furosemid kullanılabilir. Oral yoldan metionin 4 saatte 2,5 g (toplam 10 g) kullanılabilir. Parasetamol zehirlenmesinde intravenöz sisteamin'de bazı kliniklerde kullanılmaktadır (9,22,23,33,34). Hemoperfüzyon ile parasetamol'un etkin bir şekilde kandan uzaklaştırabileceği bildirilmiştir. Ağır karaciğer yetmezliği (arteriyel pH<7,3 ve PT>100s, kreatin>300mmol/L) ve III basamak ensefalopati durumlarında karaciğer transplantasyonu düşünülmelidir (9,22,23,33-36).

## 2.2. N-Asetil Sistein (NAC)

Asetilsistein doğal bir aminoasit olan L-sisteinin N-asetillenmiş türevine verilen isimdir.

Potent antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği olan thiol bileşiğidir.  $C_5H_9NO_3$ -s formülünde 163,2 molekül ağırlığında beyaz kristal toz halinde bulunan bir maddedir ve fizyolojik pH'da stabildir. Serbest radikal tutucu özelliği olan endojen bir antioksidan aynı zamanda iyi bilinen bir glutasyon (GSH) prekürsörüdür (39,40). Antioksidan ısı koruyucu ve mikrodolaşımı iyileştirici etkileri çalışmalarda gösterilmiştir. Oral alım sonrası çeşitli dokular tarafından hızla emilir (%97). Karaciğer ve bağırsaklarda ileri derecede ilk geçiş eliminasyonuna uğrar ve deasetillenerek protein peptid zinciri yapılarına katılır ve bir dizi NAC metaboliti oluşur. Oral alınan NAC'ın yalnızca az bir miktarı değişmeden plazma ve dokulara ulaşır. Plazma tepe değerlerine oral dozdan 1 saatten önce ulaşılır. Yarılanma ömrü hemen hemen 2 saattir. Oral dozdan yaklaşık 12 saat sonra plazmada tespit edilemez. Alınan dozun %13-38'i 24 saatte idrarla atılır. NAC L-cystein ve redükte glutasyonun asetillenmiş öncülüdür. Asetilsistein akciğer ve karaciğerde glutasyon

sentezine sistein vericisi olarak katılır ve glutatyon sentezini artırır. Hücre içi sülfhidrid birikimine sebep olup indirgenmiş glutatyonun öncü maddesi olarak rol oynamaktadır. Glutatyon stoklarını yeniden doldurarak, superoksit-dismutaz aktivitesini arttırmakta, hidroksil radikallerini azaltmakta ve otokatalitik lipid peroksidasyonunu engellemektedir.



**N-Asetilsistein moleküler yapısı**

Asetilsistein ve glutatyon özellikle akciğerde enfeksiyonlar esnasında nötrofillerin oluşturduğu serbest radikallerin yanı sıra sigara dumanı ve diğer zararlı maddelerin solunmasıyla ortaya çıkan serbest oksijen radikallerini de bağlar. Böylece hücre hasarını önleyerek koruyucu etki gösterir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %50'dir. Eliminasyon yarı ömrü 6,25 saattir (39-43).

İntravenöz yolla uygulandığında NAC nadiren alerjik reaksiyonlara neden olabilir. Asetaminofen entoksikasyonu gibi yüksek oral dozlar halinde uygulandığında bile nadiren bulantı kusma, gastrointestinal yakınmalar, döküntü, kaşıntı, anjioödem, bronkospazm, taşikardi, hipotansiyon ve hipertansiyona neden olabilir.

Dokularda, özellikle akciğer dokusunda yüksek konsantrasyonda bulunur. Oksidatif strese glutatyon havuzunu bir glutatyan prekürsörü olarak besler, glutatyon redoks siklusu, endoteli korumada iyi bir defans sistemi sağlar (41-43). Mukustaki disülfid bağlarını kırarak, mukoproteinleri parçalar ve mukusun vizkozitesini azaltırlar Mukolitik etkileri nedeniyle kronik akciğer hastalıklarında ve karaciğer toksisitesi antagonizması nedeniyle asetaminofen toksisitesinde rutin

olarak kullanılmaktadır (53). Solunum yoluna ait enfeksiyon hastalıklarında koyu kıvamlı mukusun atılması azaltılması ve öksürüğü kolaylaştırması akciğerde oksidatif hasarın önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (9). Son yıllarda N-asetil sisteinin radyoopak madde kullanılan girişimsel işlemlerden önce verilerek böbrek fonksiyonlarının korunması (kontrast nefropatisi) üzerine çok sayıda çalışma yapılmış, veriliş şekli (oral, damar içi), veriliş zamanı ve dozu araştırılmıştır (26,27). Yine kardiyopulmoner by-passa giren hastalarda akciğer fonksiyonlarına böbrek fonksiyonlarına etkilerini inceleyen çok sayıda çalışma son 10 yılda yer almaktadır (31). NAC verilmesi, deneysel sepsis modelinde plazma MDA düzeylerini düşürmüştür. Başlangıçta ideal bir mukolitik olarak kullanılan bu ajan üzerinde *in vivo* yapılan çalışmalarda NAC'ın T lenfosit koloni üretimi ile lenfoproliferasyon regülasyonunu sağladığı, kemotaksis ve oksijen ara ürünlerini azaltarak makrofajlar ve PMNL'lerin davranışlarına olumlu etkileri olduğunu bildirir sonuçlar elde edilmiştir. Birçok deneysel adult respiratuar distres sendromu modelinde *in vitro* olarak, hipoklorik asiti temizlediği ve hidrojen peroksit ve hidroksil radikalini oksidanlara bağlı doku hasarını önlediği gösterilmiştir (40,45,46).

Başlıca formları; NAC, karbosistein ve erdosteindir. NAC iv, inhalasyon ve oral yol ile diğerleri ise yalnız oral yoldan uygulanmaktadır.

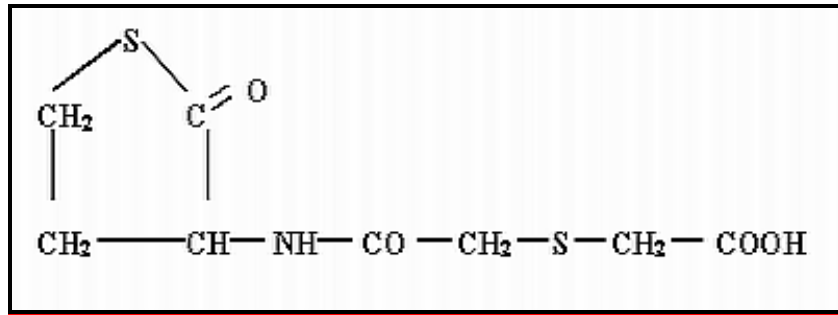
### 2.3. Erdosteın

Erdosteın doğal bir aminoasit olan homosisteinin bir formu olup bu aminoasidin N-tiolaktonik şeklidir. Kimyasal adı N-(karboksimetil tioasetil) homosistein tiolaktondur. Kimyasal kapalı formülü  $C_8H_{11}O_4N_1S_2$ 'dir. Erdosteın oral olarak alındıktan sonra hızla absorbe olur. Oral tek bir dozdan sonraki yarılanma ömrü 1,2 saattir. Alındıktan sonra hızla en az üç adet aktif metabolite dönüştürülür: N-tioglikolil homosistein (Met I), N-asetilhomosistein (Met II) ve homosistein (Met III). Bunların her birinin ortak özelliği serbest tiyol gruplarını içermesidir (47).

Erdosteının yarılanma ömrü 1,4 saattir. Ancak metabolitlerin tek tek yarılanma ömürleri birbirinden farklıdır. Örneğin Met I ve Met II nin yarılanma ömrü 1,2 ve 2,7 saattir. Bu üç metabolitten hiçbirisi idrarda ve feçeste bulunmaz. Kullanıldığında idrardaki inorganik sülfatların miktarı artar. Besinlerle birlikte alınması erdosteının ve metabolitlerinin pikini hafifçe geciktirir. Fakat bu hiçbir zaman maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşmasını engellemez. Birden çok

ilacın alındığı tedavilerde erdosteinin farmokinetiği fazla değişmez. Özellikle enzimatik induksiyon ve akümülyasyon gözlenmemiştir (47,50).

İnsan yaşı ile erdosteinin ve metabolitlerinin farmokinetiğinin değişmediği gösterilmiştir. Sağlıklı bireylerde ve kronik bronşitli hastalarda ilacın farmokinetiği açısından bir fark gözlenmemiştir. Kreatin klerensi 25-40 ml/dakika olan böbrek yetmezlikli yaşlı hastalarda erdostein ve metabolitlerinin farmakokinetik özellikleri sağlıklı yaşlı bireylerden farklı bulunmamıştır. Teofilin veya eritromisin ile herhangi bir farmakokinetik etkileşim gözlenmemiştir (47).



**Erdostein'in kimyasal yapısı**

Erdostein beyaz mikro kristalli acı ve renksiz toz görünümündedir. Mukolitik tipte mukus modifiye edici orijinal maddelerden biridir. Bronşiyal mukozaların sekresyonları üzerine sulandırıcı aktivitesi esas olarak absorpsiyondan sonra transformasyona uğrayarak aktif metabolitlerine dönüşmesine bağlıdır. En son aktif metabolitler serbest -SH radikalleri taşımaktadır. Bu radikaller glikoproteinlerin birbirine bağlandıkları disülfid köprülerine bağlanarak kırılmasını sağlarlar. Böylece mukus elastikliğinde ve vizkozitesinde azalma oluşturarak ekspektoran etki gösterir (47,51). Metabolize edilmeden önce erdostein kapalı (inaktif formda) iki adet tiol grubu taşır. Bronşiyal sekresyonlarda bulunan mukopolisakkaritlerin disülfid köprülerinin açılması ancak erdostein molekülünün metabolize olarak sülfidril radikallerin serbest hale gelmesi ile ve tiolakton halkasının açılması ile mümkün olur. Bu ilacın gastrointestinal düzeyde iyi tolere edilmesi ve organlara dağılımı serbest -SH gruplarının yokluğuna bağlıdır (47). Hayvanlarda yapılan birçok deneysel modelde mukolitik aktiviteye sahip olduğu, mukoproteinlerin disülfid köprülerinin parçalanmasına sebep olduğu, bazı bronkopnömatilerde artan

siyalomüsünlerin parçalanmasına sebep olduğu gösterilmiştir. Mukosilyer temizlenmeyi artırarak ekspektorasyonu daha rahat hale getirir. Serbest radikal süpürücü aktivitesi nedeniyle antioksidan özelliklere sahiptir. Sigara içimiyle inaktive olan pulmoner AAT'yi korur. Metabolize edildikten sonra bronşiyal sekresyonlarda bulunan farklı glikoprotein bileşiklerinin molekül içi ve moleküller arası disülfid köprülerini parçalar. Bronşiyal sekresyonların mukus vizkozitesinin azalması açısından çok kuvvetli bir aktiviteye sahiptir. Ayrıca mukosilyer transportu artırır. Sekresyonların normal vizkositesini sağlayarak hızla balgam hacmini azaltır. Böylece hem öksürükteki hem de ekspektorasyondaki zorlukları yener. Kronik bronşitli hastalarda ekspektorasyonun sekretuar IgA konsantrasyonunu artırır. Bu özelliği molekülün antiinflamatuvar aktivitesinin bir sonucu olabilir. Böylece bronşiyal inflamasyonun önemli öğelerinin azalmasına yol açar. Hem sağlıklı bireylerde hem de kronik bronşitli hastalarda sigara içimiyle inaktive olan AAT'nin fonksiyonunu koruyucu etki gösterir. Erdosteine bronşiyal sekresyonlarda amoksisilinin penetrasyonunu artırır. Yine erdosteine ve metabolitleri PMN nötrofillerin tütün ile indüklenen kemotaktik aktivitelerindeki azalmaya karşı koruyucu etki gösterir (47). Dört hafta süreyle günde üç defa 300 mg erdosteine verilen 24 sağlıklı sigara içen bireyde fonksiyonel AAT düzeyi (alveoler dokuda elastine karşı elastazın hidrolitik özelliklerini inhibe edici aktif kısım) 1-1,2 mmol/l olan plasebo değerleri ile karşılaştığında 1,1-2,2 mmol/l'ye yükselmiştir (51). Erdosteine alanlarda AAT'nin EİK yüzdesi %25'ten %85'e çıkmıştır. Periferik PMN hücrelerin kimyasal sitimuluslara doğru hareket etmeleri sigara içenlerde azalmıştır. Onaltı sigara içen ve kronik bronşiti olan birey günde 3 defa 300 mg erdosteine ile iki hafta tedavi edildiğinde PMN hücrelerinin kemotaktik ajanlar olan kazein ve formil-metiyonil-lösin-fenilalanine olan cevap verme kapasitesinde sigaranın neden olduğu azalma ortadan kalkmıştır (52).

### **2.3.1. Klinik olarak erdosteine kullanım endikasyonları (47)**

1. Mukus ve mukopürülan içeriğinin sulandırılması veya ekspektorasyonun artırılarak ventilasyonun sağlanması:
  - a) Akut ve kronik bronkopulmoner hastalıklar (akut ve kronik bronşitin alevli veya stabil fazları, bronşektaziler, hipersekretuar bronşiyal astma)

- b) Üst respiratuar yolun akut ve kronik hastalıkları (rinit, sinüzit, farenjit, larenjit, trakeit).
- 2. Bronşiyal hastalıkların gelişimin önlemek amacıyla:
  - a) Amfizemin eklendiği hipersekretuar bronkopulmoner rahatsızlıklar
  - b) Sigara içenlerdeki kronik bronşitler.
- 3. Profilaktik olarak ve cerrahiden sonra solunum başarısının sağlanması amacıyla:
  - a) Bronkopnömoni
  - b) Pulmoner atalektaziler.

*In vitro* olarak sigara dumanının gaz fazına doğrudan maruziyetle indüklenen  $\alpha$ 1-antitripsin hasarına karşı erdosteine koruyucudur (48). Bronşiyal sekresyonlar akut ve kronik solunum yolu enfeksiyonlarında hem hastalığın seyrinde hem de tedavinin etkinliğinde çok önemlidir. Bazı araştırmacılar bu sekresyonların miktar ve kıvamını etkileyebilecek ajanların tedaviye eklenmesiyle tedavi süresi ve etkinliğinin değiştirilebileceğini öne sürerek birtakım preparatları denemişler ve erdosteinin oral olarak alınımından sonra etkin olduğunu bulmuşlardır (53).

