



**SIÇANLARDA PARASETAMOL İLE İNDÜKLENEN
AKUT KARACİĞER TOKSİSİTESİ ÜZERİNE
ALİSKİREN' İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Saliha Sena KARCIOĞLU

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK**

Yüksek Lisans Tezi-2019

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA PARASETAMOL İLE
İNDÜKLENEN AKUT KARACİĞER TOKSİSİTESİ
ÜZERİNE ALİSKİREN'İN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Saliha Sena KARCIOĞLU

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK

ERZURUM
2019

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA PARASETAMOL İLE İNDÜKLENEN AKUT
KARACİĞER TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ALİSKİREN' İN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Saliha Sena KARCIOĞLU

Tez Savunma Tarihi : 26.08.2019

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Elif ÇADIRCI

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Harun ÜN

Onay

Bu çalışma yukarıdaki Jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2019

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	12
2. GENEL BİLGİLER	16
2.1. Zehirlenmeler	16
2.2. Karaciğer Histolojisi	17
2.3. Akut Karaciğer Toksisitesi	18
2.4. Parasetamol (Asetaminofen).....	20
2.4.1. Farmakokinetik ve Metabolizma	20
2.4.2. Farmakolojik Etkileri	22
2.4.3. Yan Etkileri	24
2.5. Parasetamol Toksisitesi.....	25
2.5.1. Klinik Bulgular	29
2.5.2. Teşhis	29
2.5.3. Tedavi	32
2.5.3.1. N-Asetil Sistein (NAC).....	33
2.5.3.2. Aktif Kömür Uygulaması	35
2.5.3.3. Simetidin.....	36
2.5.3.4. Dializ.....	36

2.5.3.5.Karaciğer Transplantasyonu	37
2.5.4. Prognoz	37
2.6. Renin ve Fizyolojik Önemi.....	38
2.6.1. Reninin Karaciğerdeki Yeri	39
2.6.2. Renin İnhibitörleri.....	40
2.7. Aliskiren.....	41
2.7.1 Aliskirenin Farmakokinetiği	41
2.7.2. Aliskirenin Endikasyonları ve Yan Etkileri	42
2.8.Serbest Radikaller	44
2.8.1. Serbest Radikallerin Etkileri	44
2.9. Oksidatif Stress	46
2.10. Antioksidanlar.....	47
2.10.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	49
2.10.2. Glutasyon(GSH).....	49
2.10.3. Malondialdehit(MDA)	50
2.11. Biyokimyasal Parametreler	50
2.11.1. Aspartat Aminotransferaz (AST, SGOT)	50
2.11.2. Alanin Aminotransferaz (ALT, SGPT)	51
2.12. Moleküler Parametreler	52
2.12.1. Tümör Nekrozis Faktör-Alfa (TNF- α).....	52
3. MATERYAL VE METOT.....	54
3.1. Materyal	54
3.1.1. Deney Hayvanları	54
3.1.2. Kullanılan İlaçlar	54
3.1.3. Kullanılan Malzeme ve Makinalar	55

3.2. Metot.....	55
3.2.1. Deney Planı.....	55
3.2.2. Histolojik Çalışmalar	57
3.2.2.1. Parafin Kesitlerde Konvansiyonel Işık Mikroskop.....	57
3.2.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar	59
3.2.3.1. Parafin Kesitlerde İmmünohistokimyasal Işık Mikroskop	59
3.2.4. Biyokimyasal Çalışmalar	60
3.2.4.1. Karaciğer Dokusu Üzerinde Yapılan Analiz İşlemleri	60
3.2.4.2. Serumda Yapılan Analizler.....	65
3.2.5. Moleküler Çalışmalar	67
3.2.5.1. Karaciğer Dokusu Analizleri	67
3.2.5.2. RNA İzolasyonu	67
3.2.5.3. Reverse Transkriptaz Etkileşimi ve cDNA Sentezi.....	68
3.2.5.4. Real Time PCR ile mRNA Ekspresyonu Saptanması	69
3.2.3. İstatistiksel Analiz.....	69
4. BULGULAR.....	70
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	70
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	73
4.3. Biyokimyasal Bulgular	75
4.3.1. ALT ve AST Analizleri	75
4.3.2. SOD aktivitesi, GSH, MDA Ölçümleri	77
4.4. Moleküler Bulgular.....	81
4.4.1. TNF- α Analizleri	81
5. TARTIŞMA.....	82
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	91

KAYNAKLAR	92
EKLER	125
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	125
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	126
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	127



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim, öğrencisi olmaktan onur duyduğum ve ayrıca tez çalışmalarım süresince göstermiş olduğu hoşgörü ve sebatan dolayı değerli hocam ve danışmanım Sayın Prof. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Yüksek lisans eğitimim süresince, engin bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Anabilim Dalı Başkanımız saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'na, hem mesleğine ve hayata yaklaşım tarzıyla hem de eşsiz çalışmalarıyla bizlere örnek olan ayrıca bilgi ve tecrübelerini oldukça cömert bir şekilde bizlerle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Zekai HALICI'ya, Anabilim Dalı öğretim üyelerimizden değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Elif ÇADIRCI ve Doç. Dr. Erol AKPINAR'a çok teşekkür ediyorum.

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki çalışmalarım esnasında her türlü konuda bana yardımcı olan ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim birbirinden değerli hocalarım Prof. Dr. Yasin BAYIR, Doç. Dr. Beyzagül POLAT ve Doç. Dr. Şaziye Sezin PALABIYIK'a, histopatolojik çalışmalarda desteklerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Tolga MERCANTEPE'ye, bu çalışmayı 2012/ 352 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne ve birlikte çalışmaktan her zaman zevk aldığım, laboratuvar çalışmalarını süresince de emeği geçen sevgili asistan arkadaşlarıma tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan ve çalışmalarımın en başından bu yana desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Saliha Sena KARCIOĞLU

ÖZET

Sıçanlarda Parasetamol ile İndüklenen Akut Karaciğer Toksisitesi Üzerine Aliskiren'in Etkilerinin Araştırılması

Amaç. Parasetamol, ilaç intoksikasyonlarında hepatik hasara neden olan ilaçlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Ancak parasetamolün karaciğer hasarını nasıl oluşturduğu henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Son yıllardaki çalışmalar reninin karaciğer, böbrek ve kalp gibi organlardaki çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde rol oynadığını gösterdiği için dikkatler renin üzerinde toplanmıştır. Bu çalışmada da parasetamole bağlı karaciğer hasarında reninin rolü olabileceği aynı zamanda direk renin inhibitörü olan aliskiren ile karaciğer hasarının önlenebileceği düşünülmüştür. Bu nedenle ratlarda deneysel olarak parasetamol ile oluşturulan karaciğer toksisitesinde aliskirenin karaciğer hasarını azaltıp azaltmayacağını histopatolojik, biyokimyasal ve moleküler olarak incelemeyi amaçladık.

Materyal ve Metot. Çalışmamızda 5 gruptan oluşan 30 adet dişi sıçan kullanıldı. Aliskiren (oral) verildikten 1 saat sonra parasetamol (2 ml PBS (%1'lik CMC içeren))'de 2 g/kg olarak (oral) verildi. Gruplar; **I:** Sağlıklı. 2 ml PBS oral verildi. **II:** Parasetamol 2 g/kg. **III:** Aliskiren 100 mg/kg. **IV:** 50 mg/kg Aliskiren + Parasetamol. **V:** 100 mg/kg Aliskiren + Parasetamol. Parasetamol uygulamasından 24 saat sonra ratlar kurban edildi. Daha sonra ise alınmış olan kan ve doku örneklerinde histokimyasal, biyokimyasal ve moleküler incelemeler yapıldı.

Bulgular. Yapılan histopatolojik incelemelerde, zehirlenme grubunda ortaya çıkan patolojik değişikliklerin aliskiren tedavi gruplarında belirgin bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Parasetamol ile hepatotoksisite oluşturulmuş grupta ALT ve AST değerleri anlamlı bir şekilde yükselmesine rağmen, aliskiren ile tedavi edilen gruplarda ise bu değerlerin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Doku düzeyinde yapılan değerlendirmelerde de parasetamol ile hepatotoksisite oluşturulmuş grupta SOD aktivitesi ve GSH seviyesinin anlamlı olarak düştüğü, MDA ve TNF-alfa değerlerinin ise yükseldiği görüldü. Aliskiren ile tedavi edilen gruplarda ise bu parametreler tersi yönde hareket ederek düzelmeye eğilimine girdiklerini istatistiksel olarak gösterdiler.

Sonuç. Sonuç olarak; yüksek doz parasetamolün yol açtığı hepatotoksisitenin önlenmesinde aliskirenin tedavi edici-koruyucu etkisinin olduğu histopatolojik, biyokimyasal ve moleküler olarak gösterilmiştir. Bu sonuçlar, klinikte görülen parasetamol toksisitelerinin tedavisinde aliskiren kullanılabileceği konusunda bize yol göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Aliskiren, karaciğer toksisitesi, parasetamol, rat, TNF- α .

ABSTRACT

Investigation on Effects of Aliskiren on Paracetamol Induced Acute Liver Toxicity in Rats

Aim. Paracetamol is one of the first rank drugs which cause hepatic damage during drug intoxications. However the mechanism of paracetamol induced liver damage has not been understood yet. Since recent studies have shown that renin plays a role in the pathophysiology of various diseases in organs such as liver, kidney and heart, attention has been paid to renin. In this study, it was thought that renin may play a role in paracetamol-induced liver injury, as well as preventing liver damage by direct renin inhibitor aliskiren. For this reason, we aimed to investigate histopathologically, biochemically and molecularly whether or not aliskiren will reduce liver damage in paracetamol-induced liver-toxicity in rats.

Material and Method. In our study, 30 female rats were used, consisting of 5 groups. One hour after aliskiren (oral) administration, paracetamol (2 ml PBS (containing 1% CMC)) was given as 2 g / kg (oral). Groups; I: Healthy. 2 ml PBS was orally administered. II: Paracetamol 2 g / kg. III: Aliskiren 100 mg / kg. IV: 50 mg / kg Aliskiren + Paracetamol. V: 100 mg / kg Aliskiren + Paracetamol. 24 hours after paracetamol administration, the rats were sacrificed. Then histochemical, biochemical and molecular examinations were performed on blood and tissue samples taken.

Results. Histopathological examinations revealed that the pathological changes in the poisoning group were significantly reduced in the aliskiren treatment groups. Although ALT and AST values were significantly increased in the hepatotoxicity-induced group with paracetamol, it was found that these values decreased significantly in the groups treated with aliskiren. SOD activity and GSH levels were significantly decreased, MDA and TNF-alpha levels were higher in the group with paracetamol hepatotoxicity in the tissue-level evaluations. In the groups treated with aliskiren, these parameters statistically showed that they tended to improve by moving in the opposite direction.

Conclusion. As a result; by the biochemical and molecular that the therapeutic and protective effect of aliskiren in the prevention of hepatotoxicity caused by high doses of paracetamol has been demonstrated. These results have led us to the use of aliskiren in the treatment of paracetamol toxicities seen in the clinic.

Key Words: Aliskiren, hepatotoxicity, paracetamol, rat, TNF- α .

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ADEi	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
Ag I	: Anjiyotensin 1
Ag II	: Anjiyotensin 2
AHH	: Akut hepatik hasar
AKY	: Akut karaciğer yetmezliği
ALT	: Alanin aminotransferaz
APAP	: N-asetil-Paraaminophenol(asetaminofen)
ARB	: Anjiyotensin 2 reseptör blokerleri
ASA	: Asetil salisilik asit
AST	: Aspartat amino transferaz
Ca⁺²	: Kalsiyum
CCl₄	: Karbon tetra klorür
CMC	: Sodyum karboksi metil selüloz
COX	: Siklooksijenaz (Cyclooxygenase)
CYP	: Sitokrom p450
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
FDA	: Amerikan Gıda Ve İlaç İdaresi
GPx	: Glutatyon peroksidaz
GSH	: Glutatyon
IL	: İnterlökin
INR	: Internasyonel normalize oranı

MDA	:	Malondialdehit
MFO	:	Karma fonksiyonlu oksidaz sistemi
mRNA	:	Mesajcı ribo nükleik asit
NAC	:	N-asetilsistein
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAPQI	:	N-asetil-p-benzokinonimin
NO	:	Nitrik oksit
NSAİİ	:	Non-steroid antiinflamatuvar ilaç
OH·	:	Hidroksil radikali
PBS	:	Fosfat tampon çözeltisi
PGE1	:	Prostaglandin E1
PRA	:	Plazma renin aktivasyonu
PRK	:	Plazma renin konsantrasyonu
PT	:	Protrombin zamanı
RAAS	:	Renin anjiyotensin aldosteron sistemi
SGOT	:	Serum glutamik okzaloasetik transaminaz
SGPT	:	Serum glutamik pirüvik transaminaz
SOD	:	Süperoksit dismutaz
TNF	:	Tümör nekrotizan faktör
XO	:	Ksantin oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Parasetamolün moleküler yapısı.....	20
Şekil 2.2. Parasetamolün metabolizması	22
Şekil 2.3. Rumack-Matthew Nomogramı.....	30
Şekil 2.4. Aliskirenin kimyasal yapısı	41
Şekil 2.5. Antioksidanların serbest radikallere karşı etkileri.....	48
Şekil 2.6. Antioksidanların sınıflandırılması	48
Şekil 4.1. Sağlıklı grubun karaciğer dokusuna ait görüntüsü.	71
Şekil 4.2. Parasetamol grubuna ait hasarlı karaciğer dokusu görüntüsü.	71
Şekil 4.3. Aliskiren 100 mg/kg grubuna ait karaciğer dokusu görüntüsü.	72
Şekil 4.4. Para + ALS 50 mg/kg grubuna ait hasarlı karaciğer dokusu görüntüsü.....	72
Şekil 4.5. Para + ALS 100 mg/kg grubuna ait hasarlı karaciğer dokusu görüntüsü.....	73
Şekil 4.6. TNF- α ile boyanmış karaciğer dokusu görüntüleri.	74
Şekil 4.7. Sıçan serumunda ölçülen ALT miktarının grafikte gösterilmesi	76
Şekil 4.8. Sıçan serumunda ölçülen AST miktarının grafikte gösterilmesi.....	77
Şekil 4.9. Sıçan serumundaki SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi.....	79
Şekil 4.10. Sıçan serumundaki GSH seviyesinin grafikte gösterilmesi	79
Şekil 4.11. Sıçan serumundaki MDA miktarının grafikte gösterilmesi	80
Şekil 4.12. Sıçan karaciğer dokusunda ölçülen TNF- α miktarları	81

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Akut karaciğer yetmezliği etiyolojik faktörler.....	19
Tablo 3.1. Deney Planı.....	56
Tablo 4.1. Sıçan serumunda ölçülen ALT ve AST miktarları.	75
Tablo 4.2. Sıçan karaciğer dokusunda ölçülen SOD, GSH ve MDA miktarları.....	77



1. GİRİŞ

Parasetamol terapötik dozlarda alındığı zaman yan etkileri oldukça az olan ve dünya genelinde çok fazla kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Tek bir bileşik olarak ya da diğer ilaçlarla kombine bir şekilde reçetesiz tezgah üstü veya reçeteli olarak satılmaktadır. Parasetamol tüketimi dünya çapında hızlı bir şekilde artış göstermektedir. Asetaminofen ya da N-asetil-Para-aminofenol (APAP) olarak da bilinen parasetamol ABD’de en yaygın bir şekilde kullanılan ilaçlardandır. Information Medical Statistics Health’den alınan verilere göre parasetamol 2004 ve 2008 yılları arasındaki piyasa satışlarında %28’ lik bir artış göstererek sadece 2008 yılında yaklaşık 2.6 milyar dolarlık bir satış yakalamıştır. Yani 2008’de yaklaşık olarak 24.6 milyar doz parasetamol tüketimi gerçekleşmiştir.¹

Parasetamolün bu denli sık kullanılması ve kolay erişilebilir bir ilaç olması nedeniyle toksisite riski de doğal olarak artmaktadır. Parasetamol tedavi edici dozlarda alınması durumunda iyi bir güvenlik profiline sahip olmasına rağmen supratherapötik dozlarda kullanıldığı zaman (bilerek ya da yanlışlıkla yutulması ile) ciddi hepatotoksisiteye ve hatta ölümcül akut karaciğer yetmezliğine (AKY) neden olmaktadır. Parasetamol toksisitesinin asemptomatik veya ilaçla indüklenen karaciğer toksisitesine hatta daha ağır ve fatal olabilen akut hepatik hasara (AHH) yol açtığı 1960’ların başında gösterilmiştir.² AKY; öncesinde herhangi bir karaciğer rahatsızlığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının bir anda, tam veya tama yakın bir şekilde kaybıyla kendini gösteren, potansiyel olarak reversible olabilen, fakat mortalite oranı oldukça yüksek olan bir klinik sendromdur.³ AKY’nin etiyolojisi coğrafik bölgelere göre büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Şöyle ki, İngiltere’de AKY’nin %70’inden, ABD’de ise %20’sinden parasetamol toksisitesi sorumlu tutulmaktadır.^{4,5}

Parasetamol 10 g/gün üzerindeki dozlarda karaciğer toksisitesine neden olsa dahi, tavsiye edilen maksimum 4 g olan günlük dozunda da toksisite görülmüştür.⁶⁻⁸

Parasetamolün tedavi edici dozunun yalnızca % 3'lük kısmı sitokrom (CYP) p450 enzimi ile N-hidroksilasyona uğrayarak oldukça reaktif bir ara ürün olan N-asetil-p-benzokinonimine (NAPQI) dönüşmektedir. Bu metabolit oldukça reaktif elektrofilik bir molekül olup diğer intrasellüler proteinlere kovalent bağlanarak zarar verir. NAPQI normal şartlar altında glutasyon (GSH) ile reaksiyona girerek zarar vermeden safra yoluyla atılmaktadır.^{9, 10}

Ancak yüksek dozlarda alınması ile bu reaktif ürün sürekli oluşmaya devam eder ve GSH depolarını tüketerek karaciğer hasarına neden olur. Parasetamolün hepatotoksitedeki asıl mekanizmasının bu yolla gerçekleştiği düşünülmektedir.¹⁰

Parasetamol toksisitesinin tedavisinde kullanılan başlıca yöntemler arasında; nazogastrik tüp ya da oral yolla uygulanan aktif kömür, gastrointestinal dekontaminasyon, uygun zamanda N-Asetilsistein (NAC) kullanımı bulunmaktadır.³ Parasetamolün indüklediği toksisiteye karşı NAC'ın karaciğerdeki koruyucu etkisinin yüksek olduğu bilinmekte ve tedavi için klinikte en yaygın olarak kullanılan ajandır. NAC hastalara intravenöz veya oral olarak uygulanabilir.^{11, 12} Ancak tam anlamıyla bir tedavi sağlanamamaktadır.

Yukarıda bahsetmiş olduğumuz aşırı parasetamol alımının oluşturduğu toksik etkiye karşı geliştirilen tedavi basamaklarının yanı sıra başka alternatif yöntemlerinin de bulunmasına rağmen parasetamolün toksik etkiyi nasıl oluşturduğunun mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu yüzden sürekli olarak yeni çalışmalar yapılmakta ve bu yeni gelişmeler sayesinde parasetamole bağlı karaciğer toksisitesini, hasarını önleyici ve tedavi edici yeni ilaçlar denenmektedir. Özellikle son zamanlarda aliskiren ile ilgili yapılan çalışmalar dikkatleri üzerine çekmektedir.

Aliskiren'in yer aldığı renin anjiotensin aldosteron sistemi (RAAS), vücutta fizyolojik bir şekilde kan basıncının düzenlenmesi görevini üstlenmiştir. RAAS organizmanın işleyişinde önemli bir role sahip olmasına rağmen vücutta meydana gelen oksidatif stres ve enflamasyon gibi patofizyolojik olaylara da katkı sağlamaktadır.¹³⁻¹⁶

RAAS'ta oldukça önemli bir yeri olan anjiyotensin II (Ag II)'nin aşırı ekspresyonu damarlarda hasara yol açmaktadır. Bunun sonucunda ise damarlarda biriken serbest radikallerin en büyük etken maddesi Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) oksidazı aktive ederek serbest oksijen radikallerinin üretimini artırır.¹⁷

Biyolojik yapılarda oksitleyici hasarların oluşmasının sebebi serbest radikallerdir. Antioksidanlar ve oksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması ile organizmada hasar oluşmaya başlar.

Günümüzde aliskiren, renin anjiotensin sisteminin ilk basamağındaki reninin inhibisyonu için kullanılan terapötik ajandır. Aliskiren şu anda hipertansiyon tedavisi için yalnızca ya da diğer ilaçlarla kombine olarak reçete edilebilmektedir. Ayrıca aliskiren yapılan çalışmalar sonucunda başta böbrek hastalıkları olmak üzere kalp hastalıkları, diğer vasküler hastalıklar ve enflamatuvar hastalıklar gibi pek çok hastalıkta olumlu etkileri gösterilmiş bir ilaçtır. Bunların yanı sıra aliskirenin güçlü bir şekilde antioksidan savunma sistemine olumlu katkıda bulunduğu da gösterilmiştir.¹⁸⁻²⁰

Aliskirenin oksidan-antioksidan seviyeleri arasındaki denge ve enflamatuvar sitokinler üzerinde olumlu yönde etkiler oluşturması özellikle klinik olarak dünya çapında önemli bir yere sahip olan ve organizmada ciddi problemlere yol açan karaciğer toksisitesinde koruyucu ve terapötik etkisinin olacağını düşünmekteyiz.