Akut ve alevli kronik bronkopnömatili hastalarda ambroksol ve erdosteinin etkinliği araştırılmış, ölçülen parametrelerdeki klinik ve istatistiksel değişimler göz önüne alınarak her iki ajanın da tolerabilitesinde doyurucu olduğu sonucuna varılmış ve erdosteinin belirgin bir terapötik aktivitesine rastlanmıştır (54).

Şiddetli karaciğer ve böbrek yetmezliklerinde günlük doz yarı yarıya düşürülmektedir. Preklinik çalışmalarda her ne kadar embriyofetal oluşumlar üzerine toksik, teratojenik ve mutajenik etkileri gösterilmemiş ise de yeni bir ajan olarak erdosteine, hamilelik esnasında ve doğumdan hemen sonra ve ayrıca süt emzirme döneminde ve iki yaşın altındaki çocuklarda kullanılmamaktadır.

Erdosteinin yan etkilerinin çok az olduğu gösterilmiştir. Ayrıca birden çok tedavi protokollerinden sonra vücutta birikim ve metabolik aktivasyon gibi etkilere rastlanmamıştır (47). Alkali hidrozisini takiben erdosteine glutatyon ve askorbik asit gibi indirgeyici ajanlara benzer aktivite sergilemiştir.

Sıçanlarda oral olarak uygulanan erdosteine kısmi fakat önemli bir düzeyde sigaranın indüklediği AAT elastaz inhibitör kapasitesinin (EİK) azalmasına karşı koruyucu etki gösterir. 500-1000 mg/kg Erdosteine uygulanan sıçanların

bronkoalvoler sıvılarında EİK sırasıyla %27 ve %16,5 azalmış olarak bulunmuştur. Bunun kontrolü olan plasebo grubunda bu değer %44 olarak ölçülmüştür. Beş gün süresince günde bir defa oral yolla alınan erdosteinin farelerde paraquat toksisitesini önlediği tespit edilmiştir. Normalde bu madde ROS üretimine bağlı olarak ilerleyici ve geri dönüşümsüz solunum yetmezliği ile ölüme sebep olmaktadır. Erdosteine hem yaşam süresini uzatmakta hem de mortalite hızını azaltmaktadır (49). Başka bir çalışmada 200 ve 400 mg/kg dozunda oral olarak uygulanan erdosteinin S enantiomerinin doza bağımlı olarak fareleri paraquatın toksik etkilerinden koruduğu gösterilmiştir (50). Buna karşılık R-erdosteine, asetil sistein, glutatyon ve askorbik asit paraquatın bu etkilerine karşı herhangi bir koruyucu özellik göstermemektedir.

Erdosteine plazma proteinlerine bağlanmasını araştırmak için normal plazma örnekleri *in vitro* olarak erdosteine ile inkübe edilmiş ardından equilibrium diyalizine tabi tutulmuş ve sonuçta %64,5'unun proteinlere bağlı olduğu tespit edilmiştir. İdrarda hiçbir şekilde erdosteine kalıntısına rastlanmamış ve plazmada üç adet metaboliti tespit edilmiştir. Erdosteine uygulanmasından sonra idrarda inorganik sülfatlar artmış ancak multiple dozlardan sonra ileri artışlar tespit edilmemiştir. Çok az feçes örneklerinde erdosteine rastlanmış ancak metabolitine rastlanmamıştır. Ardışık dozlardan sonra bile erdosteine herhangi bir yan etkisine rastlanmamış ve tolere edilebilirliği çok iyi bulunmuştur (50,54).

#### 2.4. Sitokinler

Yirminci yüzyılın başlarında inflamasyonun kompleks etkileşimleri hakkında ilk bildirimler ve görüşler ortaya atılmıştır. 1920 yılında Alexis Carrel lökositlerin yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Sitokinlerin aktiviteleri ilk kez 1926'da Zinsler ve Tamiya tarafından tanımlanmış ve bunların lökositlerden salgılanan solubl ürünler oldukları, damar duvarı fonksiyonlarını etkiledikleri bildirilmiştir. 1930 yılında Rich ve Lewis makrofaj ve lökositin uygun antijenle stimüle edilmiş lenfoid hücre kültürlerinde inhibe edildiğini gösterdiler. 1966 yılında David, uygun şekilde duyarlı ve stimüle edilmiş lenfositlerden salgılanan bir faktörün makrofaj göçündeki bu inhibisyonun sorumlu olduğunu göstermiştir. 1979'da 2. Uluslararası çalışma grubu birçok sitokin sadece tek bir hücreden değil, birden fazla hücreden salgılandıklarını ve immün sistemin değişik hücreleri arasında kompleks etkileşim içinde bulduklarını vurguladı. Bu nedenle lökositlerden

salınan birçok sitokin interleokin olarak adlandırılmaya başlandı. Son 20 yılda yapılan çalışmalarda sitokinlerin immun sistem hücreleri dışında fibroblastlar, dendritik hücreler, parietal hücreler, osteoblast, düz kas hücreleri, hepatositler, çizgili kas ve sinir hücresi fonksiyonlarında da önemli düzenleyici görevler üstlendiği ortaya konmuştur (55).

Sitokinler, genelde otokrin ve parakrin özelliklere sahip olan küçük proteinler olarak tanımlanabilir. Günümüzde 200'un üzerinde insan sitokini tanımlanmıştır. Sitokinleri çalışmada karşılaşılan bir problem, moleküllerin nadiren tek başlarına salınmaları ve nadiren tek başlarına etki göstermeleridir. Bir sitokinin bir başkasının yapımı ve yanıtı üzerinde etkisi olabilir (56).

Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler (Tablo 2.2). Belli bir sitokin çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır fakat aynı biyolojik etkiyi gösterirler. Sitokinlerin etkileri sistemik veya lokaldir. Bazıları klasik hormon gibi davranırlar. Şöyle ki; belli hücreler tarafından kana veya çeşitli hücrel sıvılara salgılanıp vücudun diğer bölgelerindeki hücrel reseptörlerine bağlanırlar. Diğer sitokinler daha lokalize olmuş etkiler gösterirler. Bunlar otokrin (bir hücre tarafından salgılanan sitokinin aynı hücre üzerine etkisi) ve parakrin (belli bir hücre tarafından salgılanan sitokinin yakındaki komşu hücreye etkisi) etkilerdir (56).



**Tablo 2.2.** İmmunitede rolü olan sitokinler.

Özellikler	Doğal İmmünite	Adaptif İmmünite
Örnekler	TNF $\alpha$ , IL-1, IL-12, IFN $\gamma$	IL-2, IL-4, IL-5, IF $\gamma$
Ana Hücre Kaynağı	Makrofajlar, NK hücre	T lenfositler
Önemli Fizyolojik Kaynaklar	Doğal immünite ve inflamasyonun mediatörleri (lokal ve sistemik)	Adaptif İmmünite: Lenfosit büyüme ve farklılaşmasının düzenlenmesi, efektör hücrelerin aktivasyonu (makrofaj, eozinofiller, mast hücreleri)
Uyarılar	LPS (endotoksin), bakteriyel peptidoglikanlar, viral RNA, T-hücre türevi sitokinler (IFN $\gamma$ )	Protein antijenler
Üretilen Miktarlar	Yüksek olabilir, serumda ölçülebilir	Genellikle düşük, genelde serumda ölçülemez
Lokal veya Sistemik	Herikside	Genellikle yalnız lokal
Hastalıklarda Roller	Sistemik hastalıklar (örn. Septik şok)	Lokal doku hasarı (örn. Granülatöz inflamasyon)
Sentez İnhibitörleri	kortikosteroidler	Siklosporin, FK-506

Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve sınıflandırma sistemine göre yapılmıştır. Bu sınıflandırma sitokinler arasındaki fonksiyonel benzerliklere etki mekanizmalarına dayanmaktadır. Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır:

1. Doğal immünite mediatörleri olan sitokinler;
  - a) Tip 1 interferonlar
  - b) TNF (Tümör nekroz faktör)
  - c) İnterlökin-1 (IL-1)
  - d) İnterlökin-6 (IL-6)
  - e) Kemokinler
2. Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen sitokinler;
  - a) İnterlökin-2 (IL-2)
  - b) İnterlökin-4 (IL-4)
  - c) Transforming Growth faktör (TGF)

3. İnflamasyonda düzenleyici rol oynayan sitokinler;

- a) İnterferon-gama (IFN- $\gamma$ )
- b) Lenfotoksin (Notrofil aktivatörü)
- c) İnterlökin-12 (IL-12)
- d) İnterlökin-10 (IL-10)

4. Hematopoezi uyaran sitokinler;

- a) Stem cell faktor (SCF)
- b) İnterlokün-3 (IL-3)
- c) Monosit-makrofaj koloni stimüle eden faktor (M-CSF)
- d) Granülosit koloni stimüle eden faktör (G-CSF)
- e) İnterlökin-7 (IL-7)
- f) İnterlökin-9 (IL-9)
- g) İnterlökin-11 (IL-11) (57).

Sitokinler, hematopoitik sistemin de içinde bulunduğu, hedef hücrelerin aktivitelerini değiştiren veya düzenleyen protein ve/veya glikoprotein yapılı immünomodülatörlerdir. Sitokinler hedef hücrelerdeki kendilerine ait spesifik ligandlara bağlanarak etki ederler. Bağlanma ile başlayan sinyal transdüksiyonu ve ikinci haberci iletimi, gen aktivasyonu, mitotik bölünme, büyüme ve farklılaşma, migrasyon veya apoptozise neden olur (58).

Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolü, hematopoez ve bağışıklık sisteminin regülasyonu, yaraların iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücrel metabolizmanın değiştirilmesi gibi biyolojik olaylarda rol oynamaktadır. Sitokinler immün ve inflamatuvar cevabın etkin mekanizmalarının çoğuna katılırlar. IL-2 ve IFN gama gibi yardımcı T lenfosit T helper -1 grubundan salınan sitokinler hücrel immunitede, IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 gibi T helper-2 tip sitokinler humoral immün cevaplarda etkilidirler. Lenfokin, monokin, interlokün interferon olarakta adlandırılan sitokinlerin ortak karakteristik özellikleri (Tablo 2.2) (59,61):

1. Sitokinler doğal ve spesifik immunitenin efektör fazında yapılırlar.
2. Bir sitokin değişik tip hücreler tarafından yapılabilir.
3. Bir sitokin değişik tip hücreler üzerine etki gösterebilir.
4. Düşük moleküler ağırlıktadırlar.

5. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Bu etkilerin bazıları aynı anda, bazıları ise dakikalar saatler hatta günler sonra oluşabilir.
6. Birden fazla sitokin aynı etkiyi gösterebilir.
7. İki sitokin birbirlerinin etkisini ortadan kaldırabilir (antagonizm), arttırabilir (sinerji) hatta değişik bir etkiye yol açabilir.
8. Sitokin sentez ve sekresyonu kısa süreli olaylardır. Sentezleri genellikle yeni gen transkripsiyonu ile başlar, hücrede önceden yapılmış halde bekletilmezler.
9. Sitokinler hedef hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak etkilerini başlatırlar.
10. Belli bir biyolojik etkiyi sağlamak için gereken sitokin miktarı genellikle çok düşüktür.
11. İmmünite ve inflamasyon reaksiyonlarında vücut cevabının amplitüd ve süresini regüle ederler.
12. Daima geçici süre ile ve lokal olarak sentezlenirler.
13. Son derece potentirler.
14. İmmünite ve inflamasyon reaksiyonlarında vücut cevabının amplitüd ve süresini regüle ederler.
15. Daima geçici süre ile ve lokal olarak sentezlenirler.

Sitokinler hücre yüzeyinde yer alan spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterirler. Süpressör etkiler reseptör yapımını aşağı çekebilir. Reseptör moleküller membrana bağlı oldukları gibi serbest (soluble) halde bulunabilirler. Sitokin reseptörlerinin en önemli fonksiyonlarından biri extrasellüler bir sinyali spesifik bir sitokin varlığında intrasellüler bir sinyale dönüştürmektir. Reseptör moleküllerin ekspresyonu da sitokinlerin kontrolü altında bulunur. Sitokin moleküllerinin etkisini ortadan kaldırabilen veya azaltabilen 6 grup molekül vardır (61);

1. Reseptör antagonistleri: Bu moleküller reseptör moleküllerine bağlanarak sitokin etkisini bloke ederler.
2. Solubl sitokin reseptörleri: Solubl reseptörler genellikle sitokinleri serumda bağlayarak hücreye olan etkisini ortadan kaldırır.
3. Sitokin otoantikorları: Sitokinleri spesifik olarak nötralize ederler.

4. İnhibitor sitokinler: IL-10 ve IL-4'un tip 1 sitokinler için, IL-2 ve IFN- $\gamma$ 'nın tip 2 sitokinler için baskılayıcı etki gösterdikleri bilinmektedir.
5. Sitokin reseptörünün yokluğu: Bunun en tipik örneği IFN- $\gamma$  reseptörlerinin mutasyon sonucu silinmesiyle IFN- $\gamma$ 'nın makrofajları aktive etmesinin önlenmesidir.
6. İnhibitor proteinler: Bazı insan proteinleri de sitokinlere bağlanmak suretiyle onların biyolojik etkilerini azaltabilirler.

Santral sinir sistemi açısından sitokinler spesifik bir rol oynarlar ve aşağıda sayılan durumlarda özellikle önemlidirler. Bunlar (62).

1. Embriyonik gelişim,
2. Ateş, nöroendokrin aktivasyon, davranış ve affekt değişiklikleri,
3. Beyin ve omurilik travması,
4. Yabancı antijene karşı immün cevabın regüle edilmesi,
5. Hücrel ve humoral immünite ile inflamatuvar cevapların gelişimi olarak sıralanabilir.

#### **2.4.1. İnterlökinler**

##### **İnterlökin-10**

İnterlökin-10 insan immün yanıtında bulunan en önemli antiinflamatuvar sitokindir. Kromozom 1 üzerinde bir genden kodlanır. Primer olarak T lenfositleri, monositler, makrofajlar, B lenfositleri ve nötrofiller tarafından sentezlenen ve supressif bir sitokin olan IL-10 konakçının gram negatif sepsiste organ yetmezliği ve ölümden korunmasında kritik bir rol oynar. IL-10 koruyucu aktivitesini IL-1 beta, TNF alfa, IL-8, interferon gama, IL-6 ve prostaglandin metabolitleri gibi inflamasyon mediatorlerini inhibe ederek gösterir. IL -10 immün cevabın önemli bir regülatörüdür. IL-10 birçok sistemik hastalıkta ve inflamatuvar durumlarda dolaşımda ölçülebilir. Otoimmün, malign, enfeksiyöz hastalıkları disregüle ettiği düşünülen önemli bir sitokindir (63,64). İnterlökin-10 ilk kez fare helper T (tip 2) lenfositlerinden köken alan sitokin olarak tanımlanmış ve T helper-1 (TH1) hücrelerinde sitokin yapımını inhibe etmesi nedeniyle "Sitokin yapımını inhibe eden faktör" olarak isimlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar T helper-2 (TH2) ve CD 8 T lenfositlerinin, monosit/makrofajların, aktive olmuş B lenfositleri ile Epstein Barr

Virüsü tarafından transforme edilen B lenfositlerinin IL-10 üretim kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir (65,66).