Bizim bu çalışmadaki amacımız; sıçanlarda parasetamolle oluşturulmuş karaciğer toksisitesinde renin-Ag II inhibisyonun yani RAAS'ın rolünü incelemektir. Aynı zamanda direk renin inhibitörü olan aliskirenin; parasetamol toksisitesine bağlı

karaciğer hasarında oksidatif stres parametreleri ve antioksidan savunma sistemleri üzerindeki etkilerini ortaya koymaktır. Bu amaçla parasetamol toksisitesi oluşturulan sıçanlarda aliskiren uygulaması sonucu elde edilen serum ve dokulardaki temel karaciğer fonksiyon testleri, enflamasyonun ve oksidatif stres hasarının önemli belirteçleri deney grupları arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirilecektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Zehirlenmeler

İnsanlık tarihi kadar eski olan zehirlenmenin tarihi, M.Ö. 400'lü yıllarda yazıldığı varsayılan Ebers papirüslerinde kurşun, bakır ve katran ağacı gibi pek çok zehirle ilgili bilgiye dayanmaktadır. İçeriği ölümcül olabilen ilaçları ve ilaç dozlarını tanımlamak üzere kullanılan zehir ifadesi ilk kez M.S. 1230 yıllarında ortaya çıkmıştır.²¹

Vücudun, belirli bir miktarı ile karşılaştığı zaman olumsuz yönde etkilendiği hatta ölümüne sebebiyet verebilecek olan her hangi bir madde zehir, zehirin ortaya çıkarmış olduğu bu reaksiyon ise zehirlenme olarak adlandırılmıştır. Tıp dünyasındaki tüm gelişmelere rağmen, zehirlenme vakalarının acil servislerdeki yoğunluğu hala önemini korumaktadır.²²

Zehirlenme vakalarına bakılacak olursa en sık neden olarak intihar, keyif sağlama ve başka bir kişiye zarar verme amaçlı, şehven veya kaza sonucu ve kronik ilaç kullanımı sırasında şekillendiği bildirilmektedir. Türkiye'de yapılmış olan bir araştırmada da acil servislere başvuran hastaların %59.6'sının ilaç zehirlenmeleri olduğu, bunların ise %43'ünün analjezik alımı ile oluştuğu belirtilmiştir.²³

Bunlara ek olarak temizlik malzemeleri (%26.2), hidrokarbonlar (%7.3), besinler (%7), insektisitler (%6.7), karbonmonoksit (%1.7) ve diğer maddeler (%5.9) de sık zehirlenme nedenleri arasında sayılabilir. Bu ürünlerde görülen tüketim artışı ve çevrede rastgele bulunması nedeniyle, özellikle 5 yaş altı çocuklarda akut zehirlenmelere sıklıkla rastlanmaktadır. İstatiklere göre de çocuklarda görülen zehirlenmelerin %80'ini çocukların erişebilecekleri yere bırakılan ilaçlar ve kimyasal maddeler oluşturmaktadır.²⁴⁻²⁶

Acil servise gelen zehirlenme vakalarında başarı elde edilebilmesi için zehirlenmeye neden olan etkenin tespit edilip toksisitesinin tam olarak belirlenmesi gerekir. Zehirlenme etkenlerinin çok az bir kısmına karşı spesifik antidot vardır. Bazı ilaçların toksik etkilerini nötralize etme veya önlemede spesifik antidotlar kullanılabilirler.²³ Bu nedenle zehirlenme vakalarının çoğunda genel tedavi yöntemlerinin uygulanması ve gelişen semptomlara yönelik tedavi yapılması mecburidir.²⁷

2.2. Karaciğer Histolojisi

Yaşam için temel organlardan biri olan karaciğerin ağırlığı yaklaşık 1500 gr olup yetişkin vücut ağırlığının %2.5'ine eşittir. Karın boşluğunun daha çok üst sağ bölümünde yer almış olup periton ve kostalar ile korunmaktadır. Karaciğerdeki kanlanma iki ayrı damar ile gerçekleştirilmektedir. Biri, sindirim sistemi, dalak ve pankreastaki kapiller yataklardan toplanan kanı karaciğere getiren portal ven (vena porta)' dir. Diğeri ise, gelen kanın yaklaşık %20-30' unu oluşturan ve oksijen bakımından zengin olan bu kanı karaciğere getiren hepatic arter (arteria hepatica)' dir.²⁸

Karaciğerdeki tüm hücrelerin yaklaşık %80'ini oluşturan, 6 veya daha fazla yüzü olan epitel hücreleri hepatositlerdir. Bu hücreler birbirleri ile bağlantılı plaklar halinde gruplara ayrılmışlardır. Karaciğer lobülleri olarak bilinen yapısal birimler ışık mikroskobu kesitlerinde görülebilir. Karaciğer parankimasında hepatositlerin dışında kupffer hücreleri de (sinüzoidal makrofajlar) yer almaktadır.²⁹ Karaciğer parankimi yapısal olarak kanlanma ve metabolik aktiviteye göre “karaciğer asinüsü” olarak adlandırılan alanlara ayrılır. Karaciğer asinüsündeki hepatositler buldukları yere göre 3 eliptik zonal bölgeye ayrılır.

Zon 1: Portal ven ve hepatic arterin dallarının olduğu bölgedir.

Zon 2: Zon 1 ve 3 arasında sınırları tam belli olmayan bir bölgedir.

Zon 3: Terminal hepatik ven (santral ven) çevresindeki bölgeyi oluşturur.³⁰

2.3. Akut Karaciğer Toksisitesi

Önceden bilinen her hangi bir karaciğer hastalığı olmayan kişilerde aniden başlayan hiperbilirubinemi, hepatik ensefalopati ve kuagülopati ile karakterize yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden bu klinik sendrom akut karaciğer yetersizliği olarak tanımlanmaktadır.³¹ Karaciğer toksisitesiyle akut, kronik, fulminan hepatit, siroz ve tümör gibi çeşitli klinik durumlarda karşı karşıya kalabiliriz. Daha evvel herhangi bir karaciğer problemi olmaksızın, ağır karaciğer hasarı sonucu, belirtilerin başlamasından sonra geçen 8 hafta içinde hepatik ensefalopatinin gelişmesiyle karakterize tablo fulminan karaciğer yetersizliği şeklinde ifade edilmiştir ve bu terim ilk defa 1970 yılında Trey ve Davidson tarafından kullanılmıştır.³²

Daha öcesinde ise 1946'da Luke ve Mallory ABD ordusunda meydana gelen sarılık salgınlarında görülen fulminan seyirli vakaları incelemiş ve hızlı bir şekilde ölümle sonuçlanan akut tip ve daha yavaş seyirli ancak oldukça kötü prognoza sahip olan subakut tip olmak üzere hastalığın iki klinik tipini tarif etmişlerdir.³³ Bernuau ve arkadaşları sarılığın ortaya çıkışından hepatik ensefalopati gelişene kadar geçen zaman 2 hafta ise fulminan karaciğer yetersizliği, 2-12 hafta arasında ise subfulminan karaciğer yetersizliği olarak belirtmişlerdir.³⁴

King's Collage grubu 1993'te konuyu 3 kategoride ele alarak; hiperakut, akut ve subakut karaciğer yetersizliği olarak yeni bir sınıflama önermiştir. Süperinfeksiyonlar ve taşıyıcılık zemininde spontan veya değişik nedenlere bağlı reaktivasyonlar (kortikosteroid kullanımı, antiviral kesilmesi veya direnci vb.) sonucu AKY gelişebilmektedir. Mortalite ise %3.7-60 arasında değişmektedir.³⁵

İlaçlara bağlı gelişen toksisite AHH'nın en sık rastlanan nedenlerinden biri olarak tanımlanabilir. Bunun nedeni karaciğerin birçok ilaç veya kimyasal ajanın

metabolizması için temel organ olmasıdır. Başta Avrupa ülkeleri olmak üzere ülkemizde de AKY'ne neden olan ilaçlar arasında parasetamol ciddi bir öneme sahiptir.

AKY'nin ABD'de %20'sinden, İngiltere'de ise %70'inden parasetamol toksisitesi sorumludur.^{4, 36} Ülkemizde ise ilk sırayı hepatit virüsleri, ikinci sırayı ise toksinler ve ilaçlar almaktadır. AKY'ye yol açan faktörler Tablo 2.1.'de görülmektedir.³¹

Tablo 2.1. Akut karaciğer yetmezliği etiyolojik faktörler

Etiyoloji grubu	Spesifik nedenler
Viral nedenler	HAV, HBV +/- HDV, HEV, HSV 1-2, HPV 6, CMV, EBV, VZV, Parvovirüs B19
İlaç/toksin nedenli hepatotoksisite	Parasetamol, amanita zehirlenmesi, tetrasiklin, Basillus cereus, CCl ₄
İdiosenkrazik ilaç reaksiyonları	Halotan, anti-tüberküloz ilaçlar, sülfonamidler, amoksisilin klavunat, makrolidler, valproat, NSAİİ, disülfiram, thalidomid, β-interferon, ektazi, kokain, herbal ilaçlar, anti-retroviral ilaçlar
Vasküler nedenler	İskemik hepatit, Budd-Chiari, kalp yetmezliği, venookluziv hastalıklar
Metabolik nedenler	Wilson hastalığı, gebeliğin akut yağlı karaciğeri, HELLP sendromu
Diğer nedenler	Otoimmün hepatit, malign infiltrasyon, sepsis, sıcak çarpması, kriptojenik

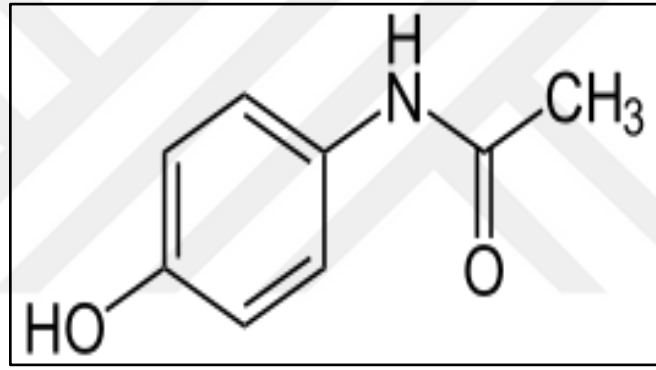
HAV: hepatitis A virüs, HBV: hepatitis B virüs, HDV: hepatitis delta virüs, HEV: hepatitis E virüs, HSV: herpes simplex virüs, HPV: Human Papillomavirus, CMV: cyto megalovirüs, EBV: Epstein-Barr virüs, VZV: Varicella zoster virüs, HELLP: (hemolyse elevated liver enzymes low platelets)(hemoliz karaciğer enzim yüksekliği platelet düşüklüğü); NSAİİ: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç.

Hastalarda AKY gelişmiş ise, komplikasyon ve ölüm riski %30'lara dek ulaşmaktadır.³⁷ Parasetamol toksisitesinde erken dönemde antidot olarak hastaya NAC verilirse, efektif bir şekilde azalmış olan GSH depolarını doldurarak parasetamolün toksik metaboliti NAPQI'nın yaptığı hepatotoksisiteyi ve AKY'yi önler.³⁸ Böylece bu

hastalara erken dönemde NAC tedavisi verilerek mortalite oranı büyük oranda önlenir.³⁹

2.4. Parasetamol (Asetaminofen)

İlk olarak 1873 yılında Harmon Northrop Morse tarafından sentezlenmiştir.³⁹ 1949'da asetanilid ve fenasetinin major metaboliti olduğu gün yüzüne çıkınca önem kazanmıştır. Para-aminofenol türevi olan parasetamol aynı zamanda asetaminofen ve APAP olarak da bilinmektedir (Şekil 2.1.). Dünya çapında ağrı kesici ve ateş düşürücü bir ajan olarak kullanılmaktadır. Çok az anti-inflamatuar etki gösterdiği için nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar (NSAİİ) içinde yer almaz.



P-Hidroksiasetanilid (Parasetamol)

Şekil 2.1. Parasetamolün moleküler yapısı.³⁹

2.4.1. Farmakokinetik ve Metabolizma

Parasetamolün metabolizasyon ve farmakokinetiğinin bilinmesi, toksisitesini kavrayabilmemize büyük katkı sağlayacaktır. Parasetamol oral yoldan alındığında mükemmel bir biyoyararlanıma sahip olup %79-89 civarında değişim göstermektedir.⁴⁰

Gastrointestinal yoldan hızlı ve neredeyse tamamen absorbe edilir ve etkisini erken gösterir.⁴¹ Yarılama ömrü 2 saat olan parasetamol, kan pik düzeyini 2. saatte elde eder.⁴² Ancak açlık ve tokluğa bağlı olarak emilimi değişeceği için bu süre 4. Saate kadar uzayabilmektedir. Bir dozdan sonra analjezik etkisi 3-4 saat devam eder.

Parasetamol plazma proteinlerine diğer NSAİİ'lere göre daha zayıf bağlanırken (%25) birçok vücut sıvısına yaygın şekilde dağılmaktadır. Plazmada oldukça geniş bir dağılım hacmine sahip olup total metabolik klirensi 440 ml/dk'dır.

Parasetamolün plazma konsantrasyonu ile analjezik etki gücü arasında direkt bir korelasyon mevcuttur. Parasetamol analjezik ve antipiretik etkisini sırası ile 10 µg/ml ve 18 µg/ml düzeyindeki kan konsantrasyonlarında gösterir. Yemek ile beraber veya yemekten hemen sonra alınırsa biyoyararlanımı belirgin şekilde azalır ve bu yüzden aç karna alınması önerilir. Ayrıca opioidler ve antikolinergik ilaçlarla birlikte alındıkları zaman kan pik düzeyine ulaşma süresi gecikir. Oral olarak kullanılan dozlarda rektal yoldan da verilebilir. Parasetamol'ün erişkinlerde ve adolesanlarda kullanımı ağızdan 500-1000 mg, günlük en yüksek dozu genellikle 4 g olarak kabul edilir. Kişinin böbrek yetmezliği varsa, izoniazid tedavisi alıyorsa veya alkolik ise parasetamol kullanım sırasında doz %30 ila %50 arasında azaltılmalıdır.^{43,44}

Parasetamol terapötik dozlarda kullanıldığı zaman %90-95 oranında karaciğerde glukroniltransferaz enzimi yardımıyla glukronik asitle (%60 kadarı), sülfoniltransferaz enzimi yardımıyla sülfürik asitle (%35 kadarı) veya sistein (%3 kadarı) ile konjuge edilmiş olarak idrardan atılır. %2'lik kısmı ise idrardan direkt olarak atılmaktadır.⁴¹ Küçük ama yine de önemli bir miktarı hepatik sitokrom P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) yoluyla N-hidroksilasyona girerek son derece reaktif bir ara ürün olan NAPQI' a dönüşür.^{45,46}

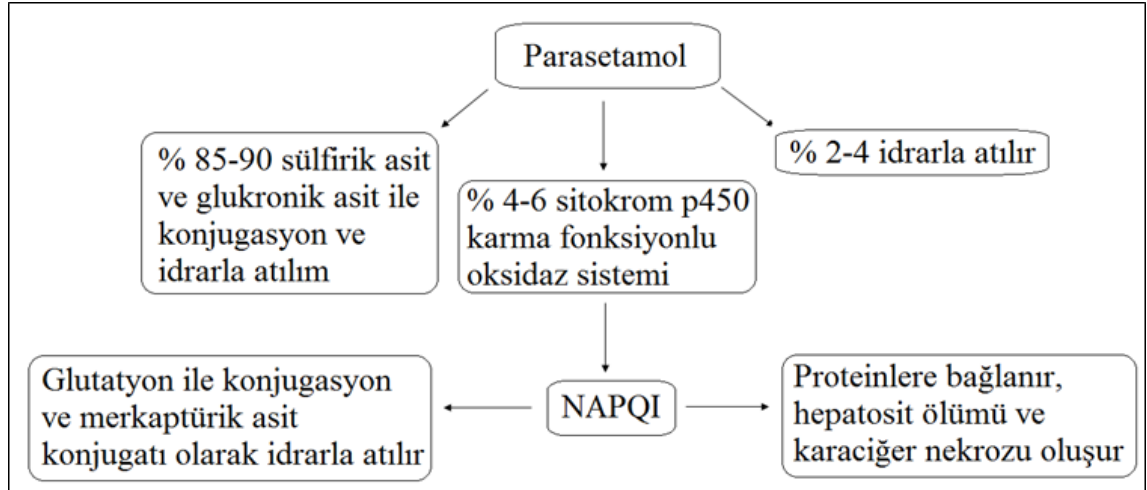
Toksisitede parasetamolden çok NAPQI sorumlu tutulur. Bu metabolit diğer intrasellüler proteinlere kovalent olarak bağlanarak hepatik zarar oluşturur.^{47,48} (Şekil 2.2.)⁴⁹ Fizyolojik koşullarda NAPQI, GSH'daki sülfidril grupları ile reaksiyona girerek zararsız halde safra yoluyla atılmaktadır.^{10,50} Bu molekülün karaciğer hasarı oluşturabilmesi için parasetamol yüksek dozlarda alınması gerekir ki bu durumda bu

reaktif ürün hızlıca oluşmaya devam edip GSH depolarını bitirerek karaciğer hasarı oluşturur.^{51, 52} Parasetamol hepatotoksitesindeki asıl mekanizmanın bu yoldan gerçekleştiği düşünülmektedir.¹⁰

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

a) Oksidatif stres teorisi: Yüksek doz parasetamol alımında oluşan NAPQI, hücrelerde reaktif oksijen ürünlerinin oluşmasına, bu da lipit peroksidasyonuna neden olduğu için, GSH eksikliğine, dolayısıyla da hepatositte protein sentezi ve hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) dengesi bozukluğunun ortaya çıkmasına neden olmaktadır.⁵³⁻⁵⁶

b) Kovalent bağlanma teorisi: Parasetamol yüksek dozlarda alındığında, karaciğerin detoksifikasyon sistemleri doymuş hale geçmesinden ötürü, bağlayıcı GSH bitecek, aşırı NAPQI ortaya çıkacak, bu da deoksiribonükleik asit (DNA) ve protein tiyol gruplarına kovalent bağlanmak suretiyle, hepatositlerde hasar oluşumuna neden olacaktır.^{57, 58}



Şekil 2.2. Parasetamolün metabolizması⁴⁹

2.4.2. Farmakolojik Etkileri

Parasetamol beyaz, kokusuz ve hafif acı bir tadı olan kristal toz yapısındadır. Suda ve eterde az çözünürken metanol ve etanol gibi organik çözücülerde

çözünebilmektedir. Doymuş çözeltisinin pH'ı 5.5- 6.5 arasındadır. Asidik ve alkali ortamlarda ise kararlılığı azalır ve yavaşça asetik asit ve p-aminofenole dönüşür.⁵⁹

Piyasada 100'den fazla preparat adı olan parasetamolün prospektüslerinden de kolaylıkla erişebileceğimiz endikasyonları; baş ağrısı, migren, adet sancıları, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara bağlı ağrı, nefralji, nefrit, siyatik, lumbago, kas ve eklem ağrıları, otit, sinüzit ve cerrahi operasyonlardan ya da yaralanmalardan kaynaklanan ağrılardır. Endikasyonlarından da anlaşılacağı üzere parasetamolün bu denli yaygın kullanımını etki mekanizmasının daha iyi bilinmesini gerektirmektedir. Etki mekanizmasını anlamak için de çalışmalar devam etmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda parasetamol'ün merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinden santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu ve serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla etki gösterdiğine inanılmaktadır.⁶⁰

Lim ve arkadaşlarının bir çalışmalarında, köpeğin dalağına enjekte edilen bradikininin ağrı yapıcı etkisinin parasetamol tarafından engellendiğini görmüşlerdir. Yapılan bu çalışmada parasetamolün ağrı kesici etkisinin santralde değil de periferde prostaglandin sentezini inhibe ederek ortaya koyduğunu göstermişlerdir.⁶¹

Parasetamolün ateş düşürücü etkisi hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Milton ve Wendlant kedilerin beyin ventriküllerine endotoksin kaynaklı maddeleri enjekte ederek oluşturdukları ateşi parasetamolün engellediğini fakat aynı yere enjekte edilen prostaglandin E1(PGE1) kaynaklı ateşi etkilemediğini bildirmişler.⁶² Daha sonra yapılan çalışmalarda parasetamol'ün beyin omurilik sıvısındaki prostaglandin benzeri maddeleri inhibe ederek ateşi düşürdüğü gösterilmiştir.⁶³ Prostaglandin sentezi üzerinde bazı etkileri olmasına rağmen etki mekanizması henüz açıklık kazanmamıştır.⁶⁴

Yapılan bazı çalışmalarda parasetamolün bildiğimiz COX-1 ve COX-2 gibi MSS'ye ait enzim varyantlarından farklı bir enzim olarak tespit edilen COX-3'ü selektif

bir şekilde bloke ettiği düşünölmektedir.⁶⁵ Parasetamolün bu mekanizmadaki rolü konusunda pek çok araştırmacı hemfikir olmuştur.^{66, 67} Fakat yine de COX enzim varyantlarından olan COX-3'ün insandaki varlığı veya parasetamol inhibisyonuna duyarlılığı hakkında kesin bir yargı bulunmamaktadır.^{67, 68}

Parasetamolün inflamasyona neden olan prostaglandinleri seçici inhibe etmesinden dolayı zayıf bir antiinflamatuvar olarak dahi düşünölmemektedir. Antitrombotik etkinliği zayıf olduğu için kanama süresinde değişim yapmaz.^{39, 69, 70}

2.4.3. Yan Etkileri

Tedavi dozlarında kullanıldığında genellikle iyi tolere edilen parasetamolün Nadiren görölen alerjik cilt reaksiyonları (kızarıklık, döküntü), alerjik ilaç ateşi, hematolojik bozukluklar, hipoglisemi ve böbrek yetmezliği gibi yan etkileri vardır.⁷¹ Parasetamol bazen de karaciğer enzimlerinde ılımlı yükselmelere sebep olabilir fakat bu durum geri dönüşümlü olup ilaç kesilince ortadan kalkar.

Günlük en yüksek dozu 4g olarak kabul edilen parasetamol daha yüksek dozlarda kullanıldığı zaman baş dönmesi, huzursuzluk ve yönelim bozukluğuna yol açsa da toksik dozunda (en az 10-15 g) en ciddi yan etkisi ölümcül olabilen hepatik nekrozdur. Bu durumda bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır. Bu etki normal kullanım sonrasında da çıkabilmektedir. Aspirinin yaptığı hepatik hasara göre daha tehlikeli olup tedavisi daha da zordur.⁷²

Parasetamolün kardiyovasküler ve asit-baz dengesi üzerine belirgin etkileri yoktur. Gebelerde güvenlidir ve NSAİİ'lerin yaptığı gibi fetal ductus arteriosus'un kapanmasını etkilemezler. Epidemiyolojik çalışmalar parasetamol kullanımıyla renal hastalıklar, gastrointestinal problemler ve astım arasında ilişki olduğunu göstermektedir.⁷³ Bunun yanında alkol kullanımı toksik etkiyi ciddi biçimde

artırmaktadır. Alkoliklerde ve böbrek yetmezliği olan hastalarda doz azaltılmalıdır. Oral antikoagülanlar ile birlikte kullanıldığında ise belirgin etkileşme göstermemektedir.⁷⁴

2.5. Parasetamol Toksisitesi

Fenasetinin bir majör metaboliti olan parasetamol 1950'lerden bu yana tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır.^{49, 75} Toksik etkileri fenasetin ve aspirinden daha az görüldüğü için analjezik ve antipiretik ajan olarak tedavide daha çok kullanılmaktadır.⁶⁴ Bu ilaç terapötik olarak kullanılabilirdiği gibi intihar amaçlı da sıklıkla kullanılan ilaçlardan biridir.^{73, 76-78}

Parasetamol aşırı doz kullanımda fatal akut karaciğer nekrozu yaptığı bilinen az sayıdaki ilaçlardan biridir ve ilaca bağlı akut karaciğer nekrozu vakalarının en başta gelen nedenidir. Parasetamolün kullanım sıklığındaki artış ve aşırı doz alımı karaciğer toksisitesi ve ölüm oranlarında artışa neden olmuştur.⁴⁹ Amerikan Zehir Kontrol Veri Merkezi verilerine göre parasetamolün bilinçli ya da bilinçsiz kullanımı sonucu her yıl 100.000'in üzerinde parasetamol toksisitesi ve buna bağlı olarak yaklaşık 458 ölüm meydana gelmiştir.^{49, 79, 80} Bu nedenle bilim adamları parasetamole bağlı toksisiteyi önleme adına, henüz tam olarak bilinmeyen toksisite oluşma mekanizması ile ilgili sürekli yeni çalışmalar yapmaktadırlar.