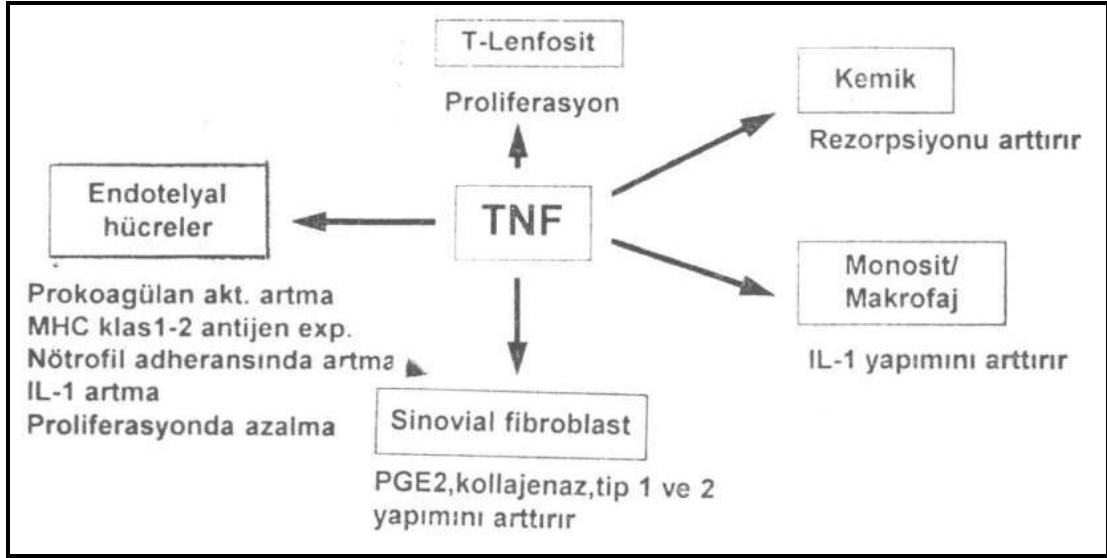
İnterlökin-10'un hematopoietik hücre dizileri üzerine multiple biyolojik etkileri vardır. İnsanlarda B lenfositleri için büyüme ve differansiye edici faktör olarak fare modellerinde T lenfositleri için büyüme faktörü olarak etki gösterir. Bu özellikleri dışında immunosupressif etkileri de belirlenmiştir. T helper-1 hücrelerinden IL-2 ve IFN-gamma yapımını, antijen spesifik T hücre aktivasyonunu bloke eder, ayrıca monosit ve makrofajlardan sitokin yapımını inhibe edebilir (65).

Çeşitli tümörlerde IL-10 seviyesi artmıştır. Bu nedenle T killer aktivitesi, MHC antijen sunumu, IL-12 üretimi ve IFN-gama üretimi azalmıştır, ayrıca tümör ilişkili antijen sunumu da azalmıştır. Yüksek IL-10 seviyesi kötü prognozla ilişkilendirilmiştir ve hızlı tümör büyümesine neden olduğu düşünülmektedir. Tümör hücrelerinde; T hücre yanıtsızlığı, T hücre anerjisi, tümör ile indüklenen immunosupresyonda yer almaktadır. IL-10'nun M.tuberculosis'e karşı konakçı direncini baskıladığı bildirilmiştir (67).

### **Tümör nekroz faktör- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )**

TNF-  $\alpha$ , endotoksin ile karşılaşmış makrofajlar tarafından meydana getirilen ve salınan potent bir biyolojik madde olup kaşektin olarak da bilinir (68). TNF- $\alpha$ 'nin bulunması, 1800'lerde Coley'in piyojenik bakteri ekstresi ile tedavi edilen hastalarda dramatik anti-tümör cevabın elde edildiğine dair tanımlamalar yapmasına kadar uzanmaktadır (69).

TNF- $\alpha$  ve IL-1, inflamatuvar eklem hastalığının patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülen birçok biyolojik aktiviteyi paylaşmaktadırlar (70). IL-1 gibi TNF'de in vitro olarak immün sistem üzerinde kuvvetli etkilere sahiptir. Bunlar arasında T-hücre proliferasyonunda, MHC klas 1 ve 2 ekspresyonunda artış ve diğer sitokinlerden IL-1, IL-2, IL-6 ve IL-8 sentezinin uyarılması sayılabilir (71). Romatoid artritli (RA)'li eklemlerde TNF'nin aşırı yapımının, IL-1 sentezine neden olduğu öne sürülmektedir. Yapılan birçok araştırmada RA'li hastaların sinovial sıvılarında yüksek seviyede TNF- $\alpha$  bulunduğu bildirilmiştir (72).



**Şekil 2.4.** TNF etkileri.

### **İnterlökin-6 (IL-6)**

İnsan IL-6'sı ilk kez, fitohemaglutinin veya antijen ile uyarılmış periferik mononükleer hücrelerin kültür süpernatantlarında B hücre farklılaşma faktörü olarak bulunmuştur. İnsan IL-6'sı saflaştırılmış ve 1986'da IL-6 DNA'sının aminoasit dizisi ortaya konmuştur. IL-1 beta, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler, proinflamatuvar sitokinler olarak bilinir ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasında, patojenin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtının ortaya çıkmasında rol alırlar. IL-6 değişik dokuların büyümesini ve farklılaşmasını düzenleyen, bir çok işlevi olan bir sitokindir. Hedef hücreye bağlı olarak büyümeyi uyaran, büyümeyi inhibe eden ve farklılaşmayı sağlayan etkinliğe sahiptir. Sistemik inflamatuvar yanıt sırasında ortaya çıkan akut faz reaktanları arasında interlökin-6, inflamatuvar olaylarda mononükleer fagositlerden mikrobik uyarılara direkt yanıt olarak ve tümör nekroz faktörü ile interlökin-1 üretiminin sonucunda salınan bir sitokindir. Travma nedeniyle yoğun bakım desteğine gereksinim duyan hastalarda ateş, taşikardi, hiperventilasyon ve lökositoz gibi bulguların travmayamı, yoksa enfeksiyonamı bağlı olduğunu ortaya koyabilmek, antibiyotik kullanılacak hastaların ayırt edilebilmesi için son derece önemlidir. İnsan IL-6'sı ilk kez, fitohemaglutinin veya antijen ile uyarılmış periferik mononükleer hücrelerin kültür süpernatantlarında B hücre farklılaşma faktörü olarak bulunmuştur. 1985 yılında insan IL-6'sı saflaştırılmış ve 1986'da IL-6 DNA'sının aminoasit dizisi ortaya konmuştur.

IL-6'nın:

1. Dört  $\alpha$ -helikal uzun zincir içermektedir.
2. Lenfoid ve non-lenfoid birçok hücre tipi tarafından üretilen pleiotropik bir sitokindir.
3. T ve B hücre fonksiyonlarının ayarlanması, Ig sekresyonu
4. Akut faz inflamasyon reaksiyonları
5. Hematopoez gibi birçok biyolojik etkisi vardır.

IL-6 ve reseptörü kromozomal yerleşimi 7p21-14 (IL-6) genleriyle kodlanmaktadır. IL-6; T ve B lenfositleri, monositler/makrofajlar, fibroblastlar, endotelial hücreler, epitelyal hücreler, mast hücreleri, nöronal hücreler, astrositler, mikrogliya, mezengial hücreler, osteoblastlar, epidermal langerhans hücreleri dentritik hücreler ve keratinositler gibi çok geniş bir hücre grubu tarafından üretilmektedir (62,67).

Endotoksinler, IL-1 ve TNF- $\alpha$  IL-6 sekresyonunu başlatırlar. Tip 3 Grup B Streptokok'un komponentleri IL-6 düzeyini güçlü bir şekilde artırırlar ve G grup B Streptokok enfeksiyonu süresince doku inflamasyonunun gelişmesinde önemli rol oynayabilmektedirler. Komplemanı aktive eden kompleman 5a'nın periferik kan mononükleer hücreleri tarafından sentezlenen IL-6'yı arttırdığı gösterilmiştir. Bu, gram negatif bakteriyemide IL-6 sentezinin düzenlenmesinde önemlidir çünkü lipopolisakkaridin IL-6 salınımını uyardığı bilinmektedir (67,75). Biyolojik fonksiyonları IL-6, B hücrelerinin farklılaşmasında ve Ig sentezinin uyarılmasında etkilidir. IL-6'nın akut faz cevap sırasındaki etkileri IL-1 ve TNF gibi birkaç diğer sitokin ile sinerjik aktiviteyi içermektedir. IL-6, T hücrelerinin ve timositlerin kostimülatörüdür. T lenfositlerin farklılaştırıcı faktörü ve erken kemik iliği hematopoetik stem hücrelerinin gelişimi için bir kofaktördür. IL-10 üretimi, insan T hücreleri içinde IL-6 ve IL-12 tarafından arttırılmaktadır. IL-6, lenfositlerin yapışmasını arttırmak için endotelial hücreler üzerine etki göstermektedir. Ayrıca bu sitokinin kemotaksis inhibitör etkiye sahip olduğu da ortaya çıkarılmıştır (67). Dentritik hücrelerin ve epidermal langerhans hücrelerinin IL-6'nın önemli bir kaynağı olduğunu gösteren çalışmalar kutanöz immuninflatuar cevapların oluşumunu açıklamaktadır. IL-1 ve TNF ile ortak olarak, IL-6; ateşi oluşturan bir endojen pirojen olarak önemli rol oynar. Gram negatif bakteriyel enfeksiyon ve

inflamatuvar reaksiyonlardan sonra sirkülasyondaki seviyeleri artmış bulunmuştur. Son çalışmalar IL-6'nın ölümcül infeksiyonlara karşı koruyucu olduğunu göstermektedir ve bu etkiye de kısmen de olsa nötrofillerin aracılık ettiği öne sürülmektedir. Bu koşullarda IL-6 kanda kolaylıkla ölçülebilen sitokinlerden biridir (75).

IL-6, akut faz cevabın asıl oluşturucusudur ki bunu C-reaktif protein, kompleman bileşenleri, orosomukoid, haptoglobin, fibrinojen, proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinleri sentez etmek için hepatositleri aktive ederek sağlar. C-reaktif protein (CRP) infeksiyon, inflamasyon, malignensi ve otoimmün hastalıklar gibi birçok durumda serum seviyesi yükselen bir akut faz proteindir. Karaciğerde interlökin-6'nın kontrolü altında sentezlenir. Diabetes mellitusun akut faz yanıt ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Tip 2 diyabette sialik asid,  $\alpha$ -1 asid glikoprotein, CRP, serum amyloid A gibi akut faz reaktanlarının ve mediator sitokin IL -6'nın artmış olduğu gösterilmiştir (76,77).

IL-6'nın başlıca işlevleri arasında, B hücrelerinin farklılaşması (immunglobulin salınımı), değişik B hücrelerinde büyümeyi uyarma, hepatik akut faz yanıtına yol açma, makrofajlar ve T hücrelerinin etkinleşmesi ve farklılaşması ile nöronal farklılaşma sayılabilir. Sitokinler arası zengin iletişim (sitokin ağı) IL-6 üretimini düzenler (67). IL-1'in uyardığı insan astroglial hücrelerinden TNF- $\alpha$ , koloni stimulan faktör ve IL-6 üretimi gösterilmiştir (75). Farelerde IL-1'in serebrovasküler enjeksiyonu sonucu serbest lenfositlerin uyardığı natural killer (NK) sayısında azalma ve IL-6 salınımında artma olduğu gösterilmiştir (75,76).

### ***Biyolojik fonksiyonları***

IL-6, B hücrelerinin farklılaşmasında ve Ig sentezinin uyarılmasında etkilidir. IL-6, akut faz cevabın asıl oluşturucusudur ki bunu CRP, kompleman bileşenleri, orosomukoid, haptoglobin, fibrinojen, proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinleri sentez etmek için hepatositleri aktive ederek sağlar. Akut faz cevap sırasındaki etkileri IL-1 ve TNF gibi birkaç diğer sitokin ile sinerjik aktiviteyi içermektedir. IL-6, T hücrelerinin ve timositlerin kostimülatörüdür. T lenfositlerin farklılaştırıcı faktörü ve erken kemik iliği hematopoetik stem hücrelerinin gelişimi için bir kofaktördür. IL-10 üretimi, insan T hücreleri içinde IL-6 ve IL-12 tarafından arttırılmaktadır.



IL-6, NK hücre aktivitesini de arttırmaktadır. IL-6, nötrofil, monosit, eosinofil ve megakaryositlerin proliferasyonunun desteklenmesi için IL-3 ile birlikte çalışmaktadır.

IL-6, lenfositlerin yapışmasını arttırmak için endotel hücreler üzerine etki göstermektedir. Ayrıca bu sitokinin kemotaksis inhibitör etkiye sahip olduğu da ortaya çıkarılmıştır. Dendritik hücrelerin ve epidermal langerhans hücrelerinin IL-6'nın önemli bir kaynağı olduğunu gösteren çalışmalar kutanöz immüninflatuar cevapların oluşumunu açıklamaktadır. Yaralanmadan sonra IL-6 genleri ve LIF 'in ekspresyonunda çok hızlı bir cevabın oluşması bu sitokinlerin travma faktörleri olarak etkili olduklarını göstermiştir. IL-1 ve TNF ile ortak olarak, IL-6; ateşi oluşturan bir endojen pirojen olarak önemli rol oynar. Gram negatif bakteriyel infeksiyon ve inflammatuar reaksiyonlardan sonra sirkülasyondaki seviyeleri artmış bulunmuştur.

Son çalışmalar IL-6'nın ölümcül infeksiyonlara karşı koruyucu olduğunu göstermektedir ve bu etkiye de kısmen de olsa nötrofillerin aracılık ettiği öne sürülmektedir. Bu koşullarda IL-6 kanda kolaylıkla ölçülebilen sitokinlerden biridir. IL-6'nın bir çok hücre tipi için otokrin büyüme faktörü olmasından dolayı fazla üretimi plasmositom, multiple myeloma, uterin serviks karsinomu ve kaposi sarkoma gibi bazı malignensiler ile ilişkilendirilmiştir (75-77).

#### **Granülosit-Monosit Koloni Stimüle Eden Faktör (GM-CSF):**

GM-CSF beyaz kan hücresi büyüme faktörü olarak fonksiyon gören bir sitokindir. GM-CSF granülosit (nötrofil, eozinofil ve bazofil) ve monosit üretmek için kök hücrelerini uyarır. Monositler dolaşım dışına çıkıp doku içine göç ederler, bunun üzerine olgun makrofajlarda göç ederler. Böylece immün / inflammatuar kaskatın bir parçası olarak az sayıdaki bir uyarıyla hızla sayıları artarak enfeksiyon/inflamasyonla mücadele için önemli reaksiyon artışa yol açmış olur. Bu proteinin aktif formu homodimer olarak ekstraselüler sıvıda bulunur (78).

### **2.5. Hayvan Modeli Olarak Sıçan**

Tıp alanında yapılan araştırmaların birçoğu deney hayvanlarının kullanımını gerektirmektedir. Deney hayvanları üzerinde yapılacak araştırma ve eğitim amaçlı deneysel çalışmaların haklı gerekçelerinin ortaya konulması, mutlaka bilimsel amaçlar ve ahlaki ilkeler esas alınarak düzenlenmesi ve yapılması; hayvan haklarının

korunması ve hayvanların insan kaynaklı mağduriyetlerinin önlenmesi açısından etik bir sorumluluk teşkil etmektedir. Araştırma ve eğitim amaçlı deney hayvanlarının yetiştirilmesi, bakımı, beslenmesi, nakilleri ve deneylerde kullanımlarının özel gerekliliklerinin bilinmesi, hayvanlara saygı duyulması ve evrensel etik ilkelere uyulması hem bireysel, hem de kurumsal bir sorumluluk olup, bilimsel ve ahlaki bir sağduyu gerektirmektedir.

Wistar Albino; Rodentia takımının Muridae familyasında yer alan beyaz tüylü kırmızı gözlü sıçan türüdür. Geniş kafa yapısı ve vücut uzunluğundan daha kısa olan kuyruk yapıları ile karakterize edilirler (Tablo 2.3). Tıbbi ve biyolojik bilim araştırmalarında önemli bir yere sahip olup model hayvan olarak sıkça kullanılır (79-81).

**Tablo 2.3.** Sıçanların biyofizik ve biyokimyasal ölçütleri (81).

Erişkin vücut ağırlığı: Dişi	300 g
Erişkin vücut ağırlığı: Erkek	200 g
Doğum ağırlığı	5-6 g
Vücut yüzey alanı 50 g için	230 cm <sup>2</sup> ; 130 g için 250 cm <sup>2</sup> ; 200 g için 325 cm <sup>2</sup>
Vücut sıcaklığı	35,9-37,5° C
Kromozom sayısı	42
Yaşam süresi	2,5-3,5 yıl
Gıda tüketimi	10 g / 100 g/gün
Su tüketimi	10-12 mL/100 g/gün
Seksüel olgunluk: Dişi	65-110 gün (13 hafta)
Seksüel olgunluk: Erkek	65-110 gün (13 hafta)
Gebelik süresi	21-23 gün
Yavru sayısı	6-12
Doğurganlık süresi	350-440 gün
Önerilen sıcaklık	18-24°C
Solunum hızı	70-115 / dak (ort. 85)
Kalp hızı	250-450 /dak
Kan basıncı	84-134 / 60 mmHg
Serum glikoz	50-135 g/dL

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### Deney Hayvanları

Bu çalışmada Hayvan Etik Komitesinden B302HAC0010005/24 nolu onay alındıktan sonra Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenen 09 D12 101 001 Numaralı proje başvurusu ile ağırlıkları 160-250 gram arasında değişen, 2 aylık erkek Wistar albino cinsi ratlar Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvan Laboratuvarları'ndan temin edilerek kullanıldı (n=48). Ratlar standart laboratuvar şartları olan  $23 \pm 2$  °C sabit oda sıcaklığında,  $60 \pm 5$  nem oranında ve 12 saat gece, 12 saat gündüz şartlarında, standart yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ve su ile deneye başlanmadan önce 1 hafta süre ile beslendi.

Hayvanlar rastgele her grupta 8 hayvan olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. Tüm gruplara ilaçlar kodlanmış enjektörler ile gavajla verildi.

1. Grup; kontrol (tedavi edilmeyen grup) 1 mL/kg serum fizyolojik (%0,9 NaCl) peroral tek doz
2. Grup; sadece erdostein verilen grup (150 mg/kg/gün peroral tek doz) (İlsan-İltaş İlaç firması, İstanbul)
3. Grup; sadece APAP verilen grup (1 g/kg peroral tek doz) (Atabay İlaç, Kadıköy, İstanbul)
4. Grup; hem APAP hem de erdostein verilen grup (150 mg/kg/gün peroral erdostein verildikten sonra 1 g/kg APAP peroral tek doz)
5. Grup; sadece NAC tek doz 1,2 g/kg peroral verilen grup (Hüsnü Arsan İlaç, Maslak, İstanbul)
6. Grup; hem APAP hem NAC verilen grup (1 g/kg APAP + 1,2 g/kg NAC peroral tek doz)

Gruplara ilaçlar verilmesinden 24 saat sonra tüm gruplardaki hayvanlara önce ketamine hydrochloride (75 mg/kg) ve xylazine hydrochloride (8 mg/kg) intraperitoneal yapılarak hareketsiz kalmaları sağlandı daha sonra masa üzerine tespitleri yapıldı (Resim 3.1).



**Resim 3.1.** Deney hayvanlarında anestezi sonrası tespit.

Batın ve göğüs duvarı açılarak dokular serbestleştirildi (Resim 3.2-3.3).



**Resim 3.2.** Deney hayvanlarında göğüs ve karın boşluğunun açılması.



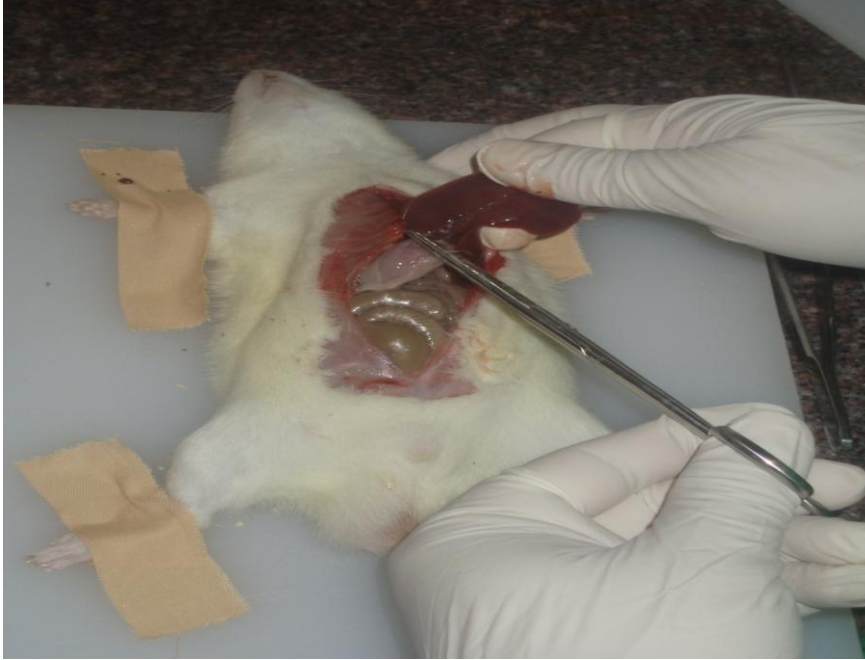
**Resim 3.3.** Deney hayvanlarında karaciğer eksizyonu için serbestleştirme.

Yeşil uçlu 5cc'lik enjektörle kalbin ventriküllerine girilerek dolaşımdaki kan ponksiyonla çekilerek deney hayvanı sakrifiye edildi (Resim 3.4).



**Resim 3.4.** Deney hayvanlarında intrakardiyak kan alınması.

Toplanan kan heparinize tüplere dolduruldu. Kan alım sonrası karaciğer hemen total olarak çıkarılarak (Resim 3.5) %10 formaldehit içeren plastik kaplar içinde fikse edildi.



**Resim 3.5.** Deney hayvanlarında karaciğer çıkartılması.

Parafin bloklardan kesitler hazırlandı ve hematoksilin eosin ile boyandı. Preparatlar konvansiyonel ışık mikroskobu (Lecia TP 1020) ile incelendi. Hayvanların hangi gruba ait olduğuna dair bilgisi olmayan patoloji uzmanı tarafından kör olarak değerlendirildi (Patoloji araştırması Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD da yapıldı). Parametreler; inflamasyon, sinüzoidal düzensizlik ve nekroz açısından 0(bulgu yok) - 3 arasında skorlandı. Her bir preparat için dört değişik bölge incelenerek her parametre ayrı ayrı değerlendirildi ve dört bölgenin ortalama skoru kaydedildi.

Asetaminofene bağlı meydana gelmiş olan patofizyolojik değişikliklerin antienflamatuar ve proinflamatuvar sitokinler olan IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , G-CSF üzerindeki rollerinin ölçümleri için Bio-Tek medikal firmasından (Mithatpaşa cad. No:11/2-6 06420 Kızılay/Ankara) Bendermed marka 96 Test'lik rat elisa kitleri alındı. İstenen parametreler özel bir biyokimya laboratuvarında (Ankalab Laboratuvarı:

Eşref Bitlis cad. Bergama sk. No:10/A Yenimahalle/Ankara) Elx 50 ve Elx 800 Bioreader cihazı ile orijinal kitleri kullanılarak manüel olarak çalışıldı.

### **İstatistiksel Yöntem:**

Verilerin istatistiksel analizi, SPSS 13,0 istatistiksel paket programında yapılmıştır. Verileri normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Simirnov testi ile incelenmiştir. Normal dağılmayan veriler için 6 grup karşılaştırmasında Kruskal-Wallis testi, ikili grup karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Normal dağılan parametrik verilerin 6 grup karşılaştırmasında ANOVA, ikili grup karşılaştırmasında t-testi kullanılmıştır. Kategorik verinin incelenmesinde Ki-kare testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi  $p<0.05$  olarak belirlenmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya 48 rat dâhil edildi. İzotonik verilen gruptan bir ratta (Grup 1) ve APAP+Erdosteine verilen gruptan bir ratta (Grup 4) gavaj esnasında ağızdan kanama oldu. N-Asetil sistein verilen bir rat (Grup 5) ile APAP+ N-Asetil sistein verilen bir ratta (Grup 6) ilaç verildikten iki saat sonra spontan exitus olduğundan bu dört rat çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmamızda karaciğer hasarının histopatolojik incelemesinde kontrol grubu (grup 1) ile APAP grubu (grup 3) arasında inflamasyon açısından anlamlı fark bulundu (Tablo 4.1) ( $p<0,05$ ).

**Tablo 4.1.** Histopatolojik inceleme sonuçları.

	<b>Grup1 (n=7)</b>	<b>Grup 2 (n=8)</b>	<b>Grup3 (n=8)</b>	<b>Grup4 (n=7)</b>	<b>Grup 5 (n=7)</b>	<b>Grup 6 (n=7)</b>	<b>p</b>
İnflamasyon	1 (1-1) *	1,5 (1-2)	2,0 (1-3)	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-2)	0.24
Nekroz	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-2)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-1)	0.184
Sinüzoidal Düzensizlik	0 (0-1)	0 (0-1)	1 (0-2)	0,5(0-1)	0 (0-2)	1 (0-2)	0.368

Verilen değerler ortanca (min-maks) değerlerdir.

\*Grup 1 ile Grup 3 inflamasyon açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. ( $p<0,05$ ).

Histopatolojik olarak incelendiğinde APAP (Grup 3) verilen grupta diğer gruplara kıyasla inflamasyon gelişimi olarak anlamlı bir yükseklik tespit edildi (Tablo 4.1).

Nekroz gelişimi açısından gruplar arasında anlamlı fark görülmedi. Sinüzoidal düzensizlik açısından bakıldığında APAP verilen grup (Grup 3) ve APAP+ N-Asetil sistein verilen grupta (Grup 6) diğer gruplara göre daha fazla düzensizlik tespit edildi fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. APAP+Erdosteine verilen grupta (Grup 4) hafif sinüzoidal düzensizlik tespit edildi istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşılmadı (Tablo 4.2).



**Tablo 4.2.** Sinüzoidal düzensizlik şiddeti açısından grupların karşılaştırılması

Sinüzoidal düzensizlik	Derecesi	Grup1 (n=7)	Grup 2 (n=8)	Grup3 (n=8)	Grup4 (n=7)	Grup 5 (n=7)	Grup 6 (n=7)
	0	1	2	2	1	1	1
	1	4	4	2	3	4	4
	2	2	2	3	3	1	1
	3	0	0	1	0	1	1

Gruplar inflamasyon yönüyle değerlendirildiğinde % 0,9 NaCl verilen grupta (Grup1) altı ratta birinci derece inflamasyon, erdostein (Grup 2) verilen gruptan üç ratta birinci derece, APAP verilen gruptan (Grup 3) iki ratta birinci derece, üç ratta ikinci derece ve bir ratta üçüncü derece inflamasyon görüldü. APAP+Erdostein verilen gruptan (Grup 4) dört ratta birinci derece, iki ratta ikinci derece inflamasyon tespit edildi. NAC (Grup5) verilen gruptan da dört ratta birinci derece iki ratta ikinci derece inflamasyon saptandı. APAP+NAC verilen gruptan (Grup 6) beş ratta birinci derece bir rattada ikinci derece nekroz tespit edildi (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** İnflamasyonun şiddeti açısından grupların karşılaştırılması

İnflamasyon	Derecesi	Grup1 (n=7)	Grup 2 (n=8)	Grup3 (n=8)	Grup4 (n=7)	Grup 5 (n=7)	Grup 6 (n=7)
Yok	0	1	5	2	1	1	1
Hafif	1	6	3	2	4	4	4
Sinüzoidal değişiklik	2	0	0	3	2	2	2
Nekroz	3	0	0	1	0	0	0

İnflamasyon şiddeti açısından (0=yok, 1=hafif inflamasyon, 2=sinüzoidal değişiklik, 3= nekroz) gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmamıştır (Resim 4.1.-4.2.) (p=0,414).