Toksik etkiye yol açan mekanizmalar arasında protein arilasyonu, oksidatif stres, transkripsiyon yollarında meydana gelen değişiklikler, kalsiyum dengesizliği, iltihabi değişikliklere öncülük eden sinyaller ve apoptozis yollarının harekete geçirilmesi sayılmıştır.⁸¹

İlaca bağlı hepatotoksisite intrinsik ve idiyosenkrazik olarak 2'ye ayrılır. Karaciğerde toksisiteye yol açan başlıca mekanizmalardan birincisi intrinsik mekanizmadır.^{76, 77} İntinsik hepatotoksisite mekanizması direkt veya indirekt yolla gerçekleşebilir. Direkt intrinsik hepatotoksisite; ilacın direkt kendisi veya metabolitinin

doza bağılı olarak oluşturduğu hepatotoksisiteden bahsetmektedir. Bu mekanizma doza bağılıdır, aşırı doz ilaç alımı ile ortaya çıkar, önceden tahmin edilebilir ve deneysel çalışmalarla gösterilebilir. Direkt intrinstik etki kimyasal maddeler veya metabolitleri ile hücre ve organellerde yapısal bozukluklar oluşturabilir. İndirekt etkiyle ise bazı metabolik yollarla ilişki kurarak veya immün mekanizmalarla zarar verebilir. İşte parasetamole bağılı oluşan hepatotoksisite de indirekt intrinsik etkiye bağılı gelişen hepatotoksisite nedenleri arasında yer almaktadır.

İkinci mekanizmamız idiyosenkrazik tip, heptotoksisitenin en sık görülen formu olup, kişiye göre önceden tahmin edilemeyecek reaksiyonlarla karakterizedir. Bu tip reaksiyon doza bağılı olmayıp deneysel çalışmalarla gösterilemez. İlaç alımından karaciğer hasarının oluşması arasındaki süre çok uzun olabilir ve diğer karaciğer hastalıklarına çok benzer klinik ve histolojik özelliklere sahip olabilir. Bu yolla etki eden ilaçlara örnek olarak diklofenak ve asetil salisilik asit (ASA) gösterilebilir.^{49, 76, 77}

Parasetamol, bazı kimyasal reaksiyonların aracılık ettiği ve karaciğer epitel hücreleri arasında oluşan etkileşimler sonucunda, karaciğer dokusunda nekroza neden olmaktadır. Bu ajana, “doğrudan hepatotoksin” de denmiştir.⁸⁰

Parasetamol glukoronik asit ve sülfat konjugasyon reaksiyonlarıyla hepatik metabolizmalarla karaciğerde detoksifiye edilir. Ayrıca parasetamol oksidasyon ve sitokrom p450 sistemiyle NAPQI olarak bilinen toksik bir metabolite dönüştürülmektedir.^{46, 82}

Parasetamolün normal dozlarda alımında oksidasyon sonucu oluşan son derece reaktif bir ara ürün olan NAPQI'yı vücut detoksifiye edebilir. Ancak yüksek dozlarda alındığı zaman NAPQI'nın detoksifiye edilme kapasitesi düşmektedir. Bu nedenle detoksifikasyon dışında kalan NAPQI karaciğer hücresi proteinlerine kovalent olarak bağlanarak hepatik nekrozla sonuçlanan hasara yol açar.⁴⁹ Parasetamol oksidasyonu

sonucu oluşan NAPQI'nın detoksifikasyonunda GSH rol almaktadır.⁴⁸ GSH aşırı miktarda açığa çıkan NAPQI molekülünü bağlayamaz ve bunun sonucu olarak artan NAPQI toksik cevabı başlatarak GSH depolarında azalmaya neden olur.⁸¹ Parasetamol toksisitesinin nasıl meydana geldiği konusunda yapılan araştırmalarda çoğu araştırmacı, oluşan NAPQI tarafından mevcut GSH depoları tüketildiğinde, geri kalan reaktif NAPQI'nın hücrel hedef proteinlerin sülfhidril gruplarına bağlanarak toksik etki oluşturduğu yönünde görüş bildirmişlerdir.^{51, 83}

Karaciğerde parasetamolün oksidasyon ürünü olan NAPQI hücrel proteinlerle kovalent bağlar oluşturup, bu proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilmektedir. Bu hücrel bozukluklar ise kalsiyum (Ca^{+2}) ATPaz aktivasyonunda azalmayla birlikte sitolizik Ca^{+2} düzeylerinde atışa neden olur. Hücrel kalsiyum homeostazındaki bu denli bozulmalar, hücre geçirgenliğinin değişimine ve membran bütünlüğünün kaybına yol açabilir.^{6, 84}

Yakın geçmişteki çalışmalarda bazı sitokinlerin ve nitrik oksidin (NO) de bu süreçte rol oynayabileceğine dair bulgular elde edilmiştir.⁸⁵ Karaciğerdeki parankim ve parankimal olmayan hücrelerde nitrik oksit sentaz enzimi arcılığıyla üretilen NO, yüksek reaktif oksidan kapasiteye sahip bir bileşendir.⁸⁶ Karaciğerde fazla miktarda NO üretiminin endotoksin şokunda, karaciğerdeki enfeksiyona ve hasarlanmaya ilişkin diğer modellerde rol oynayan önemli bir unsur olduğu düşünülmüştür.⁸⁷ NO'nun etki mekanizmaları tam olarak bilinmese de, bu bileşenin CYP-450'yi azalttığı, karaciğerdeki proteinlerin DNA sentezini baskıladığı ve hücre ölümünün yanı sıra nekrozu da uyardığı bildirilmiştir.⁸⁸⁻⁹⁰ NO'nun karaciğer üzerindeki etkileri tek yönlü değildir. NO'nun antioksidan etkilerinin olduğuna dair yayınlar da vardır.^{90, 91} Bu etkiler organizmanın içinde bulunduğu duruma göre değişebilmektedir.

Ayrıca başta hidroksil radikali (OH[·]) olmak üzere diğer radikaller de çoklu doymamış yağ asitlerinin yıkılmasına yol açarak lipid peroksidasyonunu başlatıp hücresel hasar oluşumuna neden olabilirler. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA) seviyesindeki artış ise bu doku hasarı göstergelerinden biridir. Oksidatif hasar hücresel düzeyde hücre membran lipidlerinin peroksidasyonu ile sonuçlanır. Bu peroksidasyon sonucunda, hücre membran geçirgenliği, akışkanlığı, elastikiyeti ve yapısal özellikleri bozulur.^{86,92}

Yapılan bazı çalışmalarda inflamatuvar sitokinlerin parasetamol toksisitesini artırdığı rapor edilmiştir. Blazka ve arkadaşları parasetamol toksisitesinde TNF-alfa ve IL1-alfa'nın salgılanmasında artış olduğunu göstermiştir.⁹³⁻⁹⁵ Buna ek olarak Blazka TNF-alfa ve IL1-alfa'nın her ikisinde de selektif olarak kısmi immünonötralizasyonun periyodik bir şekilde toksisiteyi azalttığını göstermiştir.

Histolojik incelemelerde de hepatik nekrozun oluşma sıklığının daha çok CYP-450-MFO (mixed-function oksidaz = karma fonksiyonlu oksidaz sistemi) aktivitesinin görüldüğü sentrolobüler bölgede olduğu gösterilmiştir.⁹⁶ Karaciğer GSH kaynaklarındaki kişisel farklılıklar, GSH'ın yeniden yapıma kapasitesi, CYP-450-MFO aktivitesi ve spontan kusmalar toksisiteyi etkilemektedir. Çocuklarda karaciğer hasarı yetişkinlerden daha az görülür. Bunun nedeni parasetamolün metabolizmasındaki farklılıktır.^{97,98} Kronik uygulamada fenitoin, barbitürat, antihistaminikler ve diğer sedatifler CYP-450-MFO sistemini uyararak toksisiteyi artırabilir.^{97,99}

Yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda parasetamole bağlı gelişen hepatotoksistide kronik olarak kullanılan diğer ilaçların da additif etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu ilaçlar arasında antikoagülan ilaçlar¹⁰⁰, antitüberküloz ilaçlar özellikle de izoniazid ilk sırada yer almaktadır. Ayrıca antiviral ilaçlar (zidovudin ve lansoprazol) da¹⁰¹ toksistide additif etkileşme yapabilmektedirler.

Uzun süreli açlık GSH depolarını boşaltarak ve CYP2E1 aktivitesini artırarak parasetamole bağılı gelişebilecek hepatotoksisitenin şiddetlenmesine veya erkenden oluşmasına neden olabilmektedir.¹⁰² Aynı şekilde kronik alkol alımı da CYP2E1 aktivitesini artırarak ve glutasyon depolarını tüketerek kişilerin parasetamol hepatotoksisitesine duyarlılığını artırabilir.¹⁰³

Parasetamolün akut alınan yüksek dozunu takiben hepatotoksisite ile nadiren böbrek yetmezliği görülebilir.⁹⁹ Pankreatit ve diffüz myokardial nekroz bildirilen vakaların yanı sıra çok yüksek doz alan hastalarda nadiren koma ve metabolik asidoz bildirilmiştir. Nefrotoksisite reaktif parasetamol molekülüne bağılı gelişmektedir. Diğer atipik hasarların etiyojisi ise bilinmemektedir.¹⁰³

2.5.1. Klinik Bulgular

Parasetamol toksisitesi semptom ve bulguları spesifik değildir. Klinik belirtileri hafif gastrointestinal bozukluktan, halsizlik ve konfüzyona kadar uzanan geniş bir yelpazeye sahiptir.^{104, 105} Hasta anamnezi ve fiziksel muayenesi bizlere karaciğer hasarı altında yatan sebepler hakkında ipucu verebilir.^{106, 107}

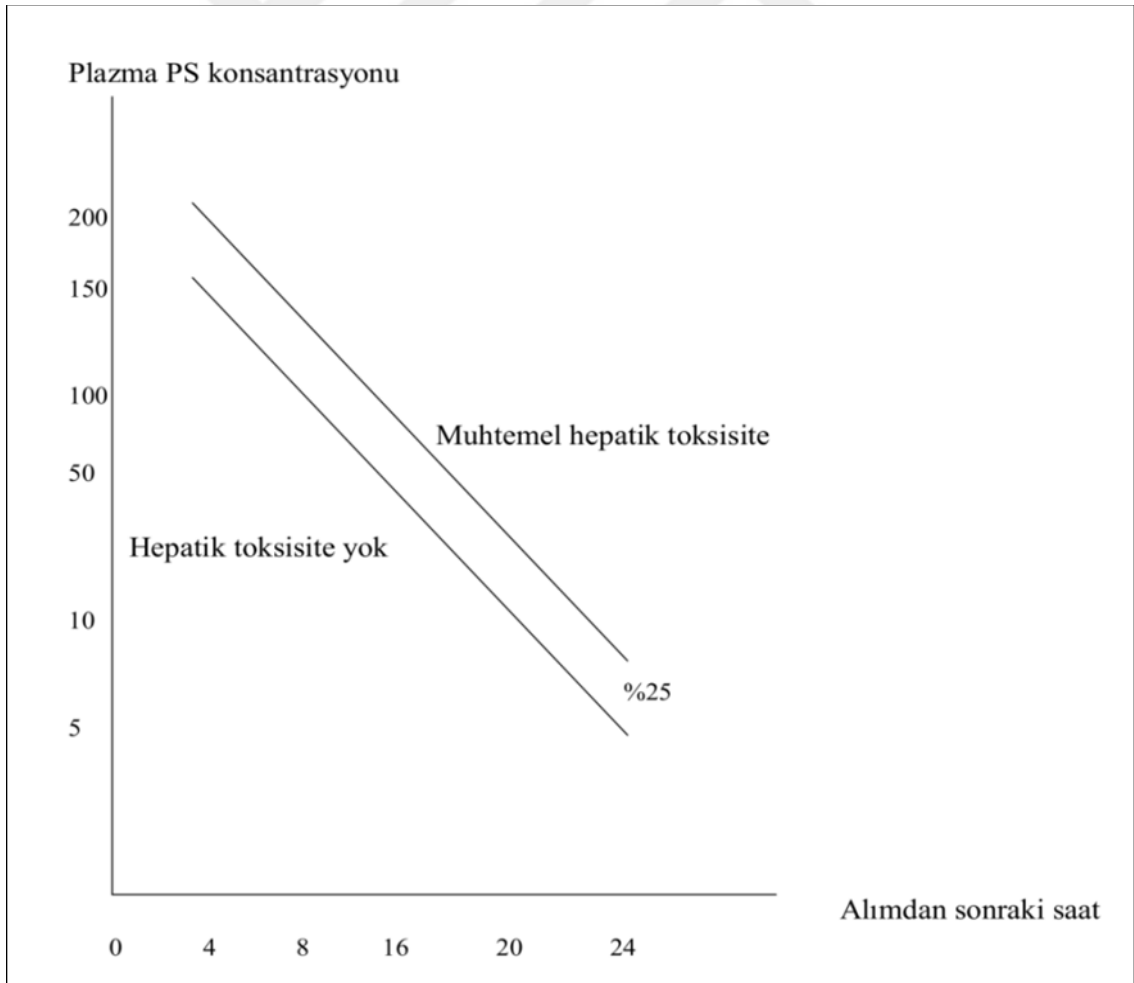
Parasetamol toksisitesine bağılı olan bulantı, kusma ve ağrı gibi abdominal şikayetler, hastanın geçirmiş olduğu soğuk algınlığı ve baş ağrısı ile ilişkilendirilerek tanıda gecikmeye neden olabilir. Bu gibi durumlarda karaciğer hasarının biyokimyasal olarak tanılamaya çalışıldığında dahi 24-36 saate kadar anormal bulgular görülmeyebilir. Bu yüzden parasetamolün aşırı doz alınması durumunda belirti ve bulgu beklenmeden antidot tedavisine başlanmalıdır. NAC ile antidotal tedavi eğer 24 saat içinde başlatılırsa karaciğer nekrozu azaltılabilir veya önlenir.¹⁰⁸

2.5.2. Teşhis

Zehirlenme teşhisinde en etkili yol kandaki parasetamol seviyesini tespit etmektir. Yüksek doz parasetamol alan hastalarda, alımdan sonraki 4-24 saat arasında

kandaki parasetamol konsantrasyonu ölçülüp, her geçen saat ve serum parasetamol miktarı baz alınarak toksisite riski Rumack-Matthew nomogramı ile değerlendirilebilir. Bu değerlendirme; eğer potansiyel bir toksik doz alımı veya bilinmeyen bir miktarda alım varsa mutlaka yapılmalıdır.¹⁰⁹

1975 yılında Rumack ve Matthew tarafından geliştirilen bu nomogramda, tedaviye başlamayı gerektirecek 24 saatlik toksik plazma parasetamol konsantrasyonu, alımın 4. saatinde 200 mg/L, 15. saatinde ise 30 mg/L olarak belirlenmiştir. Orijinal tedavi sınırının belirlenmesinde karaciğer enzim yüksekliği önemli kriterlerden birisidir. Bu orijinal tedavi sınırları ABD ve Kanada'da %25 oranında düşürülmüş olup 4. saatte 150 mg/L, 12. saatte 37.5 mg/L olarak tanımlanmıştır.⁹⁹



Şekil 2.3. Rumack-Matthew Nomogramı⁹⁹

Rumack-Matthew Nomogramı ALT ve AST değerlerinin 1000 IU/L'nin üzerinde olma olasılığını gösterir. Fakat yaşam veya ölüm hakkında bilgi vermez. Bu nomogram alkolik olmayan ve başka bir karaciğer hastalığı olmayan hastalarda uygulanmıştır.¹¹⁰

Parasetamol toksisitesindeki semptom ve bulgularını ilaç alımından itibaren zamana bağlı olarak 4 aşamada faz 1 (ilk 24 saat), faz 2 (24-72 saat), faz 3 (72-96 saat) ve faz 4 (4-14 gün) olarak değerlendirmenin daha doğru bir davranış olacağı, yanlış teşhis ve tedaviyi en aza indireceği düşünülmektedir.

Faz 1'de karın ağrısı, diare, iştahsızlık, terleme, bulantı, kusma ve letarji görülür. Karaciğer fonksiyon test sonuçları normaldir veya değerler minimum seviyede bozulmuştur.¹¹¹

Faz 2'de semptomlar geçici olarak iyileşmekte ve biyokimyasal değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu biyokimyasal değişiklikler içinde ise en önemlileri transaminaz ve bilirubinlerin yükselmesi iken ayrıca uzamış protrombin zamanındaki uzama da önemlidir. Faz 2'nin sonlarına doğru ise sarılık, hepatomegali, sağ üst kadranda yerleşmiş ağrı ve hassasiyet dikkati çekmektedir.

Faz 3'de ise bulantı-kusma yeniden ortaya çıkar ve daha da kötüleşir. Sarılık fizik muayenede rahatlıkla tespit edilir haldedir. Bu semptomlara halsizlik, konfüzyon, uyku hali veya koma gibi santral sinir sistemi bulguları eklenir. Bu bulgular faz 3'ün önemli bulguları olup bu noktadan sonra çok hızlı hareket edilmesi gerektiğini gösterir. Toksikiteye bağlı ölüm genellikle bu aşamada gözlenir. Karaciğer fonksiyon test sonuçları bu safhada maksimum seviyelerine çıkmış olup ALT ve AST düzeyleri genellikle 10.000.000 IU/ml'den yüksektir.^{6, 112} Hastaların %25'inde dehidratasyon ve tübüler nekroza bağlı akut böbrek yetmezliği görülür. Gebelerde akut alımı takiben fetal ölüm ve spontan abortus bildirilmiştir.

Faz 4 ise karaciğer hasarının düzeldiği ve enzimlerin normale döndüğü dönem olup tam iyileşme 3 ay kadar sürebilmektedir. Akut karaciğer hasarı gelişmiş hastaların %70'i faz 4'e girip tam iyileşme gösterir.^{95, 113, 114}

2.5.3. Tedavi

Tüm toksikasyon tedavilerinde olduğu gibi parasetamol toksisitesinde de ilk önce hastanın havayolu açıklığı sağlanır, solunum ve dolaşım fonksiyonları değerlendirilip desteklenir. Öncelikli amacımız ise parasetamolün emilimini azaltmak, kandaki konsantrasyonunu en kısa sürede optimum düzeye indirmek, toksik metabolitin miktarını azaltmak ve/veya toksik metabolitini detoksifiye etmektir. Daha sonra gastrik dekontaminasyon, aktif kömür, barsak irrigasyonu, antidot ve eliminasyon gibi tedavi uygulamaları değerlendirilir.¹⁰³

Parasetamol alımından sonraki geçen zaman, yukarda ifade etmiş olduğumuz tedavi yöntem ve uygulamalarını belirlemede çok önemlidir. Şöyle ki, kısa zaman önce alınan parasetamol toksisitesinde emilim azaltımından başlamak en uygun yaklaşım olmakla beraber eğer alımdan sonra uzun zaman geçmişse toksik metabolitin atılım ve detoksifikasyonundan başlamak oldukça akılcı bir yaklaşım olacaktır. Bu süreçte alınan tetkiklerde kandaki parasetamol konsantrasyonu nomogram üzerinde değerlendirilmelidir. Eğer parasetamol alımının zamanı bilinmiyor ya da 24 saatten fazla zaman geçmiş ise gastrointestinal kontaminasyonun gerekli olup olmadığı belirlenmelidir. Bu tespit için karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT) çok önemlidir. İpeka şurubu ile kusturma, gastrik lavaj ve aktif kömür uygulaması ilk birkaç saatte yapılması gereken ve absorpsiyonu önlemede oldukça faydalı yöntemler topluluğu olup hayat kurtarıcı olabilmektedir.^{115, 116} Parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI'nin etkisiz hale getirilmesinde NAC, methionin ve simetidin kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda simetidin ile birlikte NAC kullanımının yararlı bir etki göstermediği

görülmüştür.¹¹⁷ Yapılan klinik çalışmalarda her 3 madde de hepatotoksisiteyi engellemesine rağmen methionin ve sistiamin uygulamalarında daha fazla santral sinir sistemi ve gastrointestinal yan etkiler görülmüştür. Bundan dolayı NAC parasetamol toksisitesine bağlı gelişen akut karaciğer hasarında en iyi antidot olarak seçilmiştir.¹¹⁵ NAC tedavisine ihtiyaç duyulan tüm hastalar tedavi tamamlanana dek klinik yatışı sağlanmalıdır.¹¹⁸

2.5.3.1. N-Asetil Sistein (NAC)

NAC; L-sisteine asetil eklenmesi ile oluşan bir amino asit türevidir. İlk önce 1960'lı yıllarda mukolitik ajan olarak tanımlanmış olup, akut parasetamol zehirlenmesindeki koruyucu etkileri daha sonraki yıllarda ortaya çıkarılmıştır.^{119, 120}

İlk olarak Prescott ve Matthew tarafından 1974 yılında yapılan çalışmada NAC'ın parasetamol toksisitesinde kullanılabileceğini gösterilmiştir ve 1977 yılında da 15 hastada etkinliği ispat edilmiştir.^{121, 122}

Parasetamol toksisitesinin tedavisindeki ana dayanağımız NAC'tır ve seçkin bir antidot olarak bilinmektedir.¹²³ Oral NAC uygulaması 1985'de, intravenöz NAC ise 2004'te toksik doz parasetamol alımı sonrasında karaciğer hasarını azaltmak için FDA tarafından onaylanmıştır.^{124, 125}

NAC'ın birkaç tane koruyucu mekanizma üzerinden etki ettiği düşünülmektedir. NAC hücreye girdikten sonra sisteine metabolize olur. Sistein ise bir GSH prekürsörüdür. Parasetamol toksik metaboliti NAPQI'nın detoksifikasyonu için de GSH'nin yüksek konsantrasyonları gerekir. Böylelikle NAC, GSH miktarını artırıp NAPQI ile bağlanmasını sağlayarak bu toksik metaboliti zararsız hale getirir. NAC sülfat sentezinde de rol almaktadır. Parasetamolün sülfat konjugasyonunun artmasını sağlayarak, sülfat konjugasyon yolunun doymasını engeller.^{11, 96} Ayrıca NAC lokal nitrik oksit (NO) miktarını artır ve mikrosirkülatuar dolaşım üzerinde vazodilatör etki

yapar. Bu mikrovasküler etkiler sayesinde toksisitede durumunda dahi mortalite ve morbiditede azalma görülür.

NAC eğer yeterli miktarda ve en kısa sürede uygulanırsa parasetamole bağlı gelişebilecek karaciğer hasarını önleyebilmektedir.¹²⁶ Eğer tedaviye yüksek doz parasetamol alımından sonraki 4-8 saat içinde başlanmış olursa NAC hepatotoksisiteyi önlemede neredeyse %100 etkilidir. Tedavi 8 saatten fazla gecikirse hepatotoksisite gelişme riski artar. Buna rağmen parasetamol alımından 24 saat sonra NAC tedavisi başlandığında bile hepatotoksisite riski daha düşüktür.

Uygulamaya gelecek olursak, 72 saatlik per-oral tedavide NAC 140 mg/kg'lık yükleme dozu %5 solüsyon içerisinde oral verildikten sonra her 4 saatte bir 70 mg/kg oral olarak verilmelidir. Bu idame doz 17 kez tekrar edilmelidir. Oral tedavinin mümkün olmadığı durumlarda ise intravenöz tedavi; 150 mg/kg NAC 200 ml'lik % 5 dekstroz mayii içinde 15-60 dakikada verilir. Akabinde 50 mg/kg NAC 500 ml'lik %5 dekstroz solüsyonunda 4 saatte daha sonra da 100 mg/kg NAC 1000 ml'lik %5 dekstroz içinde 16 saatte uygulanarak 20-21 saatlik tedavi protokolü sonlandırılır.¹²⁷

Oral ve paranteral tedavi arasında karşılaştırmalı biçimde geniş bir çalışma yapılmamakla beraber oral uygulamanın daha çok yan etkisi olduğu gösterilmiştir. Oral uygulamada karın ağrısı, kusma, diare ve döküntüler görülebilmekle beraber paranteral uygulamada ise nadirde olsa anaflaktik reaksiyonlar görülmüştür.¹¹⁵ Anaflaktik reaksiyon insidansı %3 ile %6 arasında değişmektedir.¹²⁸

Bu uygulamalar arasındaki etkinlik karşılaştırmasında ise bir farklılık olmadığı fakat paranteral uygulamada hastanede kalma süresi daha az olduğundan dolayı tercih edilebilir olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca eğer toksisite tanılı hastanın anamnezinde anaflaktik reaksiyon hikâyesi varsa oral NAC tedavisi tercih edilmelidir. NAC tedavisinin başlamasında ve sonlandırılmasındaki en önemli ölçüt serum parasetamol

miktardır. Bu arada toksisitenin şiddetini gösteren arterial pH, PT (protrombin), serum kreatinin, hemoglobin ve serum amilaz seviyeleri de oldukça önemlidir.¹²⁹

Hastaneye başvuran hastaların kan parasetamol konsantrasyonu 4 saatte hepatotokisiteye neden olabilecek kan seviyesine ulaşmamış ise tedavi verilmeden taburcu edilebilmektedir. Tedavi altındaki hastaların kan parasetamol seviyesi (10-18 µg'ın altına) aşağıya düşmüşse tedavi sonlandırılabilir. Eğer koagülopati gelişmiş veya kreatinin seviyesi yüksekse günlük kreatinin takibi yapılmalı, normal seviyelere gelene kadar 150 mg/kg günlük doz NAC tedavisi devam ettirilmelidir.

Gebelerde görülen parasetamol toksisitesinde ise NAC kullanılmakta olup; umbilikal kord kanında tespit edilmiştir.¹³⁰ Yapılan bir çalışmada NAC tedavisi geciken hamilelerde ölü doğum oranının arttığı görülmüştür, bu nedenle gebelerde de ivedilikle NAC tedavisine başlanmalıdır.¹³¹

2.5.3.2. Aktif Kömür Uygulaması

Parasetamol toksisiteli hastalarda ilk 4 saat içerisinde aktif kömür uygulaması, NAC tedavisinden dahi öncelikli ilk basamak tedavi olarak önerilir.^{127, 132} Yapılan son çalışmalar ise aktif kömür tedavisinin yüksek doz parasetamol alımından sonraki ilk bir saatte yapılmasını desteklemektedir.^{133, 134} Gastrik lavaj, ipeka şurubu ve aktif kömür uygulamaları arasında yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada; aktif kömür uygulamasının kan parasetamol düzeyini diğer yöntemlere göre daha büyük oranda azalttığı gösterilmiştir.¹¹⁶ Aktif kömür uygulaması tek doz 1 g/kg oral olarak verilir. Yapılan çalışmalarda bölünerek verilen dozlar ile tek doz uygulaması arasında bir farklılık bulunamamıştır.

Parasetamol toksisitesi ile gelen hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda mide lavajı sonrası aktif kömür verilmesiyle, tek başına aktif kömür verme arasında fark

bulunmamıştır. Yalnız Spiller ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada mide lavajı sonrasında aktif kömür uygulamasının fayda sağlayacağı bildirilmiştir.¹³⁴

2.5.3.3. Simetidin

CYP2E1 enzimi tarafından metabolize olan simetidin parasetamol intoksikasyonundaki koruyucu rolü yıllardır tartışmalıdır. Parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI'nın oluşumunu P450 izoenzimlerini direkt inhibe ederek hepatotoksisiteyi azaltması beklenir. Yapılan çalışmalarda bu etkisi gösterilmiştir.^{135, 136} Slattery ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada parasetamol alımından 8 saat sonra 300 mg simetidin kullanımının NAPQI üretimini azaltmadığını göstermiş olup simetidin uygulamasının erken saatlerde başlanmasının gerektiğini düşündürmektedir.^{117, 137}

Bazı çalışmalarda simetidin NAC'a alternatif olarak kullanılabilceği desteklenmiştir.¹³⁸ Rutin klinik uygulamalarda ise simetidin birçok ilaçla istenmeyen farmakokinetik etki gösterdiği için artık pek kullanılmamakta ve Türkiye'de müstahzarı bulunmamaktadır.¹³⁹

2.5.3.4. Dializ

Parasetamol toksisitesi tedavisinde parasetamol'ün ekstrakorporel eliminasyonu tartışmalı ve mevcut veriler karışık durumdadır.¹⁴⁰ Hemodializ; şiddetli parasetamol toksisitesinde kullanılmıştır fakat hemodializin hepatotoksisiteyi önlediğini veya azalttığını gösteren güvenilir bir veri elde edilememiştir.¹⁴⁰ Hemodializin bu toksikasyonda yararlı olamamasının en önemli nedeni ise yüksek doz alınan parasetamolün karaciğere hemen uğrayıp hasara başlaması olabilir.¹⁴¹ Parasetamol toksisitesinde; ventilasyon destek ihtiyacı, alkali diürezin sağlanamaması ya da alkali diürez ve yoğun bakım tedavisine rağmen klinik kötüleşme gibi endikasyonlar hemodiyalizi gerektirmektedir.¹⁴²

2.5.3.5. Karaciğer Transplantasyonu

Akut karaciğer yetmezliği geliştiğinde, genel destek tedavisi uygulamalarının yanı sıra karaciğer transplantasyonu için de hazırlıklar başlatılmalıdır. Çok az parasetamol toksisitesi gelişmiş hastada karaciğer transplantasyonu gerekmemektedir. Karaciğer transplantasyonu parasetamol toksisitesine bağlı gelişmiş olan yaygın karaciğer hasarında altın standart tedavi yöntemidir.¹⁴³ Transplantasyondan sonra irreversible ve ömür boyu süren bir immünosüpresif tedavi gerekmektedir.¹⁴⁴ AHH gelişmiş hastalarda karaciğer transplantasyonu gerekip gerekmediğini King College Hospital (KCH) kriterlerine göre belirlenip buna göre hastaların yol haritası çizilmektedir.¹⁴⁵ KCH kriterlerine değinecek olursak pH'ın <7.3 olması, protrombin zamanının <100 sn olması, serum kreatinin seviyesinin >300 mikromol/l olması ve hastaların faz 3 veya faz 4 ensefalopatik olmasıyla değerlendirilmektedir.¹⁴⁶ Bu kriterlerin spesifitesi çok iyi olmasına rağmen zayıf sensitivitesi bulunmaktadır. Transplantasyona karar verildiyse eğer bir an önce yapılmalıdır.

2.5.4. Prognoz

Parasetamolün aşırı doz alımından sonra hepatotoksisite gelişmiş veya gelişmemiş hastaların %90'ı tam anlamıyla şifaya ulaşır.⁴¹ Hepatotoksisite gelişmiş hastaların %80'i ilk 12 saatte NAC uygulaması ile iyileşmiş olup NAC verilmediğinde ise bu iyileşme %48'lerde kalmaktadır.¹⁴⁷ Ayrıca NAC alan hastalarda almayanlara oranla koma gelişme olasılığı 3/4 oranında daha az bulunmuştur.¹¹⁹ KCH kriterlerini tam olarak karşılamayan hastaların %90-93'ü sağ kalmaktadır.

Parasetamol alımından sonraki ilk 24 saatte hastane yoğun bakımlarında tedavi altına alınanların sağkalım oranı daha sonraki zaman periyodunda gelenlere göre oldukça yüksektir. Hepatik ensefalopatinin derecesi arttıkça sağkalım oranı azalmaktadır.¹⁴⁷ Serum kreatinin seviyesi ve protrombin zamanı ile sağkalım arasında

çok güçlü bir korelasyon bulunmaktadır.¹⁴⁸ Bu değerler yükseldikçe sağkalım oranı düşmektedir. Parasetamolle indüklenen karaciğer hasarında karaciğer transplantasyon ihtiyacı diğer nedenlerle oluşan karaciğer hasarındaki transplantasyon ihtiyacından oldukça düşüktür.¹⁴⁹ Karaciğer transplantasyonun yapılmadığı zaman sağkalım oranı % 65-73 arasında değişmektedir.¹⁵⁰ Parasetamol zehilenmesinde tedavi edilmeyen hastaların %1-2'si ölümcül karaciğer yetmezliğine girer. Parasetamol doz aşımında herhangi bir müdahale yapılmaz ise 4-18 gün içinde ölüm gerçekleşir.^{41, 113, 114}

2.6. Renin ve Fizyolojik Önemi

İlk direkt renin inhibitörü aliskirenin keşfi ve RAAS' a eklenmesi ile oldukça eski olan renin inhibisyonu konusunun yeniden ele alınmasını gerekli kılmıştır. RAAS, iltihaplanma, oksidasyon, fibroz, proliferasyon, apoptoz, sıvı ve elektrolit dengesini düzenleyen birçok biyolojik etkiye sahiptir.¹⁵¹

RAAS, Tigerstedt ve Bergman'ın 1898'de yaptığı çalışmalarla, klasik olarak kan basıncı ve sıvı-elektrolit dengesini düzenleyen hormonal ve peptiderjik endokrin bir sistem olarak ortaya çıkarılmıştır.^{152, 153} RAAS kan basıncının düzenlenmesinde koordine şekilde çalışan bir seri enzimler zinciridir.¹⁵⁴

RAAS'ın ilk molekülü olan renin böbrek efferent arteriyollerinde bulunan justglomerular hücrelerinden prorenin olarak sentezlenir. Prorenin, reninin enzimatik aktivitesi olmayan öncülünü temsil etmektedir. Prorenin, aktif renine dönüşür. Aktif renin sekretuar granüllerde depo edilir ve ihtiyaç halinde sistemik dolaşıma verilir.¹⁵⁵ Dolaşıma verilmiş olan bu renin, vücutta büyük çoğunluğu karaciğerden sentez edilen anjiyotensinojenden anjiyotensin I (Ag I) üretimini sağlar. Anjiyotensinojenaz olarak da isim verdiğimiz renin bu sistemin ilk enzimidir. Böylelikle sistemin de hız kısıtlayıcı basamağı tam da bu noktada olmuştur.¹⁵⁶ AgI çoğunlukla böbrek ve akciğerde bulunan anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) sayesinde anjiyotensin II (Ag II) ye hızlı bir

şekilde dönüştürülür. Böylece RAAS'ın etkin olduğu ve çok fonksiyonel işlevlere sahip olan AgII üretilir.

Ag II'nin; damar düz kaslarının direkt kasılmasıyla kan basıncının yükseltilme, miyokardiyal kontraktilitenin artırılma, adrenallerden aldosteron salınımının uyarılmasıyla su ve tuz retansiyonunu sağlama, sempatik sinir uçlarından katekolaminin salınımını uyarma, hücre büyüme ve proliferasyonu gibi vücutta birden fazla görevi bulunmaktadır.¹⁵⁷ Geçmişte yapılan çalışmalarda RAAS'ın çeşitli basamaklarda inhibisyonu olduğu ve bu inhibisyonun morbidite ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir.¹⁵⁸

2.6.1. Reninin Karaciğerdeki Yeri

Yaklaşık otuz yıldır varlığından haberdar olduğumuz RAAS'ı sadece kan basıncı ve sıvı-elektrolit dengesini düzenleyici bir endokrin sistem olarak biliyorken artık günümüzde gelişen teknoloji ve moleküler biyoloji sayesinde bu sistem hakkındaki bilgilerimiz daha da artmış olup, RAAS'ın sadece dolaşımda bulunmakla kalmayıp lokal olarak organ sistemlerinde de bulunduğu ve bu bölgelerde otokrin/parakrin fonksiyonlarının olduğu saptanmıştır¹⁵⁹⁻¹⁶¹

Dokulardaki renin seviyesi ve RAAS aktivitesi dolaşıma göre daha yüksektir.¹⁵⁸ Yapılan bir çalışmada da plazma renin konsantrasyonunun karaciğer fonksiyon bozukluğu ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir.¹⁶² Renin anjjiyotensin aldosteron sisteminin en önemli medyatörü olan Ag II'nin artması kronik karaciğer hasarında hepatik inflamasyon ve fibrozisi artırır¹⁶³⁻¹⁶⁵ Ag II'nin karaciğer fibrozisi patogenezinde önemli bir molekül olduğu bilinmektedir.^{166, 167} Ayrıca Ag II vasküler yapılarda NADPH oksidaz ve xanthine oxidase (XO) gibi serbest radikal öncülü enzimleri salar ve serbest radikallerin dokudaki miktarının artmasına sebep olur.^{168, 169} Ag II, hepatik oksidatif stresi de artırır.^{164, 165}

Son yıllardaki çalışmalar, Ang II sentezi dışındaki enzimler, öncü bileşenler için yeni rollerin ve Ag II neslinin alternatif yolları, biyolojik yeni aktif peptidler, ek spesifik reseptörler ve fonksiyonel lokal sistemlerin keşfedilmesi ile RAAS'ın anlaşılmasında değişimler sunmuştur. Bir çalışmada son ürün olan Ang II ile ADE ve Ang II'nin biyolojik etkilerine aracılık eden ana efektör olarak anjiyotensin tip 1 reseptöründen oluşan eksenden bahsedilmiştir. Deneysel ve klinik çalışmalar RAAS'ın karaciğer hastalıklarının patogenezinde rol oynayabileceğini göstermiştir.¹⁷⁰

2.6.2. Renin İnhibitörleri

RAA sisteminin klinik olarak blokajı 1970'lerde anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri(ADE-İ), 1990'larda ise anjiyotensin II reseptör blokörleri(ARB)'ler yoluyla yapılmıştır. ADE-İ, ARB ve diüretiklerin prorenin, renin ve plazma renin aktivitesi(PRA) düzeylerini artırdıklarından RAAS etkilerinin baskılanmasında renin-anjiyotensin-aldosteron kaskadının ilk basamağı olan renin inhibisyonunun RAAS'ın blokajında önemli bir alternatif olacağı düşünülmüştür.^{158, 171, 172}

1950'li yıllardan beri ise RAAS'ın ilk hız belirleyici basamağının renin inhibisyonu olduğu bilinmesine rağmen biyoyararlanımı yüksek ve klinik olarak etkili olan bir direkt renin inhibitörü üretimi teknik nedenlerden dolayı çok uzun sürmüştür.¹⁷³

Yapılan araştırmalar süresince Pepstatin, Norstatin, Difluorostatin, Cylostatin, Enalkiren, CGP 38 560, Remikiren, Zankiren, Ciprokiren ve Terlakiren gibi bazı direkt renin inhibitörleri keşfedilmeleriyle birlikte klinik olarak denenmişlerdir.¹⁷⁴⁻¹⁷⁹ Fakat bu renin inhibitörleri klinik olarak etkili olmadıkları için yani; zayıf antihipertansif etki, düşük oral biyoyararlanım ve kısa etki süresi gibi olumsuz nedenlerden kullanıma girememişlerdir.¹⁸⁰ Yine de intravenöz uygulamada en güçlü Remikiren ile Enalkiren, oral uygulamada ise en güçlü FK- 906, A- 74273, Zankiren'in olduğu görülmüştür.

Moleküler ağırlığı 551.8 g/mol dır.¹⁸⁵ Aliskirenin aktif formu hemifumarat tuz şeklindedir.^{181, 188} Aliskiren, RAAS'ni selektif olarak hız kısıtlayıcı ve güçlü bir direk renin inhibitörüdür.¹⁸⁹ Esansiyel olarak antihipertansif bir ilaç olan aliskiren direk renin inhibitörüdür. Kanın PRK'nu düşürerek RAAS'ı hız kısıtlayıcı basamakta negatif yönde etkiler. Aliskiren sağlıklı insanlarda 40-640 mg arası dozlarda kullanıldığında doza bağlı olarak PRA'nu azaltmaktadır. Aliskirenin maximum plazma konsantrasyonuna oral emiliminden yaklaşık olarak 3-6 saat sonra ulaşır. Biyoyararlanım seviyesi yaklaşık %2-3, plazma yarılanma ömrü ise 25-40 saat arasındadır. Plazmadaki kalıcı sabit konsantrasyonuna yaklaşık olarak 5-8 gün sonunda ulaşır. Aliskirenin atılımı ise metabolize olmayan ilaçlar gibi safra atılım yolu ile sağlanmaktadır. Oral olarak kullanılan aliskiren'in %1'in den daha azı idrarla atılır.¹⁹⁰ Toplam oral doz miktarının yaklaşık olarak %1.4'ü bağırsaktaki CYP 3A4 enzimi ile metabolize olmaktadır.¹⁹¹

Yüksek yağ içerikli öğünler maksimum konsantrasyon (Cmax) değerini %85'e ve eğri altındaki alan (EAA) değerini %70'e düşürmektedir.¹⁷¹ Konsantrasyonundan bağımsız bir şekilde aliskiren'in yaklaşık olarak %47-51'i insanlarda plazma proteinleri tarafından bağlanır.¹⁸⁸ Devam ettirilen ilaç uygulamasında, hastalarda aliskiren seviyesi böbrekte plazmadakinden daha yüksek görülür ve ilaca devam edilirse 3 hafta sonunda böbrekteki seviyesi ölçülebilirken plazmada bu mümkün değildir.¹⁹²

2.7.2. Aliskirenin Endikasyonları ve Yan Etkileri

Aliskiren, RAAS'ı hız kısıtlayıcı basamakta direk inhibe eden bir enzimdir. RAAS'ın ilk molekülü olan renin böbrek efferent arteriyollerinde bulunan glomerular hücrelerinden sentezlenmektedir. Renin sekretuar granüllerde depolanır ve ihtiyaç duyulduğu zamanlarda sistemik dolaşıma salınır. Dolaşıma verilen renin, karaciğerden sentez edilen anjiyotensinojenden Ag I meydana gelmesini sağlar. Çoğunlukla akciğer

ve böbrekte bulunan anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE), Ag I'i Ag II'ye hızlı bir şekilde dönüştürür. Ag II renin anjiyotesin sisteminin en etkin medyatörüdür.

Renin, vücutta kan basıncından sorumlu ve düzenleyici bir sistem olan RAAS üzerinde büyük bir role sahiptir. Bu enzim aspartik proteazlar ailesinin bir üyesidir ve anjiyotensinojenden Ag I üretimini sağlamaktadır. Ag I kendi başına inaktif bir madde olmasına rağmen ADE sayesinde aktif hale geçerek Ag II'ye dönüşür. Anjiyotensinojenin Ag I'e dönüştüğü kısım ise sistemin hız kısıtlayıcı basamağını oluşturur. Böylelikle renin, kan basıncının düzenlenmesi noktasında sistem üzerinde çok kritik bir rol almış olur.¹⁹³ Aliskirenin %50 inhibitör klirensi (IC₅₀) saf insan renini ve insan plazma renini için 0.6 nmol/l dir.¹⁸⁵ Aliskiren sağlıklı insanlarda 40-640 mg arası miktarlarda alındığında doza bağlı olarak Ag I, Ag II ve plazma renin seviyelerinde azalma gösterdiği belirtilmiştir. Aliskiren, ARB' ne göre PRA'nu daha çok azaltmaktadır. Aliskiren'in hipertansiyon hastalarında kullanılan 300mg/kg günlük dozu PRA'nu yaklaşık %50-80 azalttığı saptanmıştır.^{194, 195}

Aliskiren plazmadaki renin, Ag I ve Ag II seviyelerini 48 saat içerisinde azaltır.^{196, 197} Aliskirenin 80 mg ve daha fazla dozu üriner aldosteron seviyesini azaltırken, 640mg dozuyla sodyum çıkışı %91 oranında arttığı gözlemlenmiştir. Aliskireni valsartan ile kıyasladığımız zaman dolaşımdaki renin seviyesini de kuvvetli şekilde düşürdüğü belirtilmiştir. Ayrıca üriner aldosteron salınımını da uzun vadede azalttığı ortaya çıkarılmıştır.¹⁹⁶

Kan damarı duvarlarında bulunan reninin çoğu plazma kaynaklıdır.¹⁹⁸ Yapılan bir çalışmada renin inhibitörü olarak, ADE inhibitörü kullanılmış ve çalışma sonunda damardaki Ag II baskılanmış¹⁹⁹ ve vasküler yapıda iyileşme olduğu tespit edilmiştir.²⁰⁰ Ancak bu deneysel çalışmada deneysel çalışmada renin inhibisyonunda aliskiren kullanılmadığı için aterogeneziste nasıl bir etkiye sahip olduğu belirtilmemiştir.