Nekroz yönüyle gruplar karşılaştırıldığında %0,9 NaCl verilen gruptan (Grup 1) Erdostein verilen gruptan (Grup 2), APAP+Erdostein verilen gruptan (Grup 4) ve NAC verilen gruptan (Grup 5) altı ratta birinci derece, nekroz tespit edildi. Ayrıca

APAP verilen gruptan (Grup 3) dört ratta birinci derece, bir ratta ikinci derece, bir ratta üçüncü derece nekroz tespit edildi (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4.** Nekroz şiddeti açısından grupların karşılaştırılması

Nekroz	Derecesi	Grup1 (n=7)	Grup 2 (n=8)	Grup3 (n=8)	Grup4 (n=7)	Grup 5 (n=7)	Grup 6 (n=7)
	0	1	2	2	1	1	1
	1	6	6	4	6	6	5
	2	0	0	1	0	0	1
	3	0	0	1	0	0	0

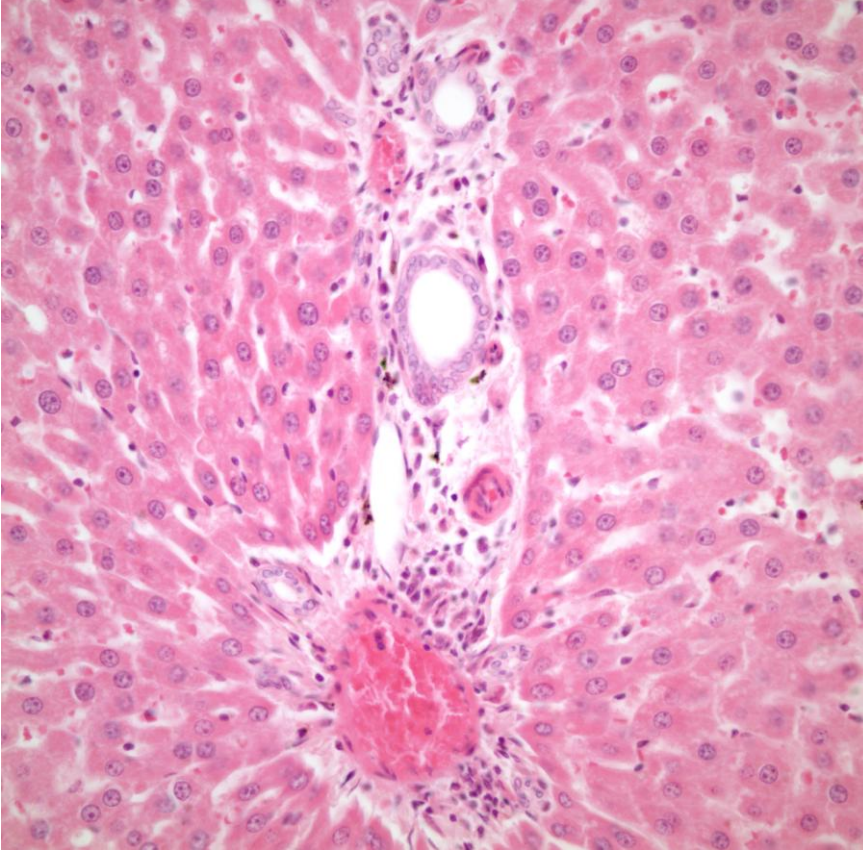
p=0,642

TNF- $\alpha$  düzeyi en fazla APAP+N-Asetil sistein (Grup 6) verilen grupta daha sonrada APAP+Erdostein (Grup 4) verilen grupta diğer gruplara göre daha yüksek seyrederken istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. GMCSF değeri APAP verilen grupta (Grup 3) en yüksek olup daha sonra APAP+N-Asetil sistein verilen grup (Grup 6) yüksek olarak tespit edildi. Fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. IL-6 değerleri incelendiğinde APAP+N-Asetil sistein verilen grup (Grup 6) değerleri diğer gruplardan iki kat daha yüksek değerde olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. IL-10 değerlerine bakıldığında APAP verilen grupta değerlerin diğer gruplardan beş kat daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Bu fark ve değerlere rağmen TNF- $\alpha$ , GM-CSF, IL-6 ve IL-10 düzeyleri arasında gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı (Resim 4.3.-4.4) (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5.** TNF- $\alpha$ , GM-CSF, IL-6 ve IL-10 düzeyi ortalamalar

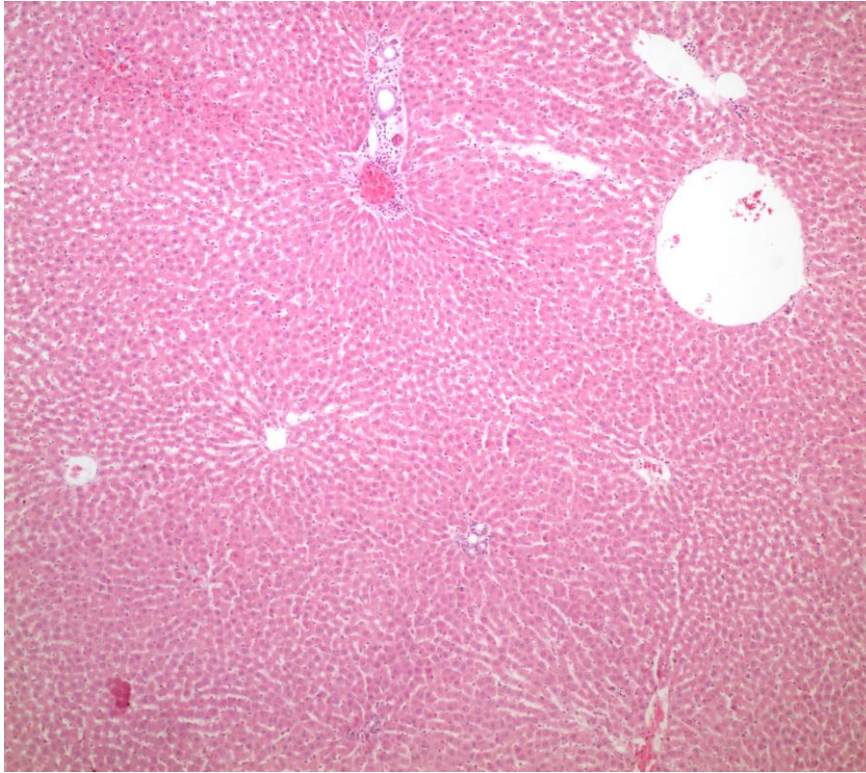
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	P
TNF- $\alpha$	49,4 ( $\pm$ 4,86)	49,2 ( $\pm$ 9,1)	50,4 ( $\pm$ 0,7)	51,0 ( $\pm$ 2,4)	49,5 ( $\pm$ 2,4)	51,8 ( $\pm$ 3,8)	0,559
GMCSF	36,4 ( $\pm$ 9,12)	33,5 ( $\pm$ 3,3)	59,1 ( $\pm$ 45,2)	37,5 ( $\pm$ 5,2)	39,3 ( $\pm$ 7,07)	52,1 ( $\pm$ 3,2)	0,702
IL-6	31,1 ( $\pm$ 7,1)	29,3 ( $\pm$ 0,6)	30,6 ( $\pm$ 1,8)	34,8 ( $\pm$ 5,5)	31,1 ( $\pm$ 1,9)	74,0 ( $\pm$ 8,9)	0,81
IL-10	17,0 ( $\pm$ 9,0)	10,3 ( $\pm$ 3,3)	124,8 $\pm$ 181,9)	12,7 ( $\pm$ 1,4)	10,3 ( $\pm$ 2,1)	27,4 ( $\pm$ 2,3)	0,216

Verilen değerler ortalama ( $\pm$ SD) değerlerdir



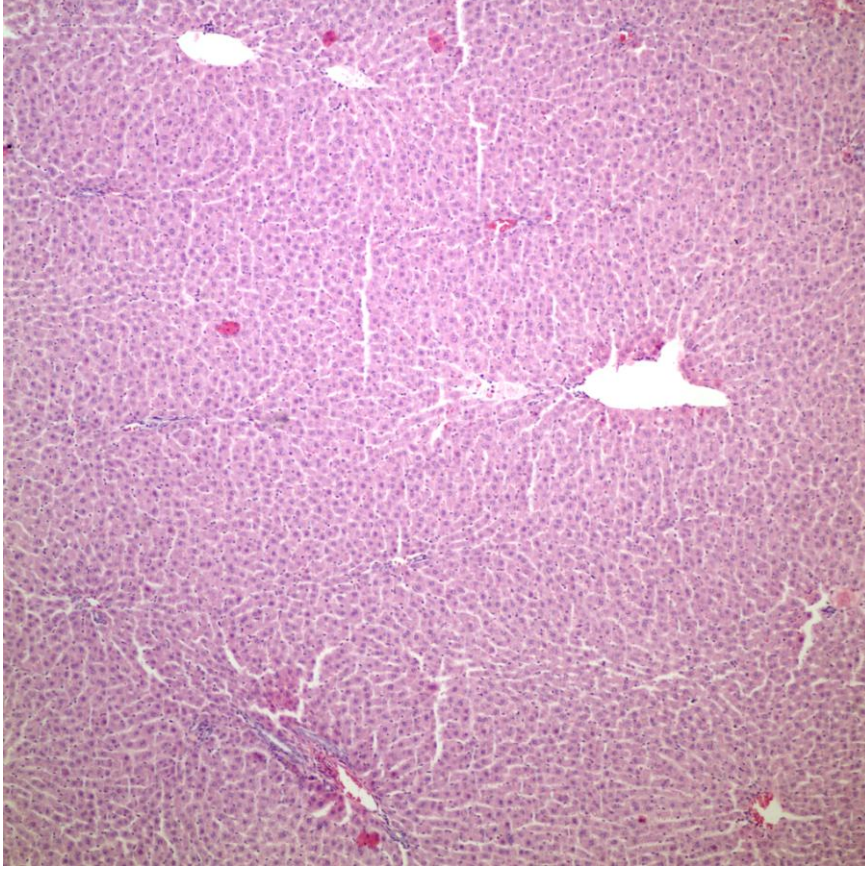
**Resim 4.1.** APAP+NAC verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen inflamasyonun mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x40).

Resimde portal alan izlenmektedir. Portal alanda mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu dikkati çekmektedir.



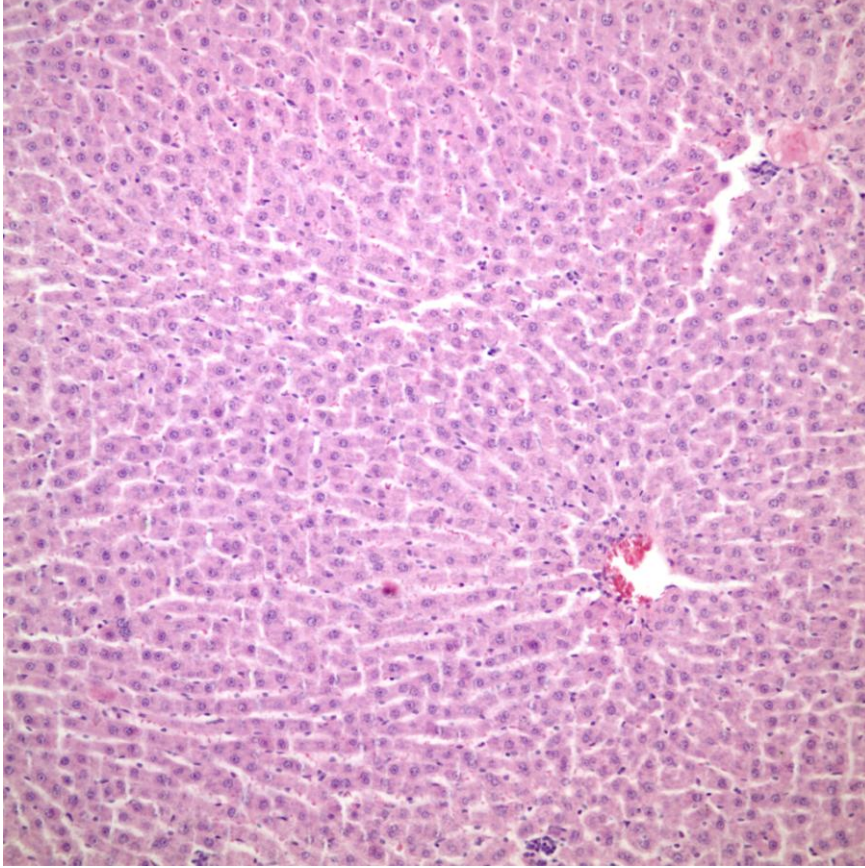
**Resim 4.2.** APAP+NAC verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen inflamasyonun mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x10).

Resimde portal alan, santral ven ve lobuler alanlar izlenmekte olup, her alanda mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu dikkati çekmektedir.



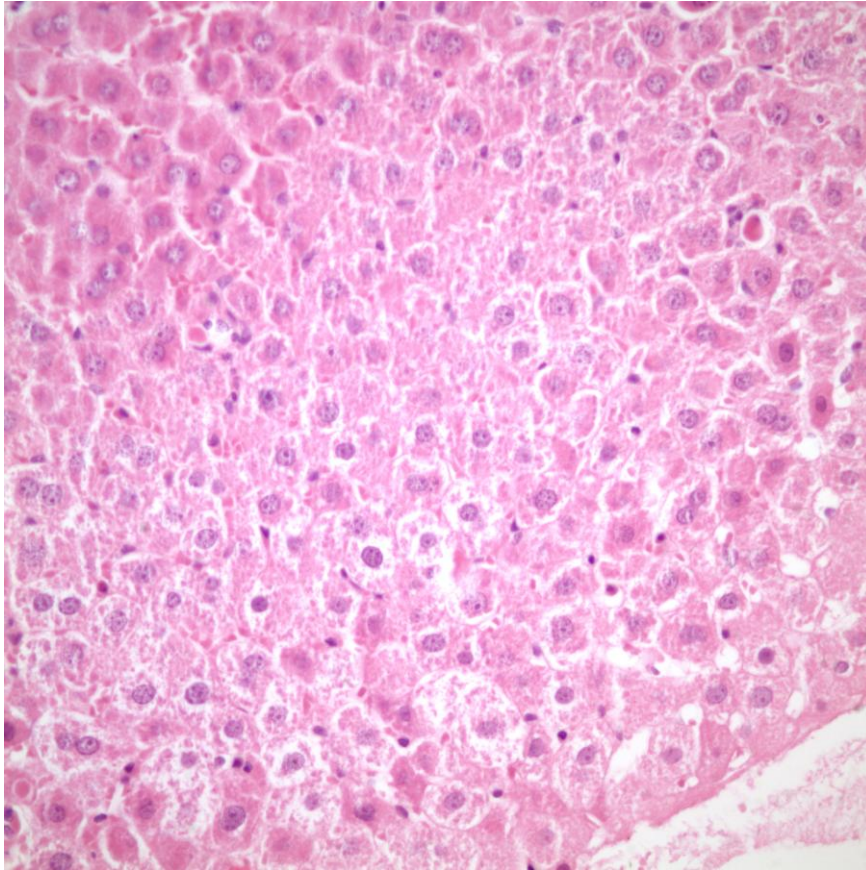
**Resim 4.3.** APAP+Erdostein verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen sinüzoidal düzensizliğin mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x10).