Anjiyoödem, diare ve diğer gastrointestinal semptomlar, baş ağrısı, baş dönmesi, öksürük, ciltte döküntü ve kaşıntı, ürik asit seviyesinde artış, gut, böbrek taşı aliskirenin yan etkilerindedir. Ayrıca aliskiren diğer inhibitörlerle (ARB ve ADE-İ) birlikte kullanıldığı zaman ödem oluşumu tehlikesi daha da artar.¹⁸⁷

2.8.Serbest Radikaller

Bir ya da daha fazla paylaşılmamış elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız ve molekül ağırlığı düşük atom veya moleküller serbest radikaller olarak tanımlanmaktadır. Stabil moleküllerin dış orbitalinde birbirine aksi yönde dönen elektron çiftleri vardır. Serbest radikaller elektron çiftlemek için diğer moleküllerle reaksiyona girme eğilimindedirler.²⁰¹ Bu elektron alma ihtiyacı, serbest radikalleri oldukça reaktif bir hale getirir.²⁰²

Biyolojik sistemler içinde en çok önemsenmesi gereken serbest radikaller oksijen kaynaklı radikallerdir. Oksijen atomu, eşleşmemiş elektron çiftine sahiptir. Bu nedenle kararsız yapıdaki moleküller, oksijenin redüklenmesiyle süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, singlet oksijen ve hidroksil radikali gibi serbest oksijen radikallerini oluşturmaktadır.^{201, 203}

2.8.1. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest oksijen radikallerinin oluşumu enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, yüksek oksijen basıncı, ozon ve azot dioksit, kimyasallar ve ilaçlar gibi uyarıların etkisiyle artmaktadır. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi birçok önemli bileşenlerine etki etmektedirler.

Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu): Lipidler serbest radikallerin olumsuz etkilerine karşı en dayanıksız biyomoleküllerdir. Biyolojik sistemlerdeki kolesterol ve doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile oksidasyonu, lipid peroksidasyonu olarak adlandırılmaktadır. Lipid peroksidasyonu

oldukça zararlı bir zincir tepkimesidir. Oluşan perksidasyon ürünleri direkt olarak hücre membran stabilizasyonunu ortadan kaldırarak, hücre elemanlarına zarar verir.²⁰⁴

Proteinlere Etkileri: Proteinler lipidlere oranla serbest radikallerden daha az etkilenirler. Proteinlerin etkilenme düzeyleri içerdikleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış halde bulunan ve sülfür içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asit içeren proteinler ise serbest radikallerden daha kolay etkilenmektedirler. Bu reaksiyonun sonucunda ise karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri oluşur. Bu serbest radikallerin istenmeyen reaksiyonları sonucu immünoglobulin G ve albümin gibi yapılarında çok fazla disülfid bağı bulunduran proteinlerin tersiyer yapıları bozulur ve normal fonksiyonlarını yerine getiremezler.²⁰⁵⁻²⁰⁸

Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri: İnsan DNA'sının bütünlüğü farklı DNA hasarlarına yol açan ultraviyole, X-ışınları, kimyasal bileşikler gibi çevresel faktörlerin etkisiyle ve aynı zamanda hücrel metabolizmanın yan ürünü olarak açığa çıkan serbest radikaller gibi endojen ajanlar da DNA'da farklı mekanizmalar ile; baz ve şekerde lezyonlara, tek ve çift zincir kırılmalarına, abazik bölgelere, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım modifikasyonlara yol açar.²⁰⁹⁻²¹³ Sitotoksite büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonundan doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer problemlere bağlıdır.^{206, 214}

DNA hasarının en ciddiisi serbest oksijen radikalleri ile indüklenen hücrel modifikasyonların olduğu düşünülmektedir. Özellikle iyonize edici radyasyonla oluşan hidrojen peroksit gibi serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilirler.^{215, 216} Serbest oksijen radikallerinden dolayı DNA'nın oksidatif hasarı sonucu yaşlanma, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, immün sistem hastalıkları, dejeneratif hastalıklar gibi çeşitli hastalıklar görülebilir.^{217, 218}

Karbohidratlara Etkileri: Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle çeşitli ürünler oluşur ve bu ürünler, çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Serbest radikaller, monosakkaritlerin oto oksidasyona uğramasına neden olarak hidrojen peroksit, peroksitler ve okzalaldehyitlerin oluşumuna yol açarlar. Bunlar özellikle diabetin patogenezinde rol alırlar. Yine hidroksil gibi serbest radikaller, karbonhidratlar ile tepkimeye girer ve karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomu çıkararak karbon merkezli radikal oluştururlar. Bu radikaller hyaluronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına neden olur.²¹⁹ Gözün vitröz hümöründe bol miktarda bulunan hyalüronik asitin oksidatif hasarı sonucu katarakt oluşması da buna bir örnektir. Okzalaldehyitler; DNA, ribo nükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanarak aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özellikleri sayesinde antimitotik etkiye sahiptirler. Bu sebepten kanser ve yaşlanma olaylarında da önemli rol oynarlar.^{206, 207}

2.9. Oksidatif Stress

Canlı organizmalarda serbest radikallerin oluşumu ile bunların ortadan kaldırılması daimi olarak denge halindedir. Organizmanın antioksidan savunma sistemi ile serbest radikaller arasındaki bu dengenin serbest radikaller lehine kayması durumuna oksidatif stres adı verilmektedir.²²⁰ Oksidatif denge dediğimiz bu durum devam ettirilebildiği sürece serbest radikaller vücutta herhangi bir patolojik problem oluşturmamaktadır.

Fakat serbest radikallerin oluşum hızında artış veya ortadan kaldırılma hızında bir azalma durumunda 'oksidatif stres' olarak ifade edilen süreç görülmekte ve bu durum doku hasarıyla noktalanmaktadır.²²¹ Oksidatif stres, hücre membranı ve önemli bileşenlerinin değişimi ile sonuçlanan lipidlerin ve diğer makromoleküllerin oksidatif tahribatıyla²²² hücre nekrozu ve ölümüne, böylelikle de doku hasarı ve kronik hastalıklara yol açmaktadır.^{223, 224}

2.10. Antioksidanlar

Serbest radikallerin hem oluşumunu engellemek hem de zararlı etkilerini yok etmek için organizma birçok savunma sistemi geliştirmiştir. Canlı organizmanın geliştirdiği bu sistemler antioksidan savunma sistemleri, bu sistemde kullanılan moleküller ise antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Antioksidanlar, direkt ya da dolaylı bir şekilde ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların negatif etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir.^{225, 226}

Antioksidanların etkileri dört farklı şekilde olur.^{227, 228}

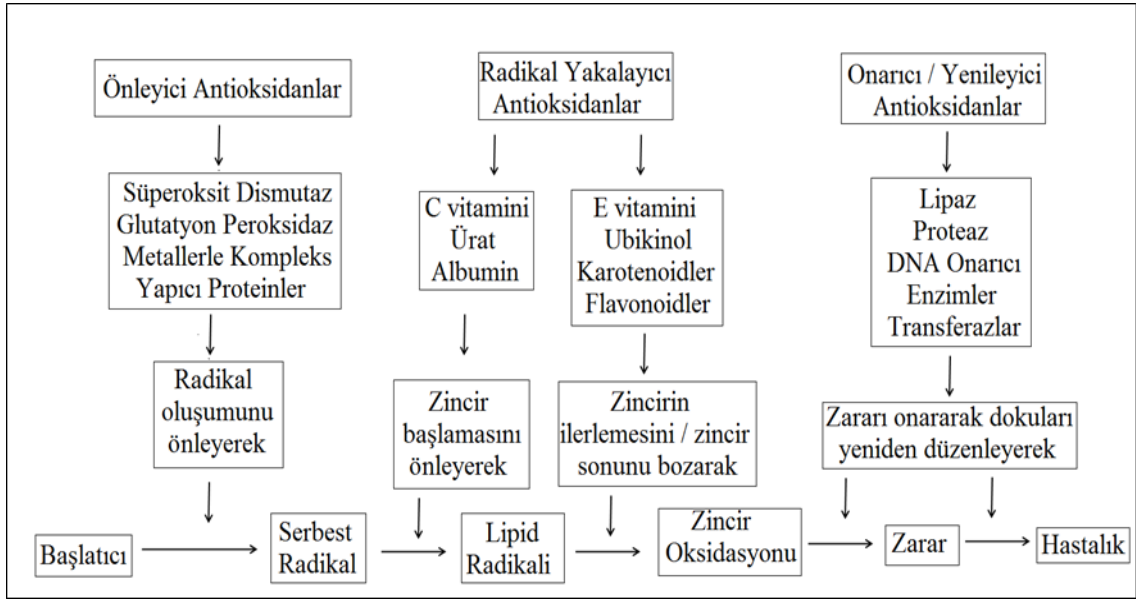
1) Toplayıcı Etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme etkisidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tipte etki göstermektedirler.

2) Bastırıcı Etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme etkisidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etki oluştururlar.

3) Zincir Kırıcı Etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir etkisidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etkiye sahiptirler.

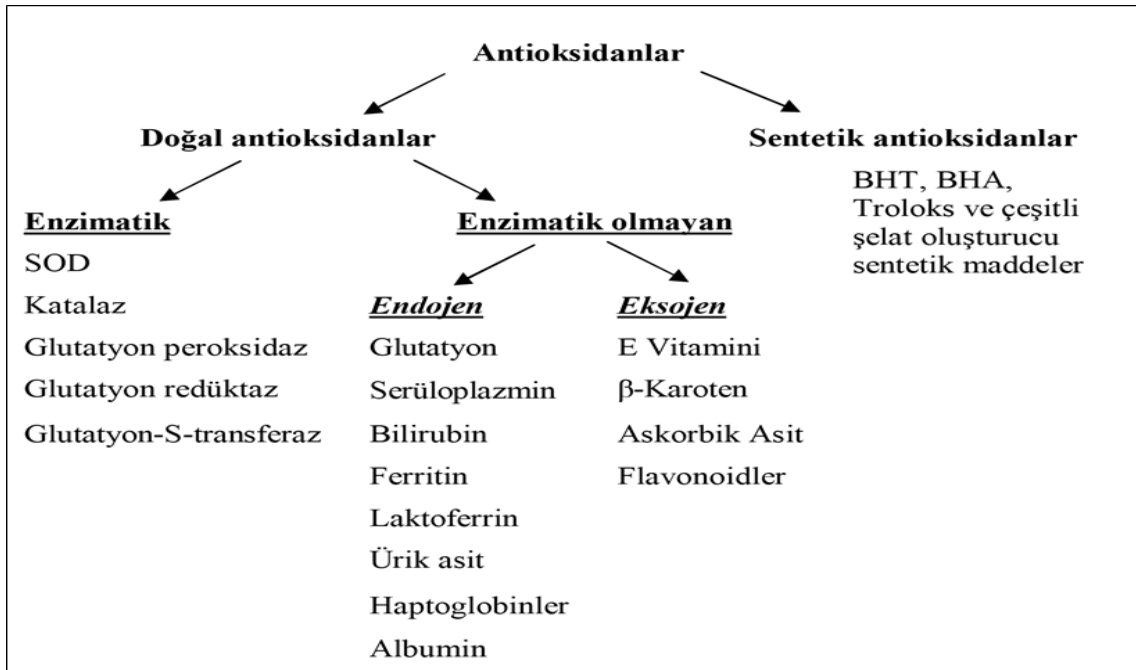
4) Onarıcı Etki: Serbest radikallerin neden olduğu hasarın onarılması etkisidir.²²⁹

Serbest radikallere karşı işlev yapan antioksidan gruplar ve özellikleri şekil 2.5.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.5. Antioksidanların serbest radikallere karşı etkileri²³⁰

Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmakla beraber enzim ve enzim olmayanlar şeklinde gruplandırılabilir.²²⁵



Şekil 2.6. Antioksidanların sınıflandırılması²³¹

2.10.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Bu enzim, serbest radikallerden süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden enzimdir. Hemen hemen tüm canlılarda bulunan ve süperoksit gibi oldukça reaktif bir radikalın etkisini ortadan kaldıran süperoksit dismutaz (SOD)'un, canlılarda önemli roller üstlendiği ve yaşamsal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.²³² Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır, ancak ekstrasellüler sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür.^{233, 234} SOD aktivitesi yaş ilerledikçe artar. Bu enzim fagositelenmiş bakterilerin hücreler arası öldürülme noktasında da görev alır.²³⁵ SOD hemen hemen bütün canlılarda bulunmaktadır. SOD'un tüm çeşitleri süperoksitin dismutasyon etkileşimini katalizleyebilmektedir.²³⁶ SOD ile katalize edilen tepkime sonucu oluşan hidrojen peroksit, oksijenin toksik türlerindedir ve katalaz sayesinde birikmesi engellenmektedir.²³⁷ Bundan dolayı serbest radikallerin neden olduğu yıkıcı etkinin engellenmesinde, SOD ve katalaz enzimlerinin birlikte incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

2.10.2. Glutasyon(GSH)

Glutasyon (GSH) bir tripeptit olup karaciğer dokusunda genetik bilgi gerekmeksizin glisin, sistein ve glutamat amino asitlerden sentezlenebilmektedir. GSH oldukça değerli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle girmiş olduğu tepkime sonucu hücreleri oksidatif strese karşı korumaktadır. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini engellenmede görevlidir. Şöyle ki; GSH, GPx enzimi katalizörlüğünde hidrojen peroksit ve organik peroksitlerle tepkimeye girerek antioksidan etki sergiler ve hidrojen peroksiti alyuvarlardan uzaklaştırmış olur. Hidrojen peroksit birikimi hemoglobinin methemoglobine oksidasyonunun hızını artırıp alyuvarların yaşama süresini azaltabildiği için bu reaksiyon oldukça önemlidir. Bunun yanı sıra alyuvarlarda hemoglobinin methemoglobine otooksidasyonu ile süperoksit

oluşurken diğer dokularda ise bu CYP450 redüktaz ve XO gibi enzimlerle oluşur.^{238, 239} GSH, proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redüktelenmiş halde tutup bu grupları oksidatif hasara karşı korur, bu şekilde işlevsel proteinlerin ve enzimlerin inaktive olmasına engel olur.²⁰²

GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyon ve amino asitlerin membranlardan transportu görevlerini de yerine getirmektedir. Ayrıca GSH, eritrositler, lökositler ve göz lensini oksidatif hasara karşı korumada hayati önem taşır.²³⁸

2.10.3. Malondialdehit(MDA)

Malondialdehit (MDA) üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda açığa çıkan ana üründür. MDA kanda ve idrarda ortaya çıkar, yıkım ürünlerinin hemen hemen yarısını MDA oluşturduğu için biyolojik materyalde lipid peroksit seviyelerinin ölçümünde önemli bir indikatör olarak kabul edilir.^{240, 241} Lipid peroksidasyonu sonucu olarak açığa çıkan MDA, DNA ve proteinlerin hasarına yol açmaktadır.²⁴²

2.11. Biyokimyasal Parametreler

2.11.1. Aspartat Aminotransferaz (AST, SGOT)

AST, aspartat aminotransferaz veya serum glutamik oksalasetik transaminaz (SGOT) olarak bildiğimiz organa spesifik olmayan bir enzimdir. Bu enzim hepatositlerde, kalp kasında, iskelet kaslarında, plasentada ve böbrek dokusunda bulunmaktadır.²⁴³ Bu dokularda gelişen nekroz nedeniyle serum AST yoğunluğunda artış görülmektedir. Hepatositlerin içindeki aspartat aminotransferazın %60-80'i mitokondri içindeyken kalan %20-30'u çözünür formda sitoplazma içindedir. AST'nin sitozolik (AST1) ve mitokondrial (AST2) iki izoenziminin çok sayıda formları bulunmaktadır.⁹⁵ AST'nin mitokondriyel şeklinde salınımı için membran geçirgenliğinde farklılıklara yol açan hasardan daha şiddetli bir bozukluk olması

gerekir. Bunun sonucunda AST aktivasyonu artışı, alanin aminotransferazın artışından daha geç meydana gelir. AST miktarındaki artış çok sık görülen hepatoselüler hastalıklarda gözlemlenir.^{244, 245} AST, L-aspartat ve alfa-ketoglutarat'ın oksaloasetat ve glutamata transaminasyonunun katalizasyonunu sağlar. B6 vitaminin aktif metaboliti olan Piridoksal 5'-fosfat, AST'ye sıkı bir şekilde bağlanan bir kofaktör olup ve enzim aktivasyonu için gereklidir. B6 vitamini alımı yetersizliği AST enziminin aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır.²⁴⁶ AST pek çok yumuşak dokuda bulunduğu için (iskelet kasları, kalp kası ve karaciğerde yüksek konsantrasyonda; eritrositler ve böbreklerde daha az) serum aktivitesindeki artış yumuşak doku hasarının bir göstergesi olmuştur.²⁴⁴ Ancak dediğimiz gibi organa spesifik bir enzim değildir ve tüm hayvanlarda yumuşak doku nekrozunun nonspesifik bir indikatörüdür.²⁴⁷

2.11.2. Alanin Aminotransferaz (ALT, SGPT)

ALT; Alanin aminotransferaz veya serum glutamik pirüvik asit transaminaz (SGPT) olarak da bildiğimiz sitoplazmik bir enzimdir. Yiyeceklerin enerjiye dönüştürülmesinde ve metabolizmada önemli rolleri bulunmaktadır. Böbrekler, kaslar, kalp ve pankreas gibi organlarda daha az miktarlarda bulunan ALT, en yüksek miktarlarda karaciğerde bulunduğu için karaciğer hasarının daha spesifik bir göstergesidir.^{248, 249} ALT transferazlar grubu içinde yer alıp albumin metabolizmasında AST'yle beraber çalışır. Alanin aminotransferaz, sitoplazmada L-alanin ve α -ketoglutarat'ın piruvat ve glutamata geri dönüşümlü transferinin katalizasyonunu gerçekleştirir. Piridoksal 5'-fosfat, ALT ve birçok aminotransferazlara sıkıca bağlanan bir kofaktör olup, AST'de de olduğu üzere B6 vitamini yetersizliği enzim aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır. Serum ve spinal sıvıda ALT aktivasyonu bulunmasına rağmen, çok az renal spesifik aktivitesinden dolayı idrarda ALT aktivitesi yoktur. AST ve ALT'nin serumda artmış olan aktiviteleri genelde klinik pratikte ve sağlık

muayenelerinde karaciğer hastalıklarının kantitatif göstergesi olarak kullanılmaktadır. Karaciğer hücre zarı geçirgenliğinin hasarı sonucunda hücre dışına salınımı artar. Serum alanin aminotransferaz konsantrasyonunun yüksekliği hepatoselüler hasarın çok fazla olduğunun göstergesidir. Bu hasarlar aşırı alkol alımı ve hepatitis virüsüne bağlı enfeksiyon olmadan rastlanan alkolik olmayan karaciğer yağlanması tanımlanmasında oldukça dikkate değerdir. Diyabet hastalarında serum aminotransferazlarının artışı sıklıkla görülmekte ve bu durum genellikle karaciğere yağ infiltrasyonundan kaynaklanmaktadır. Diyabette serum glukoz yoğunluğunu; aspartat aminotransferaz aktivasyonu ile beraber serum alanin aminotransferaz seviyelerinde de büyük ölçüde artış göstermektedir.²⁵⁰ Obezitede de serum aminotransferazlarının özellikle de ALT aktivitesinin artış gösterdiği bilinmektedir.²⁵¹

2.12. Moleküler Parametreler

2.12.1. Tümör Nekrozis Faktör-Alfa (TNF- α)

Kupffer hücreleri karaciğerin makrofajlarıdır ve karaciğer sinüzoidlerinde farklı şekil ve yerleşimde bulunabilirler.²⁵² Kupffer hücreleri büyük endotoksinleri elimine edebilmektedirler. Endotoksinler kısmi hepatektomi sonrası kupffer hücrelerinin aktivasyonunu sağlayarak sistemik komplikasyonların gelişmesinde önemli rol alırlar. Aktif hale gelen bu kupffer hücreleri TNF- α , İnterlökin (IL)-1 β , IL-6 ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını başlatırlar. Bu sitokinler sistemik inflamatuvar cevabın oluşumuna ve plateletler, endotelial hücreler, monositler, makrofajlar ve polimorfonükleer hücrelerin aktivasyonuna neden olurlar. TNF- α ise gelişen bu akut inflamatuvar yanıtın temel mediatörüdür ve kaşektin olarak da bilinir. Lokalize kan pıhtılaşmasını indükleyip tümör öldürücü aktivite sergileyerek vücutta dolaşır. Laskin ve arkadaşları çalışmalarında parasetamol hepatotoksitesinde kupffer hücrelerinin rolünü göstermek için ön tedavi olarak ratlarda kupffer hücrelerinin fonksiyonlarını

gadolinium chlorid ve dextran sülfat ile baskıladıklarında parasetamolün toksik etkilerinin çok az ortaya çıktığını ortaya koydular.⁹⁵ Blazka M.E. ve arkadaşları ise TNF- α 'nın parasetamolle indüklenen hasara karşı bir yanıt olarak üretildiğini ve selektif nötralizasyonunun parasetamol intoksikasyonuna karşı oluşan hepatik patofizyolojik cevabı değiştirebileceğini göstermişlerdir.²⁵³ Sistemik ve lokal etkilere sahip TNF- α yüksek miktarlarda üretilir ve serumda (biyokimyasal), moleküler olarak ölçülebilir.



3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamız Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji Laboratuvarı, Patoloji Anabilim Dalı, İmmünohistokimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi(ATADEM)' nde bulunan deneysel hayvan laboratuvarından alınan toplamda 30 adet, ağırlıkları 200-210 gram arasında değişen Albino Wistar cinsi olan dişi sıçanlar üzerinde uygulamalar yapıldı. Deneyimiz boyunca, ratlara yeterli miktarda su (ad libitum) ve pellet yem verildi. Sıçanlar deneyden önce gruplara ayrılarak laboratuvar ortamında normal şartlar altında 22 °C' de barınma ve beslenmeleri sağlandı. Çalışmalarımızın bütün aşamalarının Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu Başkanlığının 04.06.2013 tarihine ait 36643897-13 sayılı yazısı ile etik kurallara uygun olduğuna ilişkin onay alınmıştır.

3.1.2. Kullanılan İlaçlar

Parasetamol: Çalışmada, 2 ml 1X'lik PBS (Fosfat Tampon Çözeltilisi) içinde % 1'lik CMC (Sodyum Karboksi Metil Selüloz) ile 2 g parasetamol çözülerek, hafif sıcaklıkta karıştırılarak hazırlandı. (Parasetamol, Doğa İlaç Hammadde Ltd. şirketi, İstanbul) Gavaj yardımıyla oral yoldan verildi.

Aliskiren: Çalışmada, 1 ml % 0.9' luk NaCl çözeltisinde hazırlanan, 50-100 mg/kg aliskiren (Rasilez, 150 mg tablet) gavaj aracılığıyla oral olarak uygulandı.

Tiopental Sodyum (İE ULAGAY): Çalışmada intraperitoneal yoldan ötenazi için 50 mg/kg olarak uygulandı.

3.1.3. Kullanılan Malzeme ve Makinalar

Cihazlar	Modeli ve Firması
Chemwell	Awareness Technology, ABD
ELISA Okuyucu	Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek, ABD
Mikroplate Yıkayıcı	Stat Fax 2600 Microplate Washer, ABD
Santrifüj (Soğutmalı)	Hettich Zentrifugen 320R, Almanya
pH Metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Almanya
Manyetik Mixer	Wisd WiseStir MSH-20A, Almanya
Doku Homojenizatörü	Tissue Lyser II Qiagen, Almanya
Hassas Terazı	Shimadzu ATX224, ABD
Etüv	Memmert WNB 7-45, Almanya
Mixer	IKA- MS 3 basic, ABD
Buzdolabı (-86 °C)	Nuaire NU-9483E, ABD
Derin Dondurucu	Vestel BZP-XL3402W, Türkiye
Otomatik Multikanal Pipet	Eppendorf Research Pro (20-300µ)
Pipet Seti	Eppendorf Research Plus

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

Çalışma için, uygulama yapılacak olan 4 grup ve bir kontrol grubu olmak üzere toplamda 5 grup oluşturuldu. Ayrı ayrı her bir grup için 6 adet olacak şekilde toplamda 30 adet sıçan üzerinde çalışmalar yapıldı. Deney planı, Tablo 3.1.'de verilmiştir. Deneyden önceki 24 saat için bütün ratların açlığı sağlandı.

Aç bırakılan ratlar aşağıdaki gruplarda açıklaması yapılan deney prensiplerine tabi tutuldu:

Grup I: Sağlıklı grup. 2 ml 1X PBS (%1'lik CMC içeren), oral gavaj aracılığı ile P.O. olarak uygulandı.

Grup II: 2 g/kg dozunda 2 ml 1X PBS (%1'lik CMC içeren)'de hazırlanan parasetamol solüsyonu, oral gavaj yardımı ile P.O. olarak uygulandı.

Grup III: 100 mg/kg Aliskiren oral yoldan verildi(1ml'lik %0.9 luk NaCl çözeltisinde)

Grup IV: 50 mg/kg Aliskiren P.O. uygulandıktan 1 saat sonra 2g/kg dozunda 2ml parasetamol solüsyonu, gavaj yardımıyla P.O. olarak uygulandı.

Grup V: 100 mg/kg Aliskiren P.O. uygulandıktan 1 saat sonra 2g/kg dozunda 2 ml parasetamol solüsyonu, gavaj yardımıyla P.O. olarak uygulandı.

Çalışmada uygulanan bütün parasetamol dozları, ilgili literatüre göre belirlenmiştir.^{254, 255} Parasetamol uygulamasının üzerinden 4 saat geçtikten sonra bütün gruplardaki hayvanlara deney sonlanıncaya dek, yeterli miktarda su(ad libitum) ve pellet yem verildi. 2 g/kg parasetamolün oral yoldan uygulanmasının üzerinden 24 saat geçtikten sonra karaciğer toksisitesi oluşturuldu.

Tablo 3.1. Deney Planı

Gruplar	Hayvan Sayısı	Tedavi
I	6	Sağlıklı (2 ml PBS)
II	6	Parasetamol (2g/kg)
III	6	Aliskiren (100 mg/kg)
IV	6	Parasetamol (2 g/kg) + Aliskiren (50 mg/kg)
V	6	Parasetamol (2 g/kg) + Aliskiren (100 mg/kg)

Parasetamol verilmesinin ardından 24 saat geçince çalışmadaki bütün ratlara aşırı dozda tiopental (50 mg/kg) uygulanarak ötenazi sağlandı ve deney bitirildi. Her bir gruptaki ratlardan karaciğerleri ve kan numuneleri alındı. Alınan karaciğerin bir kısmı biyokimyasal ve moleküler analiz için ayrıldı ve fosfat tamponuna konuldu. Karaciğerin geri kalan kısmı ise, histolojik analizler için %4'lük nötral form aldehit çözeltisi içine alınarak tespit edildi. Alınan kanların santrifüjü sağlanarak serumları elde edildi ve serumlar -80 °C buzdolabında saklandı.

3.2.2. Histolojik Çalışmalar

Çalışmamız, A. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji Laboratuvarı, Patoloji Anabilim Dalı, İmmünohistokimya Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.2.2.1. Parafin Kesitlerde Konvansiyonel Işık Mikroskop

Tüm gruptaki sıçanlardan alınan karaciğer dokularına kod numaraları verilerek içinde %4'lük formaldehit içeren şişelere bırakıldı. Ardından aşağıda belirtilen sırası ile doku takip işlemlerine geçildi.

1. Akarsuda yıkama (gün boyu)
2. %70'lik Alkolde (Merck) ® 1 gece bekletme
3. %80'lik Alkolde 1 saat bekletme
4. %96'luk Alkolde 1 saat bekletme
5. %96'luk Alkolde 1 saat bekletme
6. %100'lük Alkolde 1 saat bekletme
7. %100'lük Alkolde 1 saat bekletme
8. Ksilende (Merck)®10 dakika bekletme
9. Ksilende 10 dakika bekletme
10. Ksilen + boncuk parafin (Merck) ® 60 °C'lik etüvde 1 saat bekletme

11. Boncuk parafinde 60 °C'lik etüvde 1 saat bekletme

12. Boncuk parafinde 60 °C'lik etüvde 2 saat bekletme.

Dokular parafin bloklarına gömülerek kesit alma işlemlerine uygun hale getirildi.

Parafin bloklarından mikrotom (Leica RM2125RT) yardımı ile 5 µm'lik kesitler camdan lamalar üstüne alındıktan sonra aşağıda sıralanan işlemlere tabi tutularak boyama işlemi gerçekleştirildi.

1. Ksilolde (20 dk.) bekletme

2. Ksilolde (10 dk.) bekletme

3. İki farklı % 96'lık Alkol serisinde (5 dk.) bekletme

4. %80'lik Alkol (10 dk.) bekletme

5. Çeşme suyu altında yıkama

6. Hemotoksilen boyasında (1 dk.) bekletme

7. Asit-Alkol karışımı içine batırıp çıkarma

8. Eozin solüsyonu içinde (1 dk.) bekletme

9. Suda (1 dk.) yıkama

10. %80'lik Alkol içinde (10 dk.) bekletme

11. İki farklı %96'lık Alkol serisinde (10 dk.) bekletme

12. Ksilol serilerinde (20 dk.) bekletme

13. Entellan ile kapatma işlemi gerçekleştirildi.

Değerlendirmelere uygun bir hale getirilen kesitler, Olympus BH 40 marka kamera ataçmanlı ışık mikroskobu altında incelenerek çalışmadaki her bir gruba ait fotoğraflar alındı.

3.2.3. İmmünohistokimyasal Çalışmalar

3.2.3.1. Parafin Kesitlerde İmmünohistokimyasal Işık Mikroskop

Konvansiyonel ışık mikroskopik inceleme için parafine gömülen dokulardan yine mikrotom (Leica RM2125RT) cihazı ile 5µm halindeki kesitler poli-lizinli cam lamaların üzerine alındıktan sonra aşağıda sıralanan işlemlere tabi tutularak TNF receptor 1 antibody boyama işlemi gerçekleştirildi.

1. 48 °C'lik etüvde 1 gece bekletildi.
2. 3 değişik ksilolde 5 er dakika bekletildi.
3. Sırasıyla, absolute, %96 ve % 80'lik alkolde 5 er dakika bekletildi.
4. Distile suda 5 dakika yıkandı.
5. pH=6 sitrat buffer solüsyonu ile mikro dalga fırında 5*3 (15 dakika) antijen retrieval işlemi yapıldı.
6. 20 dakika oda ısısında bekletildi.
7. 5 dakika PBS de yıkandı.
8. 15 dakika %3 lük hidrojen peroksidazda bekletildi.
9. 5 dakika PBS de yıkandı.
10. TNF-α solüsyonunda 60 dakika bekletildi.
11. 5 dakika PBS de yıkandı.
12. Converter-POD solüsyonunda 30 dakika yıkandı.
13. 5 dakika PBS de yıkandı.
14. DAB-Kromojen de 7 dakika bekletildi.
15. Distile suda iyice yıkandı.
16. Harris hematoksilende 10 saniye zıt boyama yapıldı.
17. Su bazlı kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

Değerlendirmelere uygun bir hale getirilen kesitler, Olympus BH 40 marka kamera ataçmanlı ışık mikroskobu altında incelenerek çalışmadaki her bir gruba ait fotoğraflar çekildi.

3.2.4. Biyokimyasal Çalışmalar

3.2.4.1. Karaciğer Dokusu Üzerinde Yapılan Analiz İşlemleri

Büyükölçekli analiz işlemlerinden sonra, deney hayvanlarına ait karaciğer doku örnekleri -80°C'de muhafaza edildi. 100 mg'lık rat karaciğer dokularının homojenizasyonu işlemi spesifik homojenat tampon solüsyonunda (uygun bufferda) buz üzerinde Tissue Lyser sayesinde gerçekleştirildi. Sonrasında ise kitte belirtilen yaptırımlar üzerinden gidilerek doku santrifüjü sağlandı. Biyokimyasal analizler için her bir rat serumundaki SOD aktivitesi, MDA ve GSH miktarlarının ölçümü manuel yöntemlerle yapıldı. Ayrıca spesifik buffer ile homojenizasyonu sağlanmış bütün karaciğer serumlarında tüm veriler her mg protein için $\text{ort} \pm \text{standart sapma}$ şeklinde ifade edildi.

Protein tayini: Protein yoğunlukları ticari protein standartlarından Lowry metodu kullanımıyla saptandı (Sigma Aldrich, Total protein kit-TP0300-1KT-USA).

SOD Standartları

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite tayini

Reaktif Maddeler: Assay buffer (50 mM Tris-HCl, pH:0.8, 0.1 mM diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA)), Sample Buffer (50 mM Tris-HCl, pH: 0.8), Radical Detector (Tetrazolium tuzu), Sod Standart (Bovine eritrosit SOD (Cu/Zn)), Xanthine Oxidase.

Deneyin prensibi: CAYMAN'ın Süperoksit Dismutaz Assay kiti ile çalışıldı. Bu metotta, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile açığa çıkan süperoksit radikalleri Tetrazolium'u indirgemesini sağlayarak renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 460

nm'de en yüksek absorbandsı verir. SOD'un bulunmadığı ortamda gerçekleşen indirgenme mavi-mor renk oluşturmaktadır. Ortamda enzim bulunduğunda ise Tetrazolium indirgenmesi tam olmayıp enzim miktar ve aktivitesine göre açık renk oluşmakta, böylece aktivite hesaplanabilmektedir.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkayıp, sıvı azot içinde dokularımız homejenizasyon işlemine tabi tutuldu,
2. 70 mM sükroz, 210 mM mannitol ve 1mM etilen glikol-bis tetraasetik asit (EGTA) içeren pH'ı 7.2 olan doku başına 1 ml soğuk HEPES buffer ile ultra turrax homojenizatörde buz aküsü üzerinde 1 dakika kadar homojenizasyonu sağlandı,
3. Bütün örnekler işlem bitinceye dek 4 °C'de muhafaza edilerek saklandı,
4. 4 °C 1,500x g'de 5 dk süresince santrifüj işlemi gerçekleştirildi,
5. Serum kısmında ölçüm yapıldı.

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanıldı,
2. Tüm kuyucuklara ölçüm karışımından 200'er µl ilave edildi,
3. Standartlar hazırlanarak 50 µl standartlar sırasına eklendi,
4. Numune çözeltilerinden uygun kuyucuklara 50'şer µl ilave edildi,
5. Kör kuyucuğuna 50 µl homojenat tamponu koyuldu,
6. Oda sıcaklığında herbir kuyucuğa 5'er µl xantin oksidaz ilave edildi,
7. İlk kuyucuğa XO ekleme işleminin üzerinden 20 dakika geçtikten sonra 560 nm dalga boyunda absorbands ölçümü yapıldı.

SOD aktivitesi analizi: Oluşan mavi-mor renkteki formazon boyasındaki azalmanın absorbans düzeyleri 560 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak daha önce hazırlanmış olan SOD stok solüsyonu ile oluşturulan standart grafikten yararlanılarak ölçüm hesabı yapıldı. Numunelerin SOD aktivitesi, U/mg protein şeklinde ifade edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak tespit edildi. Eğrinin denklemi $y = - 0,000617x + 0,561$ ve R^2 değeri ise 0,986 olarak bulundu.

Total Glutasyon (GSSG/GSH) tayini

Reaktif Maddeler; Glutathione reductase, Chromogen, Assay buffer, Metaphosphoric asid, Glutathione disulfide, NADPH.

GSH Standartları

Deneyin prensibi: Sedlak ve arkadaşlarının geliştirmiş oldukları yöntem dikkate alınarak yapıldı. Ölçüm ortamındaki DTNB 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) disülfid bir kromojen olup ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolay bir biçimde indirgenir. Ortaya çıkan sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçümü yapılabilir.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkama yapıldı,
2. 0.1 g doku üzerine 4.5 ml homojenat tamponu eklenerek homojenizasyonu sağlandı,
3. Homojenatlar, 12000 g 4 °C'de 10 dakika boyunca santrifüj edilip ve serumlar GSH seviyesinin tespiti için kullanıldı.

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanıldı,
2. Ölçüm tamponundan her bir kuyucuğa 150'şer µl eklendi,
3. DTNB'den her bir kuyucuğa 10'ar µl eklendi,
4. Örneklerden 50'şer µl uygun kuyulara eklendi ve kısaca vortekslendi,
5. Standartlar uygun kuyucuklara 50'şer µl eklendi,
6. Kör kuyucuğuna 50 µl homojenat tamponu eklendi,
7. 37 °C'de 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı ve
8. 412 nm dalga boyunda absorbans okundu.

GSH miktarının hesaplanması: Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 96'lık well platede okunup, seyreltme katsayıları dikkate alınarak daha önce hazırlanmış olan GSH stok solüsyonu ile oluşturulan standart grafikten faydalanılarak ölçüm hesabı yapıldı. Serum GSH seviyesi, nmol/mg protein şeklinde ifade edildi. Her bir doku faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak tespit edildi. Eğrinin denklemi $y = 1,67x + 0,581$ ve R2 değeri ise 0,983 olarak bulundu.

Malondialdehit (MDA) tayini

Reaktif Maddeler; MDA standart (malon dialdehid bis), Thiobarbituric acid (TBA), SDS lysis solution, TBA acid diluent, Sodium hidroxide solution, BHT solution (İçerisinde % 5 lik butylated hydroxytoluene)

MDA Standartları

Deneyin prensibi: Cellbiolabs'ın oxiselect MDA quantitation kiti uygulama basamaklarına göre çalışıldı. Asidik ortamdaki tiyobarbitürik asit ile 90-95 °C'de tepkimeye giren MDA, pembe renkli kromojen oluşturur. 15 dakikalık kaynatma işlemi sonrasında hızla soğutulan örneklerin absorbansları 532 nm'de spektrofotometrik açıdan okunabilir.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokuların homojenizasyon öncesinde sıvı azot altında PBS ile yıkaması yapıldı,
2. Sıvı azot ile parça parça olan örnekler 100 mg olacak şekilde tartımı yapıldı,
3. 0.1 g doku üzerine 1 ml homojenat tamponu eklenerek tissue lizer ile homojenizasyonu sağlandı.

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanıldı,
2. Tüm kuyucuklara 10µl SDS, 75 µl asetik asit, 75 µl TBA ve 20 µl saf su eklendi,
3. Numune kuyularına 20'şer µl uygun numunelerden eklendi,
4. Kör kuyusuna 20 µl homojenat tampon solüsyonu koyuldu,
5. Standartlar uygun kuyucuklara 20'şer µl eklendi,
6. Pipetleme işleminden sonra plate, 105 °C'de 90 dakika inkübe edildi,
7. İnkübasyon sonunda plate, 4000 rpm de, 4 °C'de, 15 dakika boyunca santrifüj edildi,
8. Serum MDA çözeltisi olarak kullanıldı,
9. 532 nm dalga boyunda absorbans okundu.

MDA miktarının hesaplanması: Meydana gelen pembe renk miktarları 532 nm'de 96'lık well platede okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak öncesinde hazırlanmış olan MDA stok solüsyonu ile oluşturulan standart grafiğinden faydalanılarak ölçüm hesabı yapıldı. Örneklerin MDA miktarları, nmol/mg protein şeklinde ifade edildi. 2 kez tekrar yapılarak her bir doku faktörünün etkisi tespit edildi. Eğrinin denklemi $y=1,67x + 0,581$ ve R^2 değeri ise 0,983 olarak bulundu.

3.2.4.2. Serumda Yapılan Analizler

AST, ALT ölçümü için serumun elde edilmesi: EDTA'lı biyokimya tüpüne konulan kanlar 4000 rpm'de 10 dakika boyunca 4 °C'de santifüj işlemi gerçekleştirildi. Analiz yapılana kadar -80 °C'de saklandı. Her örneğin AST ve ALT seviyeleri ikişer kere yüksek hassasiyetteki ELISA kitiyle (USCN Life Science-E90207Ra, E91214Ra-China) ölçüldü.

AST Ölçümü

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

Deney prensibi: USCNK Life Science Aspartat Aminotransferaz (AST) kiti kullanıldı. Rat AST'sine özgün antikorlar ile kaplı olan plate'lere standart ve numunelerin eklenmesi ile antijen antikor birleşmesi olmaktadır. Bu AST'ye spesifik olan biotin konjugatlı polyclonal antikorları AST ile birleşir. Daha sonra bu antikor HRP içeren avidin konjugatına bağlanır. TMB substrat solüsyonu biotinlenmiş antikor ve HRP avidin renk oluşumuna sebep olur. Sülfirik asit ile reaksiyon inhibe edilerek okunur.

Deneyin yapılışı:

1. Kuyulara Standart, kör ve numunelerden 100 ul eklendi. Plate'in üstü kapatıldıktan sonra 2 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
2. Yıkama işlemi 3 kere yapıldıktan sonra, her kuyuya 100 ul Detection Reagent A solüsyonu eklendi. 1 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
3. Yine yıkama işlemi 3 kere yapıldıktan sonra her kuyuya 100 ul Detection Reagent B solüsyonu eklendi. 30 dk. 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
4. Solusyonlar kuyulardan alındı ve yıkama işlemi uygulandı.

5. Her kuyuya 90 ul Substrat eklendi. 15-20 dk. 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
6. Her kuyuya 50 ul stop solüsyonu eklendi ve sıvılarda sarı renk gözlemlendi.
7. 450 nm'de ölçüm alındı.

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

ALT Ölçümü

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

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

Deneyin yapılışı:

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

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

ALT Miktarının Hesaplanması: Ölçümler Epoch Elisa reader cihazında yapıldı. Cihazın Gen 5 programı kullanılarak hesaplama yapıldı. Standartlara uygun Log-Log eğrisi hazırlandı. Y axis: ALT kons., X axis: abs. Numunelerimizin konsantrasyonları belirlendi. Numune konsantrasyonlar ng/ml olarak hesaplandı.

3.2.5. Moleküler Çalışmalar

3.2.5.1. Karaciğer Dokusu Analizleri

İriölçekli incelemelerin ardından deney hayvanlarına ait karaciğer dokuları, -80°C’de saklandı. Tüm grupların karaciğer dokuları sıvı azot ile öğütülerek -80°C’de saklandı. Havuz oluşturulan karaciğer doku karışımlarından 20 mg tartıldı ve özel tamponda, buz üzerinde Tissue Lyser ile homojenizasyonu gerçekleştirildi. Sonrasında ise santrifüj işlemi yapıldı. Süpernatantlar toplanarak mRNA izolasyonu işlemine tabi tutuldu. Saflaştırılan mRNA’lardan cDNA sentezi yapıldı ve moleküler incelemeler için RT-PCR analizi yapıldı. Moleküler çalışmalar için RT-PCR analizinde TNF- α ölçüldü. Tüm veriler her ng cDNA için ort \pm standart sapma şeklinde verildi.

3.2.5.2. RNA İzolasyonu

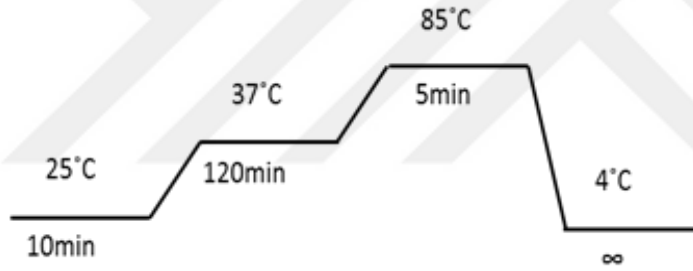
Karaciğer dokularına ait numuneler bir bir tartılarak RNeasy Mini Kit (Qiagen) kullanımı ile QiaCube RNA izolasyon makinasında (Qiagen) total RNA izolasyonu

basamakları üretici firmanın önermiş olduğu şekilde yapıldı. Total RNA izolasyonu işlemini takiben mRNA'nın niteliği denatüre haldeki formaldehid agaroz jel elektroforezi sayesinde incelenecek.