Resimde küçük büyütmede portal alan, santral ven ve lobuler alanlar izlenmekte olup hemen her alanlarda hafif derecede inflamasyon mevcuttur.



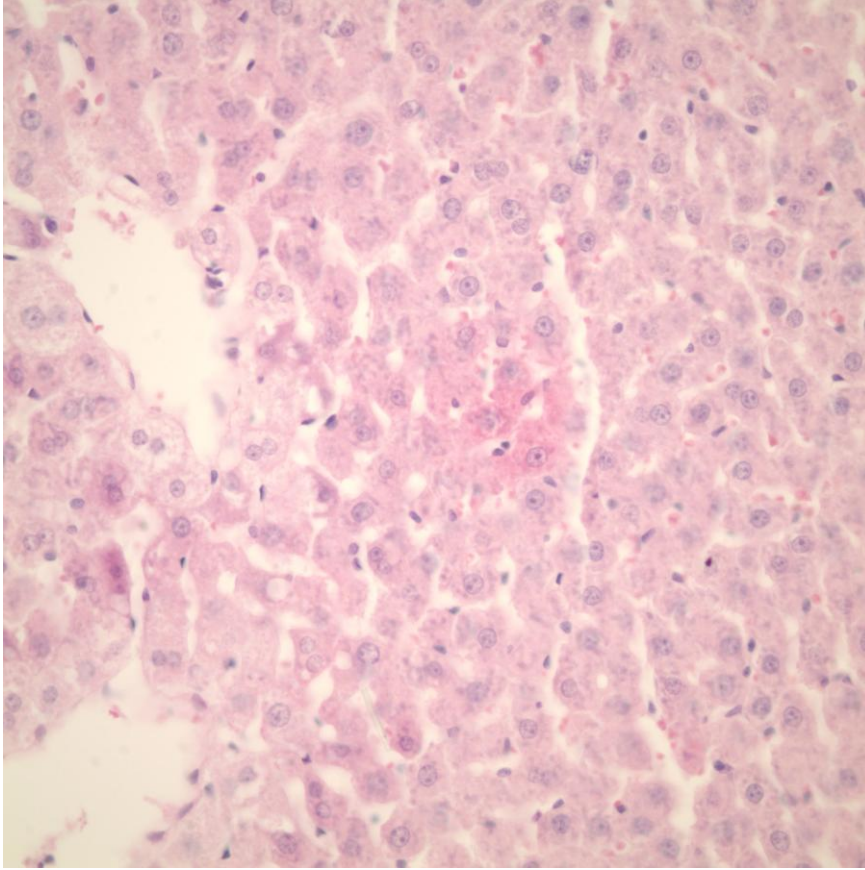
**Resim 4.4.** APAP verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen sinüzoidal düzensizliğin mikroskobik görüntüsü (hematoksilen-eosin x40).

Resimde daha büyük büyütmede intralobuler alanda hafif derecede inflamasyon mevcuttur.



**Resim 4.5.** APAP verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen nekrozun mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x40).

Resimde intralobuler dejenerasyon ve nekroz alanları izlenmektedir.



**Resim 4.6.** APAP+NAC verilen rat'ın karaciğer dokusunda meydana gelen nekrozun mikroskopik görüntüsü (hematoksilen-eosin x40).

Resimde lobuler alanda nekroinflamatuvar aktivite görülmektedir. Nekroza giden büyük pembe hücrelerin yerini lenfositler almaktadır.



## 5. TARTIŞMA

Karaciğer toksisitesi oluşturacak dozda APAP verdiğimiz sıçanlarda erdosteinin etkisini araştırdığımız bu tez çalışmasında karaciğerdeki histolojik değişiklikler, GM-CSF ve interlökin seviyeleri çalışıldı.

APAP verdiğimiz grup ile kontrol grubu arasında inflamasyon düzeyi açısından anlamlı farklılık tespit edildi. Bu sonuç karaciğer toksisitesi oluştuğunu göstermektedir. İnsanlarda oluşan hepatotoksisitede; akut APAP zehirlenme oluşmasından yaklaşık 12 saat sonra ALT ve AST düzeyleri artar ve doruk düzey 72-96 saat sonra oluşur. Aminotransferaz aktivitesi genellikle 10000 ünite'nin üstündedir (82).

APAP toksisitesi ile ilgili yapılmış çalışmalarda farklı hayvan modelleri kullanıldığı görülmektedir. Literatürdeki benzer çalışmaların bazılarında APAP intraperitoneal olarak uygulanırken (83,84), yine birçok çalışmada (85,86) oral olarak verilmiştir. Çalışmamızda APAP verilen gruptaki ratların karaciğerlerinin histolojik incelemesinde toksisiteyi gösteren inflamasyon tespit edildi. Yen ve ark. (87) çalışmasında intraperitoneal verilen 835 mg/kg APAP ile sentrilobuler hepatik nekroz, yağlı değişiklik, balon dejenerasyon ve lenfosit infiltrasyonu oluşmuştur. Kuvandık ve ark (86) yaptığı ve çalışmamıza benzer şekilde APAP toksisitesinde erdosteinin rolünü araştırdıkları çalışmada APAP verilen ratlarda belirgin sentrilobüler (zone 3) hepatik nekroz ve orta düzeyde sinüzoidal konjesyon olduğunu bildirmişlerdir. Bu farklılığa rağmen çalışmamızdaki APAP grubu örneklerinin histolojik incelemesinde inflamasyon görülmesi, hepatotoksisite için yeterli bulunmuştur. Hayvan modelleri incelendiğinde uygulamaların birbirine üstünlüğü görülmemektedir.

Çalışmalarda kullanılan APAP dozları değişkenlik göstermektedir. Yen ve ark. (86) çalışmasında 835 mg/kg dozunda intraperitoneal APAP kullanılmıştır. Wistar Albino ratların kullanıldığı bu çalışmada %40'lık PEG400'de çözdürülen APAP verildikten 24 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Yoshikawa ve ark. (85) 300 mg/kg ve 1000 mg/kg dozunda oral APAP kullanmışlar ve her iki doz uygulaması ile karaciğer toksisitesi oluşturmayı başarmışlardır. 344 erkek Fisher rat ile yapılan bu çalışmada %0,5'lik karbonmetilselülozda çözdürülen APAP

hayvanlara verildikten sonra 0, 1, 2, 3, 12 ve 24. saatlerde kan örnekleri alınmıştır. Çalışmamızda gavaj ile verilen APAP dozu 1000 mg/kg dir. Kullanılan APAP dozu ile histolojik olarak sadece inflamasyon oluşması, daha yüksek doz uygulamasının etkili olabileceğini düşündürmektedir. Literatür araştırıldığında 2000 mg/kg asetaminofen ile karaciğer toksisitesi oluşturulan çalışmalar bulunmaktadır (87). Bu durumda daha yüksek dozlarda APAP kullanıldığında histolojik olarak toksisitenin daha belirgin olabileceği öne sürülebilir.

Çalışmalar incelendiğinde APAP'ın çözdürüldüğü çözücünün, ilacın emiliminde ve etkisinin ortaya çıkmasında rolü olabileceği akla gelmektedir. Yen ve ark (87) çözücü olarak %40'luk PEG400, Yoshikawa ve ark. (85) %0,5'lik karbonmetil selüloz, Tran ve ark (88) tragakant, Kuvandık ve ark. (84) distile su kullanmışlardır. Çalışmamızda Kuvandık ve ark. benzer şekilde distile su kullanılmıştır. APAP'ın piyasada bulunan bir preparatını kullandığımız çalışmamızda, bu preparatı gavajla verilebilecek şekilde çözebilmek için 25-30°C sıcaklığında distile su kullandık. Çalışmamızda histolojik olarak ileri toksisite oluşabilmesi için farklı bir çözgen veya farklı sıcaklıkta distile suda çözülecek farklı bir preparat kullanılmasının bir seçenek olabileceği düşünülebilir.

Çalışmamızın sonucuna etki edebilecek bir diğer konu APAP uygulamasından hayvanların sakrifiye edilmesine kadar geçen süredir. Literatür incelendiğinde yapılan çalışmaların çoğunda sürenin çalışmamızdakine benzer şekilde 24 saat olduğu görülmektedir (83-86). Bununla birlikte daha uzun süre uygulanan Erdosteine veya NAC tedavilerinin etkinliği daha fazla olabilir.

Çalışmamızda inflamasyon düzeyi dışında gruplar arasında tüm parametreler (nekroz, sinüzoidal düzensizlik, interlökin düzeyi, GMCSF düzeyi) için anlamlı fark bulamadık. İlginç olarak asetaminofene bağlı karaciğer toksisitesinde antidot olarak kullanılan N-asetilsistein verilen grupta da erdosteine ve sadece APAP verilen gruplara benzer sonuçlar elde ettik. Çalışmamızda ratlara tek doz olarak 1.2g/kg NAC verilmiştir. Küçükardalı ve ark.(86) yaptığı çalışmada 140 mg/kg yükleme dozunu takiben, 7 doz 140 mg/kg NAC verilmiştir. Bu çalışmadaki toplam doz yaklaşık olarak çalışmamızda kullandığımız doza eşittir (1200mg/kg, 1120 mg/kg, sırayla). Bu çalışmada 2000mg/kg dozda APAP kullanılmış ve NAC grubunda hepatotoksisite için kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu

gösterilmiştir. Tran ve ark. (88) 1000 mg/kg APAP dozunu ikiye bölerek oluşturdukları hepatotoksisite modelinde, 100 mg/kg NAC tek doz olarak uygulamışlardır. Bu çalışmadaki göreceli olarak düşük NAC dozuna rağmen kontrol grubuna göre mortalite, histolojik ve biyokimyasal hepatotoksisite parametrelerinde anlamlı farklılık bildirilmiştir. NAC'ın dozu ve uygulama şeklinin diğer çalışmalardakine benzer olduğunu göz önüne aldığımızda, inflamasyon gelişen karaciğer dokusunda NAC'ın koruyucu etkinliğinin yeterli olmadığı söylenebilir. Bu sonuç geleneksel kabullere uymamakla birlikte Yang ve ark. (89) farelerde yaptıkları çalışmada APAP toksisitesinde NAC tedavisinin hepatik hücrelerde vakuolizasyonu artırdığı ve ileri karaciğer hasarına neden olduğu gösterilmiştir. Yine Nimmi ve ark. (90) çalışmasında NAC uygulamasının karaciğer hücrelerinin rejenerasyonunu azalttığı, APAP toksisitesi olan hücrelerde koruyucu etki oluşturmakla birlikte apoptozisi azaltmadığı vurgulanmaktadır. Bu çalışmada NAC'ın DNA transkripsiyonunu inhibe ederek bu etkilere neden olduğu öne sürülmektedir. APAP toksisitesi nedeniyle acil servise başvuran ve 21 saatten uzun süre NAC tedavisi uygulanan hastalarda yapılan bir çalışmada da, NAC'ın yeterli detoksifikasyon oluşturmadığı bildirilmiştir (91). Bu çalışmada yazarlar sağlık kuruluşuna ilk başvuru sırasındaki yüksek plazma APAP düzeyine (>200 mg/l), APAP formülasyonuna, plazma seviyesinin yüksek olarak devam etmesine bağlı olarak -NAC kullanımına rağmen- hepatotoksisite gelişebildiğini bildirmişlerdir. Tedaviye rağmen hepatotoksisite oluşabildiğinden, yazarlar NAC tedavisinin 21. saatinden sonra plazma APAP düzeyinin belirlenemeyecek kadar düşük olması ve ALT, AST düzeyinin normal olması durumunda, NAC tedavisinin kesilmesini önermişlerdir. Bu sonuçlar incelendiğinde, 21 saatlik NAC tedavisinden sonra, plazma APAP düzeyi düşmeyen ve transaminaz yüksekliği olan hastalarda NAC dozu ve infüzyon süresinin belirlenmesi için yeni çalışmaların yapılması gerektiği görülmektedir. NAC tedavisi ile ilgili bu ve veriler NAC grubumuzda elde ettiğimiz beklenmedik sonucu açıklayabilir.

Asetaminofene bağlı karaciğer toksisitesinin mekanizması karmaşık olayların birleşiminden oluşmaktadır. APAP'ın yaklaşık %4'ü sitokrom P-450 sistemindeki karışık fonksiyonlu oksidaz sistemi ile N-asetil-p-benzoquinonimine metabolize olur (85). Toksik olan bu ajan glutatyon ile konjugat oluşturur ve toksik olmayan sistein

ve merkaptürük asit bileşikleri ortaya çıkar. Hepatotoksisitedeki diğer bir alternatif mekanizma oksidatif strestir. Bu mekanizmadaki olaylar arasında APAP'ın glutatyon depolarını boşaltan ve proteinlere kovalent bağlanan reaktif metabolitine indirgenmesi, reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin artması ile glutatyon kaybının artması, kalsiyum hemostazındaki değişimlerle ilişkili oksidatif stresin artması, mitekondri permabilitesinin azalmasıyla birlikte ATP üretiminin azalması ve nekroz oluşması yer alır (91). Lipid peroksidasyonunun dokudaki göstergelerinden biri malondialdehid seviyesidir. APAP toksisitesindeki lipid peroksidasyonuna bağlı olarak doku MDA düzeyinin azaldığı gösterilmiştir. Yine süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzimlerin düzeyinde azalma olur. Doku hasarının önlenmesindeki önemli ajanlardan biri olan glutatyonun sülfidril grupları, APAP hepatotoksisitesinde elektrofilik ve çok reaktif bir metabolit olan NAPQI'ye bağlanarak, detoksifikasyon sağlar (86). Yüksek dozlarda sülfat depoları boşalır ve biriken NAPQI hepatositlerdeki diğer sülfidril grupları ile reaksiyona girerek reaktif oksijen türleri veya proinflamatuvar sitokinlerin birikmesine neden olarak, hepatotoksisiteyi ortaya çıkarır (93). Çalışmamızda proinflamatuvar ve inflamatuvar sitokin (TNF- $\alpha$ , GM-CSF, IL-6) düzeyleri tedavi gruplarında, kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı. IL-10 düzeyi APAP verilen grupta değerlerin diğer gruplardan beş kat daha yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark oluşmadı. Bu bulgular değerlendirildiğinde erdosteine ve NAC'ın benzer şekilde, anti-inflamatuvar süreçte yeterli etkinliğinin olmadığı söylenebilir. Çalışmamızın histolojik değerlendirme sonucu ile bu yorum desteklenmektedir. Bununla birlikte çalışmadaki hayvanların bazal interlökin seviyelerinin bilinmemesi, çalışma sırasında olası bir enfeksiyon, geçirilmiş travma, tümör vb. gibi interlökin seviyelerini etkileyecek durumları ekarte ettirememektedir. Bu durumda hayvanların bazal interlökin seviyelerinin yüksek olabileceği ve sonucu etkilemiş olabileceği öne sürülebilir.

Erdosteine iki tiyol grubuna sahip mukolitik ve ekspektoran bir ajan olup, KOAH, kronik bronşit, amfizem gibi havayolu hastalıklarının tedavisinde oral olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Erdosteinein karaciğerdeki katabolizmasını takiben aktif metabolitleri oluşur ve sülfidril grupları aracılığıyla serbest radikallerin yakalanmasını sağlar (94). Fadılıoğlu ve ark. (95) Erdosteinein lipid

peroksidasyonunu azalttığını ve doksorubisinin neden olduğu kardiyak toksisiteyi önlediğini göstermiştir. Bir diğer çalışmada ise erdosteinin rotenon aracılı hepatotoksisiteyi önlediği gösterilmiştir (96). Gül ve ark. (97) yaptıkları bir çalışmada deneysel sepsis modelinde erdosteinin glutasyon MDA ve serum TNF- $\alpha$  nın doku düzeylerine etkisini araştırmış gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulamamışlardır. Grupların akciğer karaciğer ve böbrek dokusunun histopatolojik inceleme sonuçları açısından da gruplar arasında fark bulamadıklarını ifade etmişlerdir. Bizde çalışmamızda erdostein grubu ile APAP grubu ve NAC grubu arasında fark belirleyemedik. 150 mg/kg oral doz diğer çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde yeterli olmakla birlikte, literatürde kullanılan daha yüksek dozlarda (300 mg/kg) (86) denendiğinde erdosteinin öngörülen anti-inflamatuvar, antioksidan etkilerine ulaşıyor olabilir. Erdostein uygulaması ile ilgili bir diğer konu -NAC uygulamasında olduğu gibi- tekrarlayan dozlarda uygulandığında farklı etki yapıp yapmayacağıdır. APAP aşırı alımlarında saatler içinde ALT, AST düzeylerinin yükseldiği göz önüne alındığında, tekrarlayan dozlarda erdostein uygulaması daha etkin sonuç sağlayabilecektir. Bu hipotezin yeni çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

Asetaminofen toksisitesinde inflamatuvar sitokinlerin düzeyi yükselmektedir (98). Blazka ve ark. (99) asetaminofen toksisitesi oluşturulan farelerde TNF- $\alpha$  ve IL-1 sentezinin arttığını ve bu sitokinlerin selektif olarak nötralize edilmesinden sonra toksisitenin kısmen azaldığını göstermişlerdir. Yine Bourdi ve ark. (100) TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$ 'nın asetaminofen toksisitesinde yükseldiğini göstermiştir. Bununla birlikte, Boess ve ark. (101) TNF- $\alpha$  gen mutasyonu oluşturulmuş farelerin toksisiteye karşı korunmadığını bildirmişlerdir. Kuo ve ark (102) in vitro çalışmalarında asetaminofen maruziyeti oluşturulan rat hepatositlerinde IL-1'in doz bağımlı olarak NO sentezini artırdığını göstermişlerdir.

James ve ark. (103) farelerde APAP toksisitesinde NAC'ın etkilerini araştırdıkları çalışmada, reaktif nitrojen oluşumu ile sitokin oluşumunu gözlemlemiş, APAP verilen farelerde, tedavinin 1. saatinde IL-1 düzeyinin, 4. saatinde IL-6 düzeyinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Reaktif nitrojen oluşumunun markırı olan nitrotirozinin ise 4. saatten sonra yükseldiğini bildirmişlerdir. Yine doku düzeyinde toksisitenin APAP alımı sonrası 12. saatte en fazla olduğu gösterilmiştir (103).

Çalışmamızda ise hayvanlar APAP verildikten sonraki 24. saatte sakrifiye edilmiştir. Bu durumda IL-1 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin anlamlı şekilde yüksek çıkmaması, çalışmamızdaki hayvanların geç sakrifiye edilmiş olmasına bağlı olduğu öne sürülebilir.

Akut inflamatuvar yanıtta önemli sitokinlerden biri olan IL-6'nın hepatosit tamirinde etkili olduğu gösterilmiştir. Karbon tetraklorür toksisitesi ve parsiyel hepatektomi modellerinde bu gösterilmiştir (104,105). James ve ark. (103) IL-6 düzeyi toksisitenin geç döneminde (4. saat) yükseldiği, NAC verilen grupta ise IL-6 düzeyinin yükselmediği bildirilmiştir. Bu sonuç IL-6'nın hepatosit rejenerasyonunda etkili olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda 24. saatin sonundaki NAC verilen grupta IL-6 düzeyleri diğer gruplardan yaklaşık iki kat yüksek bulunmuş fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. James ve ark. (103) çalışmasında 1, 2, 4, 12. saatlerde ölçüm yapılarak, farklı toksisite süre ve düzeylerinde interlökin düzeyleri tespit edilmiştir. Çalışmamızın farklı sonucu sadece 24. saatte interlökin düzeyi bakması ile açıklanabilir.

IL-10 temelde myeloid kökenli hücreler tarafından, daha az olarak da T ve B lenfositleri tarafından sürekli üretilir IL-10 düzenleyici bir işleve sahiptir ve bu düzenlemeyi İnterlökin 1 beta (IL-1P), tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), interferon gama (INF- $\gamma$ ), granülosit makrofaj-koloni stimüle eden faktör (GM-CSF) ve siklooksijenaz 2 (COX-2) gibi öncü inflamatuvar sitokinlerin salınışını kısıtlayarak yapar (100). Ayrıca IL-10 gen mutasyonu oluşturulan farelerde NO ve İNOS oluşumunun arttığı gösterilmiştir (100). Bu sonuç proinflamatuvar sitokinlerle oluşan toksisitede IL-10'un koruyucu etkisi olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda sadece APAP verilen grupta kontrol grubuna göre IL-10 düzeyinin 5 kat fazla olması bu tezi desteklemektedir.

APAP toksisitesinde NO sentezinin markırlarından olan nitrat ve nitritin serum düzeyleri yükselmektedir (106) Gardner ve ark.(107) ratlardaki APAP hepatotoksisitesi modelinde artan NO oluşumunun iNOS sentezinin artışının sonucu olduğunu göstermişlerdir. Kuo ve ark. (102) izole rat hepatositlerindeki artan NO sentezinin tek başına APAP'm etkisi olmadığını, hepatositlere IL-1 eklendiğinde ise NO sentezinin arttığını göstermişlerdir. IL-1 varlığında APAP -konsantrasyona bağlı olarak- NO sentezini artırmaktadır. Bu durumda NO oluşumunun IL-1 varlığına bağlı

olduğu söylenebilir. APAP'a bağlı hepatotoksisitede önemli bir mekanizma olan oksidatif stres için önemli molekül olan NO düzeyinin çalışmamızda araştırılmamış olması, çalışmamızın eksikliklerinden biridir.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları vardır. Bunlardan ilki; hayvan deneylerinde elde edilen sonuçların kliniğe uygulanmasındaki zorluktur. Bir diğer kısıtlılık gruplardaki hayvan sayısının az oluşudur. Gruplardaki hayvan sayılarının belirlenmesinde hayvan araştırmaları etik kurulunun izin verdiği sayı göz önünde bulundurulmuştur. Bu sayı artırıldığı takdirde çalışmanın gücü de artabilecektir. Üçüncü bir kısıtlılık çalışmada kullanılan hayvanların aynı aileden olmama olasılığıdır. Fenotip olarak aynı olmakla birlikte farklı genotipte ratlarla çalışmanın yapılabilmış olması sonuçlar üzerinde etkili olmuş olabilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Erdosteinin APAP'a bağlı hepatotoksisitedeki etkinliğini araştırdığımız ve NAC ile karşılaştırdığımız; literatürde ilk olan çalışmamızda, histolojik olarak ve proinflatuar, inflamatuar sitokin düzeyleri açısından erdosteinin NAC'a üstünlüğü tespit edilememiştir. APAP toksisitesinde antidot olarak kullanılan NAC'ın da histolojik ve kimyasal olarak etkinliği anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçların daha fazla hayvanla, farklı doz ve tedavi süreleri ile yapılacak yeni çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda her ne kadar pozitif bir sonuç oluşmamışsa da deney koşullarında yapılacak dikkatli değişikliklerle birlikte daha ilginç sonuçlar ortaya çıkabilecektir. Erdosteinin kimyasal yapısı ve klinik endikasyonları ile hepatotoksisitenin antiinflamatuar ve antioksidan mekanizmaları incelendiğinde, çalışmamızda araştırdığımız hipotezin daha geniş ölçekli çalışmalarla incelenmesi gerekmektedir. Özellikle hepatotoksisitedeki apoptozis ve sinyal mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasıyla birlikte, klinikte sık karşılaşılan APAP toksisitesinin tedavisinde daha somut ilerlemelerin sağlanabileceğine inanmaktayız.



## 7. KAYNAKLAR

1. Pinar A, Fowler J, Bond GR. Acute poisoning in Izmir, Turkey a pilot epidemiologic study. *J Toxicol Clin Toxicol* 1993;31:593-601.
2. Ozkose Z, Ayoglu F. Etiological and demographical characteristics of acute adult poisoning in Ankara, Turkey. *Hum Exp Toxicol* 1999;18:614-618.
3. Akköse Ş, Fedakar R, Bulut M, Çebiçi H. Zehirlenme Olgularının Beş Yıllık Analizi. *Acil Tıp Dergisi* 2003;1:5-7.
4. Debus AG. Paracelsus and the Medikal Revolution of the Renaissance a 500th Anniversary Celebration, U.S. National Library of Medicine, 1998 Apr 27, 8600 Rockville Pike, 6 Bethesda, MD 20894. (Ziyaret tarihi:31 Mart 2007).
5. Subrosa contributors (2003): [www.subrosa.com.tr/internet/alcimizm/alcimizm.htm-37k.Paracelsus\(I\)](http://www.subrosa.com.tr/internet/alcimizm/alcimizm.htm-37k.Paracelsus(I)). (Ziyaret tarihi:1 Mart 2007), 2003.
6. Şahin İ, Onbaşı K, Eminov L, Gökdeniz E, Üstün Y. Acil servise başvuran zehirlenme olgularımızın geriye dönük olarak değerlendirilmesi. *MN Klinik Bilimler ve Doktor* 2003;9:17-21.
7. Wikipedia contributors. "Paracelsus" Wikipedia, Ozgur Ansiklopedi, <http://tr.wikipedia.org/w/index.php?title=Paracelsus&oldid=1218484> (Ziyaret tarihi: 26 Mart (2007), 2007.
8. Atilla R, Oktay C. Klinik Toksikolojinin Dünya'daki Durumu. Türk Farmakoloji Derneği. 1. Klinik Toksikoloji Sempozyumu, "Klinik Toksikoloji Nedir?". İzmir, Program Özet Kitabı 2005;9-11.
9. Dokmeci İ. Toksikoloji. Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, 4. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul 2005; 975-420-432-2. s. 2-14; 37-41; 50-74; 170-172; 317-318.
10. Timbrell JA. Introduction to Toxicology. London. Taylor & Francis 2001;1-5.
11. Arieff AI, Kronlund BA. Fatal Child Abuse by Forced Water Intoxication. *Pediatrics* 1998;103:1292-1295.

12. Arslanköylü AE, Hallıoğlu O, Okuyaz C, Kuyucu S, Yılgör E. Çocukluk Çağı Zehirlenmeleri. İki Yıllık Retrospektif İzlem. MEU Tıp Fak Dergisi 2005;6(2):119-124.
13. Lai MW, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Abrams JY, Deborah BA, Haber AB, Bronstein AC, Wruk KM. Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poisoning and Exposure Database. Clinical Toxicology 2006;44:803-932.
14. Biçer S, Sezer S, Çetindađ F, Kesikminare M, Tombulca N, Aydođan G, Aldemir H. Acil Çocuk Kliniđi 2005 Yılı Akut Zehirlenme Olguların Değerlendirilmesi. Marmara Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dergisi (Marmara Medical Journal) 2007;20(1):7-14.
15. Öner N, İnan M, Vatansever U, Turan C, Çeltik C, Küçükuğurluoğlu Y, Duran R, Karasalihoğlu S. Trakya Bölgesinde Çocuklarda Görülen Zehirlenmeler. Türk Pediatri Arşivi 2004;39:25-30.
16. T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü. Birinci Basamağa Yönelik Zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri. Saha Uygulaması Çalışması 2006;1-22;69-73.
17. Atilla R, Oktay C. Klinik Toksikolojinin Dünya'daki Durumu. Türk Farmakoloji Derneği, 1. Klinik Toksikoloji Sempozyumu, "Klinik Toksikoloji Nedir?". İzmir, Program Özet Kitabı 2005;9-11.
18. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Parasetamol> sitesinden 10.09.2007 tarihinde saat 22:20 itibariyle yapılan taramadan elde edilen sonuç
19. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. şti. Ankara 2005;125-129; 848-850.
20. T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü. Birinci Basamağa Yönelik Zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri. Saha Uygulaması Çalışması 2006;1-22;69-73.
21. Christophersen AB, Levin D, Hoegberg LC, Angelo HR, Kampmann JP. Activated charcoal alone or after gastric lavage: a simulated large paracetamol intoxication. Br J Clin Pharmacol 2002;53(3):312-317.

22. Lynch RM, Robertson R. Activated charcoal: the untold story. *Accident and Emergency Nursing* 2003;11:63-67.
23. Dokmenci İ. *Farmakoloji Temel Kavramlar*. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, 2000;153-159,406.
24. Spiller HA, Winter ML, Klein-Schwartz W, Bangh SA. Efficacy of activated charcoal administered more than four hours after acetaminophen overdose. *Am J Emerg Med* 2006;30(1):1-5.
25. Zed PJ, Krenzelok EP. Treatment of Asetaminophen Overdose. *American Journal Health Syst Pharm* 1999;56(11):1081-1093.
26. Dworkin PD. *NMS Pediatri*. 3. Baskı Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 2000; 53
27. Boutaud O, Aronoff DM, Richardson JH, Marnet LJ, Oates JA. Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostoglandin H2 synthases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:7130-7135.
28. Swierkosz TA, Jordan L, McBride M, McGough K, Devlin J, Botting RM. Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of mouse and rabbit. *Med Sci Monit* 2002;8:496-497.
29. Pina LA, Sandrini M, Vitale G, et al. The antinociceptive action of paracetamol is associated with changes in the serotonergic system in the rat brain. *Eur J Pharmacol* 1996;308:31.
30. Clissold SP, et al. Paracetamol and phenacetin. *Drugs* 1986;4:46.
31. Eroğlu L. *Periferik analjezikler*, Editör: Erdine S., Ağrı. 2.baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri 2002;490-91-92.
32. Devecioğlu O, Öneş U, Unuvar E. *Pediatride Rutinler*, İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti. 34.104. Çapa İst. Türkiye, ISBN 975-6395-30-3, ikinci baskı 2006;84.
33. Micromedex. *Healthcare Series. Drugdex Drug Evaluations* 2004;1-138.
34. Ward RM, Bates BA, Benitz WE, Burchfield DJ, Ring JC, Walls RP, Walson PD. Acetaminophen Toxicity in Children. *Pediatrics* 2001;108:1020-1024.