3.2.5.3. Reverse Transkriptaz Etkileşimi ve cDNA Sentezi

Yüksek kapasite cDNA Reverse Transkripsiyon Kit enzimi kullanılarak total RNA'dan cDNA sentezi yapılacak. Tüm tepkime işlemi 10µl RNA ile sağlanarak cDNA sentezi aşağıda belirtilen sıcaklık derecelerine göre Veriti 96 Well Thermal Cycler(Applied Biosystem) sayesinde sağlanacak. cDNA'nın niceliği ise nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) aracılığıyla ölçümü belirlenecek ardından da -20°C'de saklanacak.

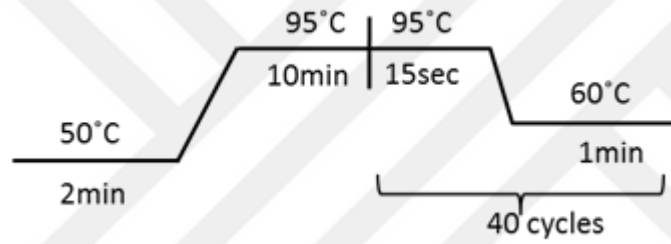
cDNA sentez reaksiyonu:



Total RNA	10 µl
10 X RT Tamponu	2 µl
25 X dNTPs mix	0,8 µl
10 X RT Random Primers	2 µl
MultiScribe Reverse Transcriptase	1 µl
Distile H ₂ O	4,2 µl

3.2.5.4. Real Time PCR ile mRNA Ekspresyonu Saptanması

TNF- α mRNA ekspresyonu, Taq Man Gene Expression Master Mix kitinin kullanımı ile kantitatif olarak belirlenecek. StepOne Plus Real Time PCR System (Applied Biosystems) makinasında amplifikasyon (sayısal çoğaltılması) ve kantifikasyon işlemleri sağlanacak. Housekeeping gen için ACTB (Rn00667869_m1)(Applied Biosystems) aşağıda ifade edildiği biçimde pipetlenecek ve 40 döngü halinde yürütülecek. Ct verileri makinada otomatik bir şekilde delta delta Ct'ye çevrilecek ve uygulamalarımız sonunda elde etmiş olduğumuz veriler istatistiksel açıdan APSV 19.00 paket programında değerlendirilecek.



cDNA (200ng) X μ l

TaqMan Master Mix 10 μ l

Assay 1 μ l

RNeasy free H₂O ile 20 μ l'e tamamlanacak.

3.2.3. İstatistiksel Analiz

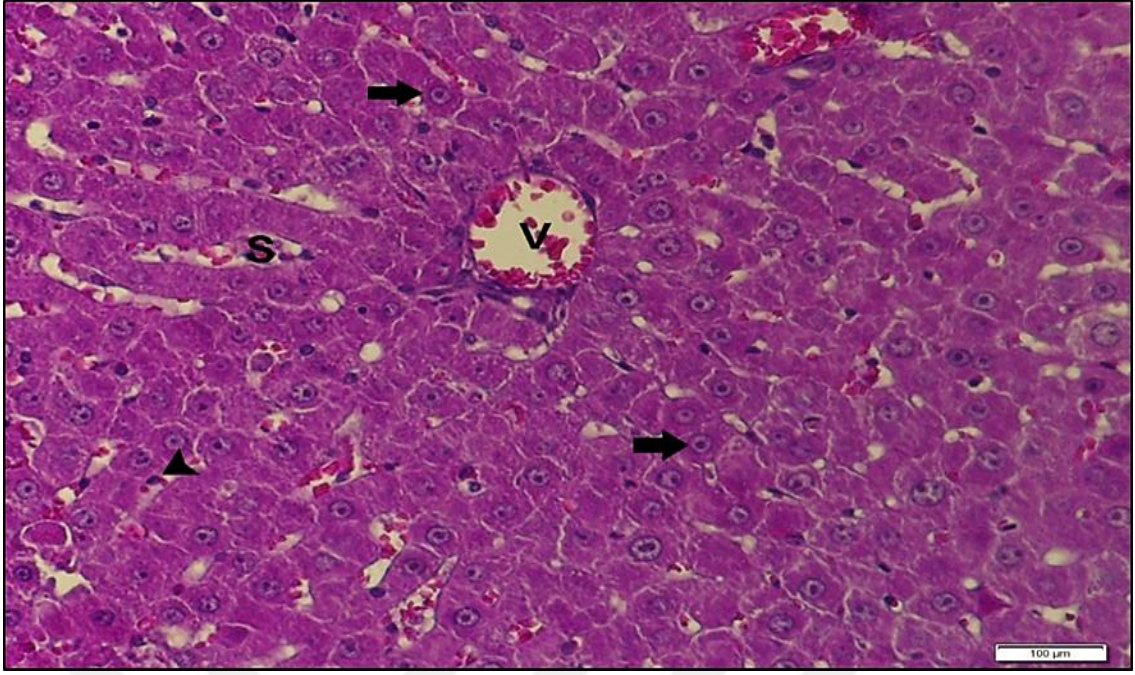
Tez çalışmamız sonucunda ortaya çıkan analiz değerleri ortalama \pm standart sapma şeklinde gösterildi ve $p < 0.05$ değerleri istatistiksel bakımdan önemli olduğu kabul edildi. Deney grupları arasındaki nüansın önem seviyesi tek yönlü varyans analizi One-Way ANOVA testi üzerinde Post Hoc çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan tekniğine göre belirlendi. Farklı olan harfler herhangi bir grubun diğer gruptan

istatistiksel açıdan farklı olduğunu ifade etmektedir. Eşit harfler ise bu nüansın önemsiz olduğunu belirtmektedir.

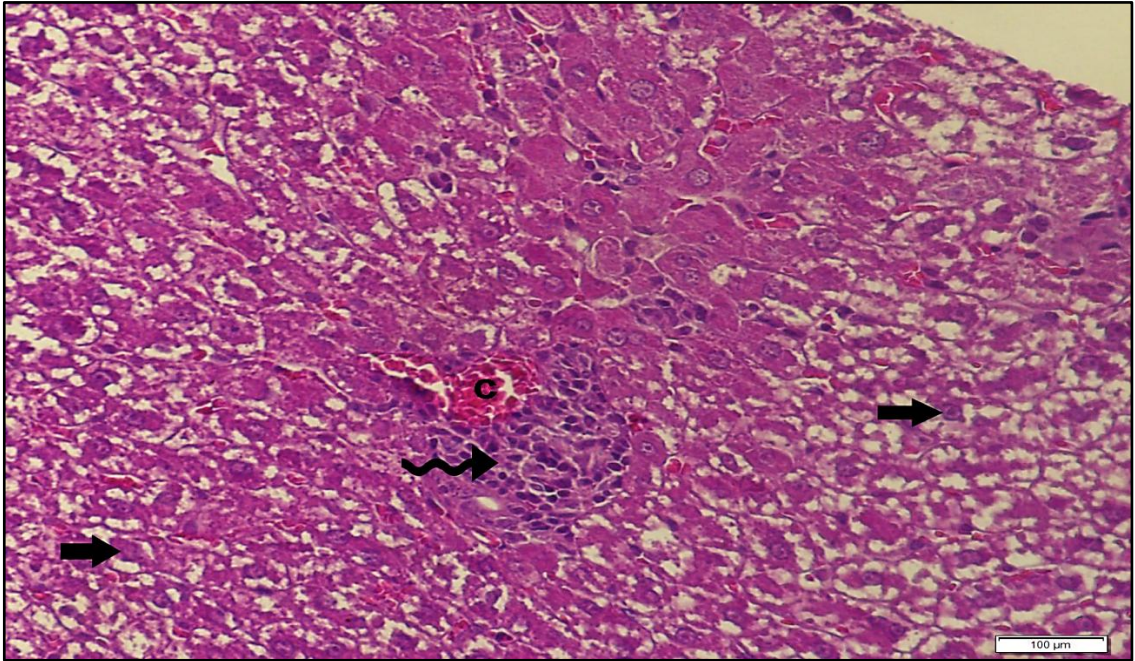
4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

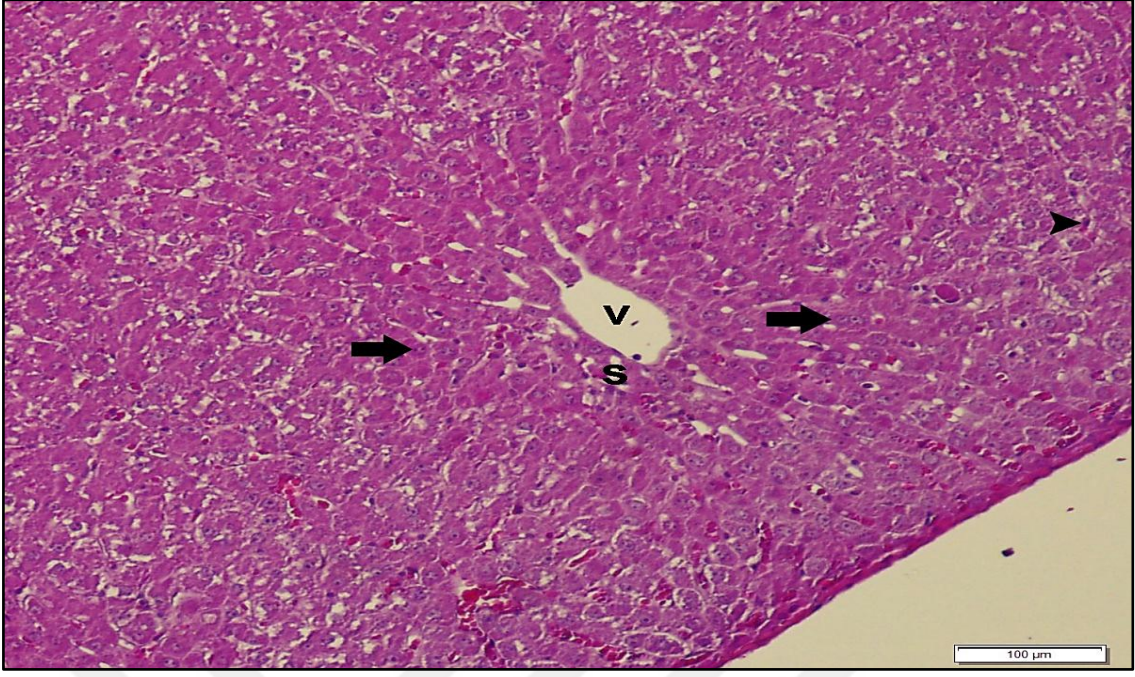
Sağlıklı grubuna ait kesitler ışık mikroskop altında incelendiğinde, normal yapıdaki karaciğer dokusu gözlemlendi. Hepatositlerin normal yapıda olduğu izlendi. Tipik ışımsal dağılımlı remark kordonları arasında kalan sinuzoidal boşluklar tipik yapıda olduğu gözlemlendi (**Şekil 4.1**). Parasetamol grubuna ait hasarlı karaciğer dokusu preparatları incelendiğinde ise inflamasyon alanları izlendi. Sentrolobuler alanlarda yaygın nekrotik alanlar gözlemlendi. En dikkat çekici bulgumuz hepatositlerde hidropik dejenerasyonlar izlenmesiydi. Merkezi vena ve portal alandaki vasküler yapılarda konjesyon ve hemoraji gözlemledik (**Şekil 4.2**). Aliskiren tedavi grubu kesitlerinde ise normal yapıdaki ışımsal uzanımlı remark kordonları ve hepatositler izlendi. Tipik yapıdaki sinuzoidler ve merkezi ven gözlemlenmektedir (**Şekil 4.3**). Parasetamol + aliskiren 50 mg/kg (**Şekil 4.4**) ve parasetamol + aliskiren 100 mg/kg (**Şekil 4.5**) gruplarına ait bulgular benzerdi. Her iki grupta da normal yapıda normal yapıdaki hepatositler ve remark kordonları gözlemledik. (**Şekil 4.4-4.5**).



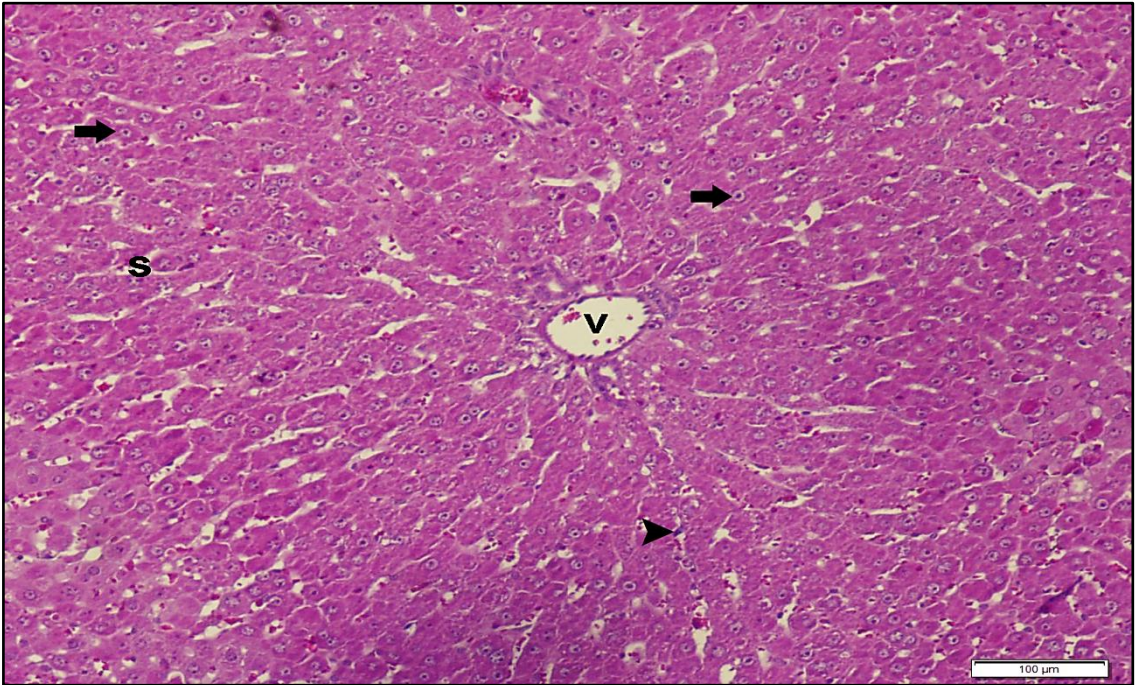
Şekil 4.1. Sağlıklı grubun karaciğer dokusuna ait görüntüsü. Tipik yapıdaki hepatositler (ok) izlenmekte. Tipik remark kordonları arasında kalan sinuzoidal (s) boşluklar gözlenmekte. Tipik yapıdaki kupfer hücresi gözlemlenmekte (ok başı). Merkezi ven(v) H&E.



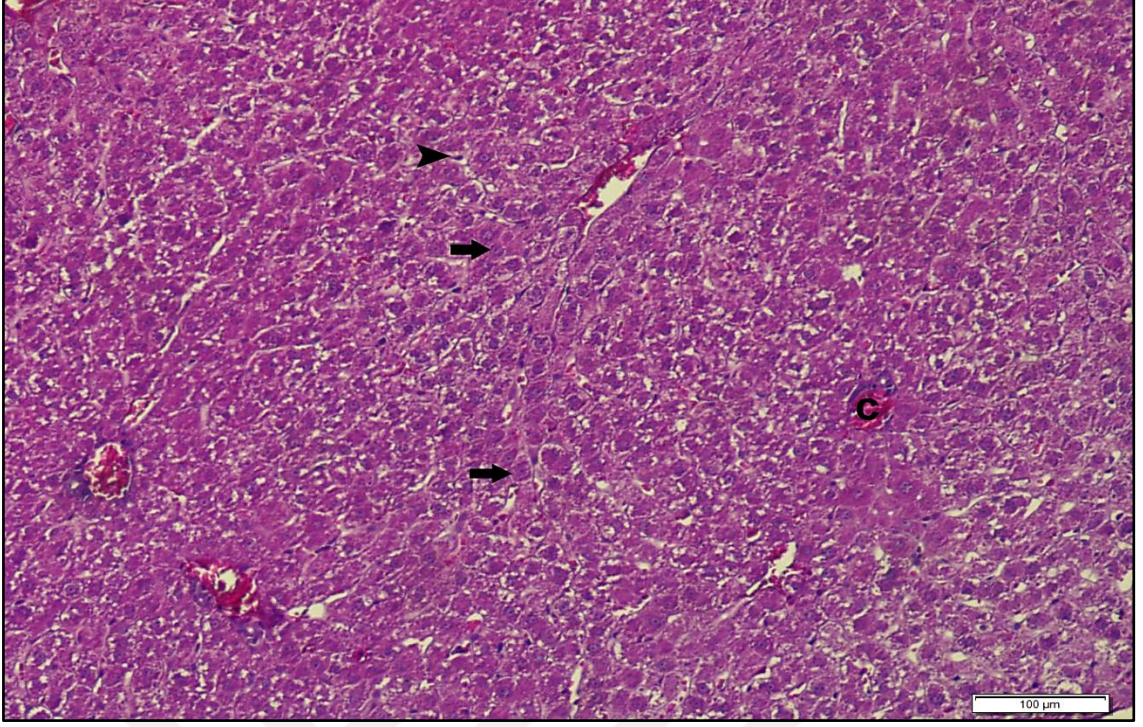
Şekil 4.2. Parasetamol grubuna ait hasarlı karaciğer dokusu görüntüsü. İnflamasyon alanları izlenmekte (spiral ok). Sentrilobuler alanlarda yaygın nekrotik alanlar gözlenmekte. Hepatositlerde hidropik dejenerasyonlar izlenmekte (ok). Merkezi vende ve portal alandaki vaskuler yapılarda konjesyon ve hemoraji gözlemlenmekte H&E.



Şekil 4.3. Aliskiren 100 mg/kg grubuna ait karaciğer dokusu görüntüsü. Normal yapıdaki ışımsal uzanımlı remark kordonları ve hepatositler izlenmekte (ok). Tipik yapıdaki sinuzoidler (s) gözlenmekte. Kupfer hücresi (ok başı). Merkezi ven (v) H&E.



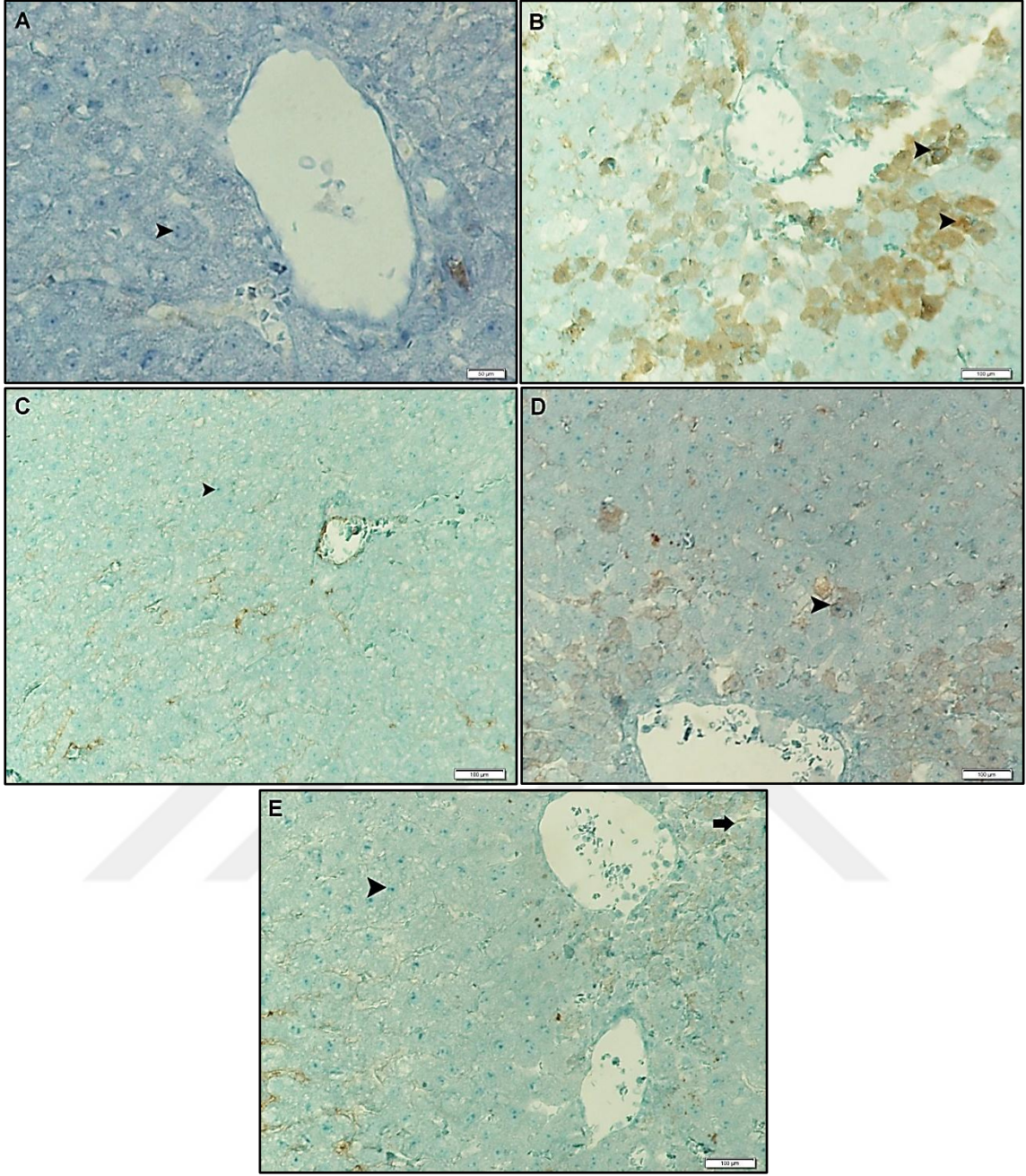
Şekil 4.4. Para + ALS 50 mg/kg grubuna ait hasarlı karaciğer dokusu görüntüsü. Tipik yapıdaki hepatositler (ok) ve sinuzoidler (s) izlenmekte. Işımsal remark kordonlarının ışımsal uzanımları gözlemlenmekte. Kupfer hücresi (ok başı). Merkezi ven (v) H&E.



Şekil 4.5. Para + ALS 100 mg/kg grubuna ait hasarlı karaciğer dokusu görüntüsü. Sağlıklı görünümdeki tipik yapıda olan hepatositler (ok) ve sinusoidler izlenmekte. Kupfer hücresi (ok başı) H&E.