35. Larsen LC, Cummings DM. Oral Poisonings: Guidelines for Initial Evaluation and Treatment. *American Family Physician* 1998;57(1):85-92.
36. Krenzelok EP. Summary of Amerikan Akademy of Clinical Toxicology and European Association of Poison Centres and Clinical Toxicologists Position: Statements on Gut Decontamination. *Medical Update for Psychiatrists* 1997;187-195.
37. Aydın Ş, Koksall O, Fedakar R, Emircan Ş, Durmuş O. 1996-2004 Yılları Arasındaki Erişkin Zehirlenmeleri. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2006;32(1):25-27.
38. Cam H, Kıray E, Taştan Y, Cerci Ozkan H. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Acil Servisinde izlenen zehirlenme olguları. *Türk Pediatri Arşivi* 2003;38(4):233-239.
39. Cotgreave IA. N-Acetylcysteine: pharmacological considerations and experimental and clinical applications. *Adv Pharmacol* 1997;38:205-27.
40. Van Surell C, Boczkowski J, Pasquier C, Du Y, Franzini E, Aubier M. Effects of Nacetylcysteine on diaphragmatic function and malondialdehyde content in Escherichia coli endotoxemic rats. *Am Rev Respir Dis* 1992;146(3):730-734.
41. Y. BP. Cellular deferences against damage from oxygen species physical rev: 1994;74:139-162.
42. Martinez- Coyula M. Oxygen free radikals and human disease. *Broch* 1995;77:147-161.
43. Anfossi G, Russo I, et al. N-acetyl L- systeine exerts direct antiaggregating effect on human platelets. *Eur J Clin Investigation* 2001;31:452-461.
44. Kahveci M, Çeltik C, Karasalihoğlu S, Acunaş B. Bir Üniversite Hastanesi Acil Servisine Başvuran Çocukluk Çağı Zehirlenmelerin Değerlendirilmesi. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2004;13(1):19-21.
45. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Beutler J. The antioksidan action of Nacetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide and hypochloric acid. *Free Radic Biol Med* 1989;6(6):593-597.

46. Zhang H, Spapen H, Nguyen DN, Benlabed M, Baurman WA, Vincent JL. Protective effects of N-acetyl-L-cysteine in endotoxemia. *Am J Physiol* 1994;266(5):1746-1754.
47. De Bernardi di VM. Pharmacokinetics of erdosteine in fasting and unfasting healthy volunteers after single and multiple oral treatments. *Medical Praxis* 1992;13:77-98.
48. Gazzani G, Fregnan GB, Vandoni G. In vitro protection by erdosteine against oxidative inactivation of alpha1-antitrypsin by cigarette smoke. *Respiration* 1989;55:113-118.
49. Kaise T, Hosoe H, Sano J, et al. Effects of KW-9144 on paracetamol toxicity in mice and bleomycin-induced pulmonary injury in rats. *Jpn J Pharmacol* 1993;61:81.
50. Inglesi M, Nicola M, Fregnan GB, Bradamante S, Pagani G. Synthesis and free radical scavenging properties of the enantiomers of erdosteine. *Farmaco* 1994;40:703-708.
51. Vagliasindi M, Fregnan GB. Erdosteine protection against cigarette smoking-induced functional antiprotease deficiency in human bronchiolo-alveolar structures. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1989;27:238-241.
52. Ciaccia A, Papi A, Tschirky B, Fregnan B. Protection of erdosteine on smoke-induced peripheral neutrophil dysfunction both in healthy and in bronchitic smokers. *Fundam Clin Pharmacol* 1992;6:375-382.
53. Scuri R, Giannetti P, Paesano A. Effect of erdosteine and its metabolites on tracheobronchial mucus production and transport. *Drugs Ext Clin Res* 1988;14:693-698.
54. Fumagalli G, Balzarotti C, Banfi P, Ferrante Decò L, Zennaro M. Erdosteine: A new molecule with mucolytic activity. Clinical and instrumental evaluation in patients with acute and exacerbated chronic bronchopneumopathies. *Italian J Chest Dis* 1988;42:299-308
55. Uzun O, Ünal S. Güncel Bilgiler Işığında Enfeksiyon Hastalıkları. *Bilimsel Tıp*, Ankara 2002;821-834.

56. Kuby J. Immunology. W.H. Freeman and Company, 1992;245.
57. Clemens MJ. Cytokines, Oxford, 1991 Bios Scientific Publishers Ltd., 57 -75.
58. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes and Immunity* 1999;1:3-19.
59. Beutler B, Cerami A. The Biology of cachectin/ TNF- $\alpha$  primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol* 1998;7:625-655.
60. Abraham RT. Lymphokines and cytokines. Mayo Medical School. Immunology course notes, 1992.
61. Balkwill FR, Burke F. The cytokines network. *Immunology Today* 1989;10(9):299-304.
62. Woodrofe MN, Cuzner ML. Cytokine mRNA expression in inflammatory MS lesions, detection by non-radioactive in situ hybridization. *Cytokine* 1993;5(6):583-588.
63. Weiss JM, Sundar SK, Becker KJ, Cierpial MA. Behavioral and neural influences on cellular immune responses: effects of stress and interleukin-1. *J Clin Psychiatry* 1989;50:43-53.
64. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. 2000;117:1162-1172.
65. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines: Basic and Clinical Immunology. Stites DP, Terr AI, Parslow TG (Eds). Appleton and Lange, Connecticut, California, Eight Edition, 1994; p:105-123.
66. Burdin N, Peronne C, Banchereau J, Rousset F. Epstein-Barr virus transformation induces B lymphocytes to produce human IL-10. *J Exp Med* 1993;177:295.
67. Licinio L, Kling M, Hauser P. Cytokines and brain function: relevance of interferon- $\alpha$  induced mood and cognitive changes. *Semin Oncol* 1998;25:30-38.
68. Suzuki N, Kansas G, Engleman EG. Lymphocytes. In: Arthritis and allied conditions. McCarty DJ, Koopman WJ (Eds). Lea and Febiger 1993; pp: 377-387.

69. Pike MC, Synderman R. Structure and function of monocytes and macrophages. In: Arthritis and allied conditions. McCarty DJ, Koopman WJ (Eds). Lea and Febiger 1993; pp: 347-375.
70. Lombard PR, Punzi L, Hasler F, et al. Soluble TNF receptor in human inflammatory synovial fluids. *Arthritis Rheum* 1993;36:485-489.
71. Duff GW. Cytokines and anticytokines. *Br J Rheumatol* 1993;32(supp):15-20.
72. Manicourt DH, Triki R, Fukuda K, et al. Levels of circulating TNF- $\alpha$  and IL-6 in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993;36:490-499.
73. Brennan FM, Maini RN, Feldman M. TNF- $\alpha$ . *Br J Rheumatol* 1992;31:293-298.
74. Brennan FM, Field M, Chu CQ, et al. Cytokine expression in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1991;30(supp):76-80.
75. Bethea JR, Chung IY, Sparacio SM, Gillespie GY, Beneveniste EN. Interleukin-1s induction of tumor necrosis factor- $\alpha$  gene expression in human astrogloma cells. *J Neuroimmunol* 1992;36:179-191.
76. Tweardy D, Mott P, Glazer E. Monokine modulation of human astroglial cell production of granulocyte colony -stimulating factor and granulocyte – macrophage colony stimulating factor I: effects of IL-1 $\alpha$  and IL-1s. *J Immunol* 1990;144:2233-2241.
77. Weiss JM, Sundar SK, Becker KJ, Cierpial MA. Behavioral and neural influences on cellular immune responses: effects of stress and interleukin-1. *J Clin Psychiatry* 1989;50:43-53.
78. Sieff CA: Haematopoetik Growth Factors .*J.Clin Invest.* 79: 1549-1557, 1987
79. İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Deneysel Hayvan Laboratuvarı: Deneysel Hayvanların Kullanım Kılavuzu, İstanbul, [www.istanbul.edu.tr](http://www.istanbul.edu.tr), İstanbul; 2007. (ziyaret tarihi: 1.11.2007)
80. Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Kurulu: Deneysel Hayvanların Kullanım Kılavuzu, [www.etikkurul.hacettepe.edu.tr](http://www.etikkurul.hacettepe.edu.tr), Ankara; 2007. (ziyaret tarihi 1.11.2007)

81. Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi: Deneysel Hayvanların Kullanım Kılavuzu, [www.cukurova.edu.tr](http://www.cukurova.edu.tr), Adana; 2007. (ziyaret tarihi 1.11.2007)
82. Zed PJ, Krenzelok EP. Treatment of Acetaminophen Overdose. *American Journal Health Syst Pharm* 1999;56(11):1081-1093.
83. Devi KP, Sreepriya M, Balakrishna K, Devakia T. Protective effect of *Premna tomentosa* (L. Verbenaceae) extract on membrane-bound phosphatases and inorganic cations transport in acetaminophen-induced hepatotoxicity rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2004;93:371-375.
84. Kim ST, Kim JD, Ahn SH, Ahn GS, Lee YI, Jeong YS. Hepatoprotective and Antioxidant Effects of *Alnus japonica* Extracts on Acetaminophen induced Hepatotoxicity in Rats. *Phytother Res* 2004;18:971-975.
85. Yoshikawaa Y, Moritaa M, Hosomia H, Tsuneyamab K, Fukamia T, Nakajimaa M, Yokoi T. Knockdown of superoxide dismutase 2 enhances acetaminophen-induced hepatotoxicity in rat. *Toxicology* 2009;264:89-95.
86. Kuvandik G, Duru M, Nacar A, Yonden Z, Helvacı R, Koc A, Kozlu T, Kaya H, Sogut S. Effects of Erdosteine on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Rats. *Toxicologic Pathology* 2008;36:714-719.
87. Yen FL, Wua TH, Lin LT, Cham TM, Lin CC Nanoparticles formulation of *Cuscuta chinensis* prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats *Food and Chemical Toxicology* 2008;46:1771-1777.
88. Kucukardali Y, Cinan U, Acar HV, Ozkan S, Top C, Nalbant S, Cermik H, Cankir Z, Danaci M. Comparison of the therapeutic efficacy of 4-methylpyrazole and N-acetylcysteine on acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity in rats. *Curr Med Res Opin* 2002;18(2):78-81.
89. Tran A, Treluyer JM, Rey E, Barbet J, Ferracci G, D'athis P, Vincent J, Pons G. Protective Effect of Stiripentol on Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2001;170:145-152.



90. Yang R, Miki K, He X, Killeen ME, Fink MP. Prolonged treatment with N-acetylcysteine delays liver recovery from acetaminophen hepatotoxicity. *Crit Care* 2009;13(2):R55.
91. Athuraliya TN, Jones AL. Prolonged N-acetylcysteine therapy in late acetaminophen poisoning associated with acute liver failure – a need to be more cautious? *Crit Care* 2009;13(3):144.
92. Doyon S, Schwartz WK. Hepatotoxicity Despite Early Administration of Intravenous N-Acetylcysteine for Acute Acetaminophen Overdose. *Acad Emerg Med* 2009;16:34-39.
93. Josephy P. The molecular toxicology of acetaminophen. *Drug Metab Rev* 2005;37:581-594.
94. Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handb Exp Pharmacol* 2010;196:369-405.
95. Erdogan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Ucar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res* 2006;34(1):41-46.
96. Terzi A, Iraz M, Sahin S, Ilhan A, Idiz N, Fadillioglu E. Protective effects of erdosteine on rotenone-induced oxidant injury in liver tissue. *Toxicol Ind Health* 2004;20(6-10):141-147.
97. Gül M, Ayan M, Seydanoğlu A, Cander B, Girişgin S, Erayman İ. Deneysel sepsis modelinde erdosteine'in glutatyon serum TNF- $\alpha$  ve doku malondialdehit düzeylerine etkisi. *Akademik Acil Tıp Dergisi* 2007;1(19-23)
98. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism and Disposition* 2003;31(12):1499-1506.
99. Blazka ME, Wilmer JL, Holladay SD, Wilson RE, and Luster MI Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995;133:43-52.
100. Bourdi M, Masubuchi Y, Reilly TP, Amouzadeh HR, Martin JL, George JW, Shah AG, and Pohl LR. Protection against acetaminophen-induced liver injury

- and lethality by interleukin10: role of inducible nitric oxide synthase. *Hepatology* 2002;35:289-298.
101. Boess F, Bopst M, Althaus R, Polsky S, Cohen SD, Eugster HP, Boelsterli UA. Acetaminophen hepatotoxicity in tumor necrosis factor/lymphotoxin-alpha gene knockout mice. *Hepatology* 1998;27:1021-1029.
  102. Kuo PC, Schroeder RA, Loscalzo J. Nitric oxide and acetaminophen-mediated oxidative injury: Modulation of interleukin-1-induced nitric oxide synthesis in cultured rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;282:1072-1083.
  103. James LP, McCullough SS, Lamps LW, Hinson JA. Effect of N-acetylcysteine on acetaminophen toxicity in mice: relationship to reactive nitrogen and cytokine formation. *Toxicological Sciences* 2003;75:458-467.
  104. Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, Ciliberto G, Furth EE, Poli V, Taub R. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice. *Science* 1996;274:1379-1383.
  105. Kovalovich K, DeAngelis RA, Li W, Furth EE, Ciliberto G, Taub R. Increased toxin-induced liver injury and fibrosis in interleukin-6-deficient mice. *Hepatology* 2000;31:149-159.
  106. Hinson JA, Pike SL, Pumford NR, Mayeux PR. Nitrotyrosine-protein adducts in hepatic centrilobular areas following toxic doses of acetaminophen in mice. *Chem Res Toxicol* 1998;11:604-607.
  107. Gardner CR, Heck DE, Yang CS, Thomas PE, Zhang XJ, DeGeorge GL, Laskin JD, Laskin DL. Role of nitric oxide in acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat. *Hepatology* 1998;27:748-754.