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

TNF- α immunohistokimyasal boyamada sadece yoğun boyanmış hepatositleri değerlendirmeye aldık. Sağlıklı grubuna ait preparat incelendiğinde TNF- α ile negatif bir boyanma söz konusuydu (**Şekil 4.6.A**). Parasetamol grubuna ait preparat incelendiğinde hepatositlerde yoğun olarak TNF- α immunohistokimya boyası ile boyandığını saptadık (**Şekil 4.6.B**). Aliskiren 100 mg/kg (**Şekil 4.6.C**). Aliskiren 50 mg + Parasetamol (**Şekil 4.6.D**) ve Aliskiren 100 mg + Parasetamol (**Şekil 4.6.E**) gruplarına ait preparat incelendiğinde ise TNF- α 'nın negatif olduğunu gözlemledik.



Şekil 4.6. TNF- α ile boyanmış karaciğer dokusu görüntüleri.
A:Sağlıklı Grup. İmmün negatif hepatositler (ok) izlenmekte. **B:** Parasetamol Grubu. TNF- α pozitif

hepatositler (ok başı) izlenmekte. **C:** Aliskiren 100 mg grubu. TNF- α ile yoğun boyanmış hepatositler gözlenmekte (ok). **D:** Aliskiren 50 mg + parasetamol grubu. İmmün negatif hepatositler gözlenmekte (ok). **E:** Aliskiren 100 mg + parasetamol grubu. TNF- α negatif hepatositler izlenmekte.

4.3. Biyokimyasal Bulgular

4.3.1. ALT ve AST Analizleri

Tablo 4.1. Sıçan serumunda ölçülen ALT ve AST miktarları.

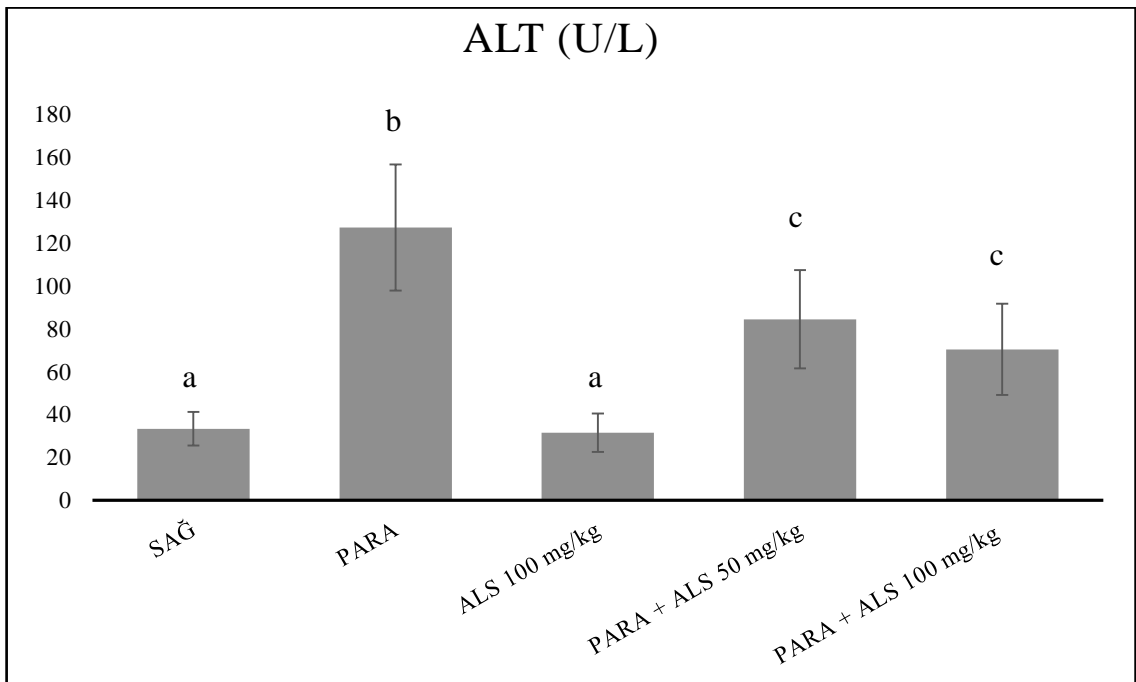
GRUPLAR	ALT (U/L)	AST(U/L)
SAĞ	33.34±7.84 ^a	56.44±10.64 ^a
PARA	127.15±29.39 ^b	179.33±45.22 ^b
ALS 100 mg/kg	31.45±8.93 ^a	61.89±21.63 ^a
PARA + ALS 50 mg/kg	84.34±22.88 ^c	104.88±23.09 ^c
PARA + ALS 100 mg/kg	70.33±21.22 ^c	133.65±15.29 ^d

***SAĞ: Sağlıklı, ALS: Aliskiren, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Analizler One-Way ANOVA testinde Post Hoc Duncan yöntemi ile elde edildi. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. Değerler: ORT \pm SD

Tablo 4.1.'den anlaşıldığı üzere sağlıklı, parasetamol 2 g/kg, ALS 100 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg deney gruplarındaki ALT miktarları sırası ile; 33.34 U/L protein, 127.15 U/L protein, 31.45 U/L protein, 84.34 U/L protein, 70.33 U/L protein olarak ölçüldü. Parasetamol 2 g/kg verilen grupta yani toksisite oluşturulan grupta ALT miktarı önemli miktarda artarken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasında parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg gruplarında toksisite grubuna göre önemli miktarda düzelme görülmüştür. En iyi düzelmenin ise parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görülmektedir.

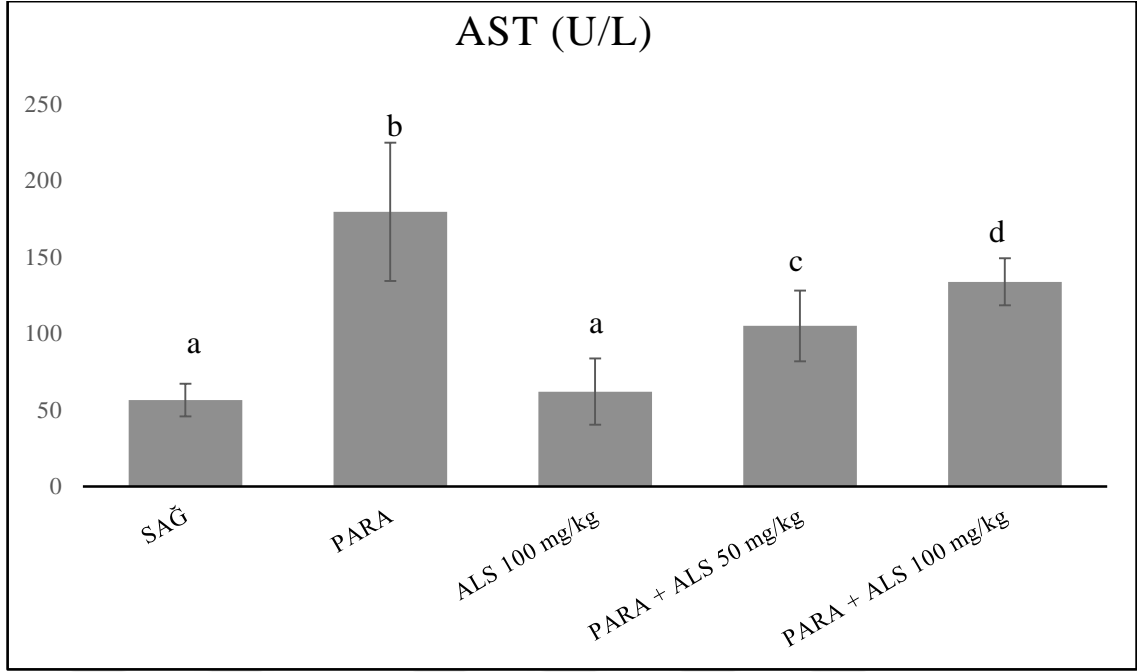
Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi sağlıklı, parasetamol 2 g/kg, ALS 100 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg deney gruplarındaki deney gruplarındaki AST miktarları sırası ile; 56.44 U/L protein, 179.33

U/L protein, 61.89 U/L protein, 104.88 U/L protein, 133.65 U/L protein olarak ölçüldü. Parasetamol 2 g/kg verilen grupta AST miktarı önemli miktarda artarken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasında parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg gruplarında toksisite grubuna göre önemli miktarda düzelme görülmüştür. En iyi düzelmenin ise Parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg grubunda olduğu açık bir şekilde görülmektedir.



Şekil 4.7. Sıçan serumunda ölçülen ALT miktarının grafikte gösterilmesi

***SAĞ: Sağlıklı, ALS: Aliskiren, PARA: Parasetamol 2g/kg. Grafikteki her bir sütunda eşit harf veya harflerle belirtilen sonuçlar arasında Post Hoc Duncan testine göre istatistiksel açıdan anlamlı bir nüans yoktur. (p<0.05)



Şekil 4.8. Sıçan serumunda ölçülen AST miktarının grafikte gösterilmesi
 ***SAĞ: Sağlıklı, ALS: Aliskiren, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Grafikteki her bir sütunda eşit harf veya harflerle belirtilen sonuçlar arasında Post Hoc Duncan testine göre istatistiksel açıdan anlamlı bir nüans yoktur. ($p < 0.05$)

4.3.2. SOD aktivitesi, GSH, MDA Ölçümleri

Tablo 4.2. Sıçan karaciğer dokusunda ölçülen SOD, GSH ve MDA miktarları.

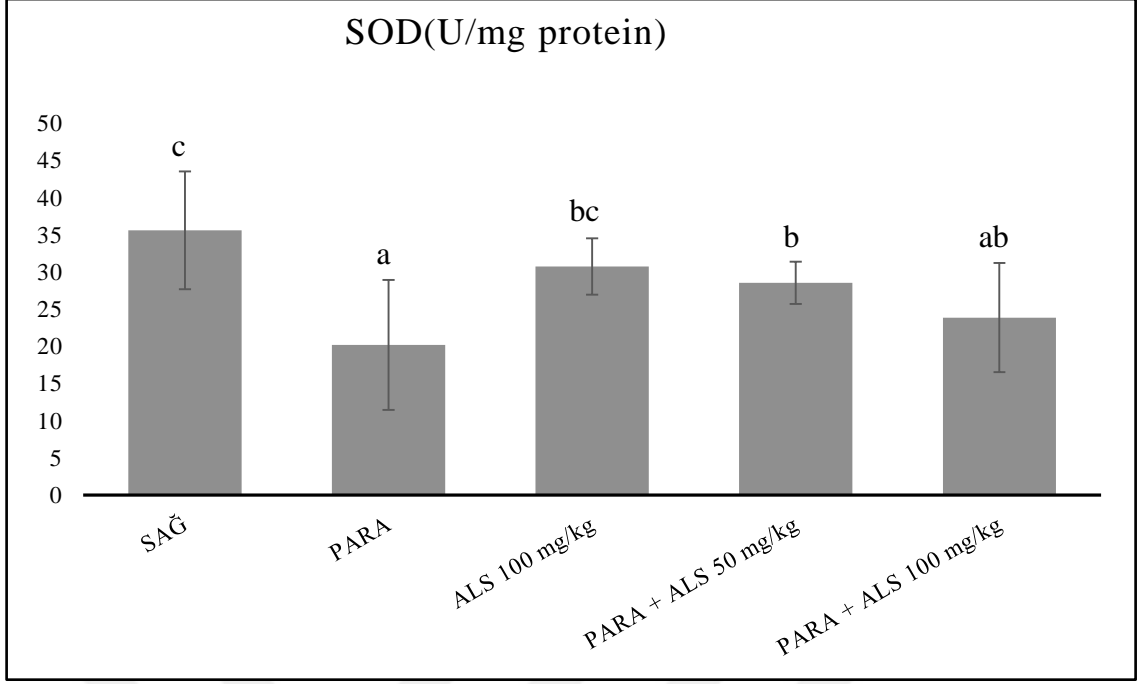
GRUPLAR	SOD(U/mg protein)	GSH(nmol/mg protein)	MDA(nmol/mg protein)
SAĞ	35.59±7.92 ^c	4.87±0.51 ^c	1.68±0.37 ^a
PARA	20.18±8.74 ^a	2,65±1,04 ^a	4.24±1.08 ^c
ALS 100 mg/kg	30.74±3.78 ^{bc}	4,25±1.01 ^{bc}	1.95±0.78 ^{ab}
PARA + ALS 50 mg/kg	28.55±2.85 ^b	4.25±0.86 ^{bc}	2.46±1.37 ^{ab}
PARA + ALS 100 mg/kg	23.86±7.35 ^{ab}	3.91±0.81 ^b	3.00±1.26 ^b

***SAĞ: Sağlıklı, ALS: Aliskiren, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Analizler One-Way ANOVA testinde Post Hoc Duncan çoklu karşılaştırma yöntemi ile elde edildi. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi. (Değerler: ORT ±SD)

Tablo 4.2.'den anlaşıldığı üzere sağlıklı, parasetamol 2 g/kg, ALS 100 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg deney gruplarındaki SOD seviyeleri sırası ile; 35.59 U/mg, 20.18 U/mg, 30.74 U/mg, 28.55 U/mg, 23.86 U/mg protein olarak gözlemlendi. Gruplar arasında antioksidan aktivite olarak SOD seviyesindeki en ciddi azalma parasetamol 2g/kg grubunda yani toksisite oluşturulan grupta gözlenirken, parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg gruplarında toksisite grubuna göre SOD miktarı anlamlı bir şekilde yükselmiş olup; koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg grubunda gözlemlendi.

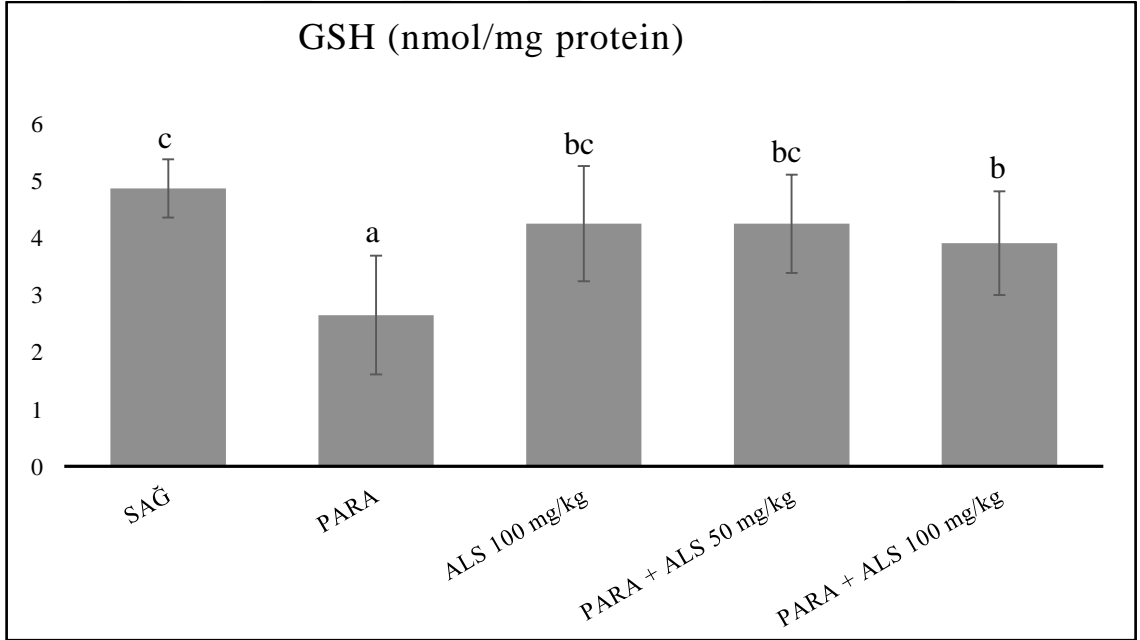
Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi sağlıklı, parasetamol 2 g/kg, ALS 100 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg deney gruplarındaki GSH seviyeleri sırası ile; 4.87 nmol/mg, 2.65 nmol/mg, 4.25 nmol/mg, 4.25 nmol/mg ve 3.91 nmol/mg protein olarak gözlemlendi. Gruplar arasında antioksidan aktivite olarak GSH seviyesi açısından en ciddi azalma parasetamol 2 g/kg grubunda gözlenirken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg ve parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg gruplarında gözlemlendi.

Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi sağlıklı, parasetamol 2 g/kg, ALS 100 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg, parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg gruplarının rat karaciğer dokusunda MDA seviyeleri grup sıralamasına uygun bir şekilde; 1.68 nmol/mg, 4.24 nmol/mg, 1.95 nmol/mg, 2.46 nmol/mg ve 3.00 nmol/mg protein olarak gözlemlendi. Parasetamol 2 g/kg verilen grupta MDA seviyesinin önemli derecede arttığı gözlenirken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme parasetamol 2 g/kg + ALS 50 mg/kg ve parasetamol 2 g/kg + ALS 100 mg/kg gruplarında gözlemlendi.



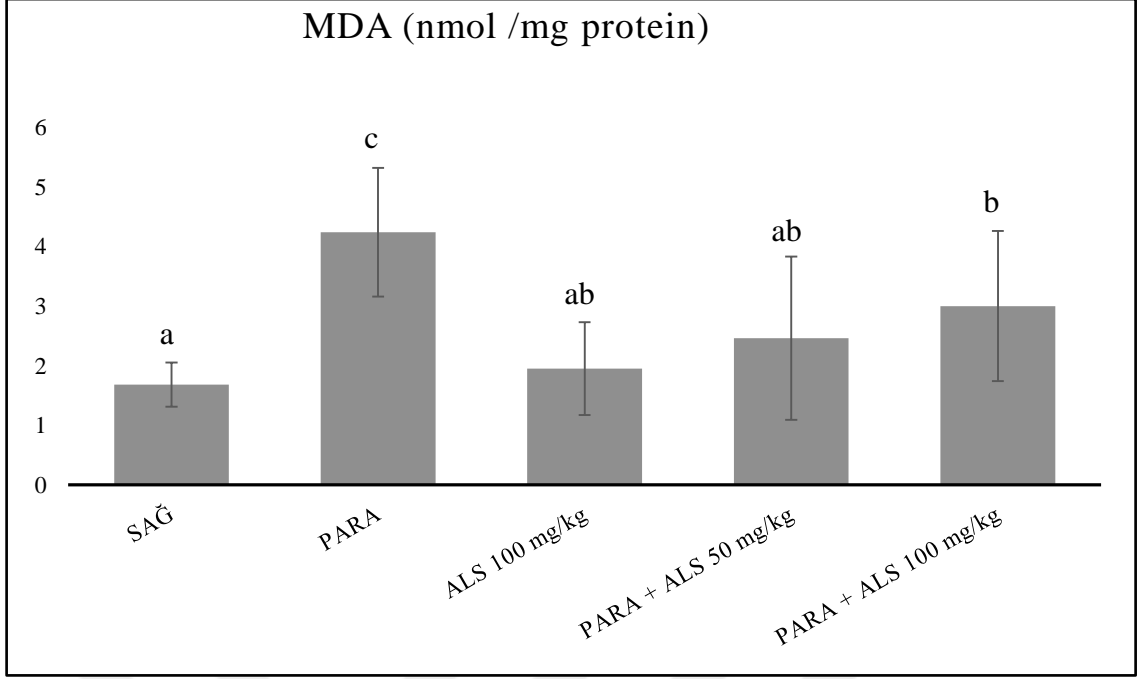
Şekil 4.9. Sıçan serumundaki SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi

***SAĞ: Sağlıklı, ALS: Aliskiren, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Grafikteki her bir sütunda eşit harf veya harflerle belirtilen sonuçlar arasında Post Hoc Duncan testine göre istatistiksel açıdan anlamlı bir nüans yoktur. (p<0.05)



Şekil 4.10. Sıçan serumundaki GSH seviyesinin grafikte gösterilmesi

***SAĞ: Sağlıklı, ALS: Aliskiren, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Grafikteki her bir sütunda eşit harf veya harflerle belirtilen sonuçlar arasında Post Hoc Duncan testine göre istatistiksel açıdan anlamlı bir nüans yoktur. (p<0.05)



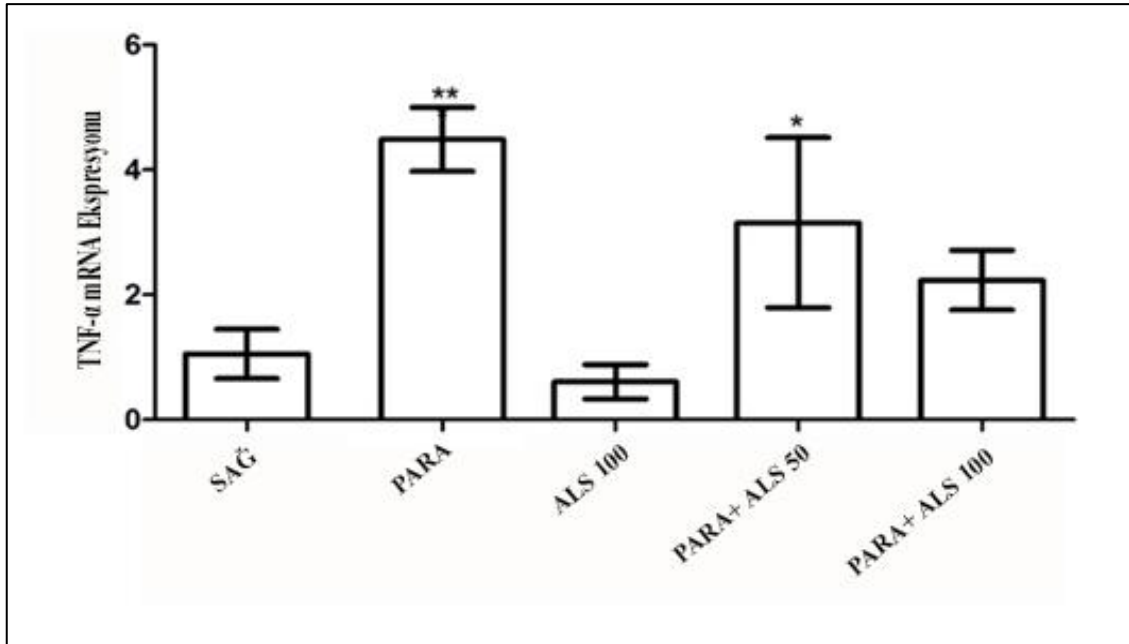
Şekil 4.11. Sıçan serumundaki MDA miktarının grafikte gösterilmesi

***SAĞ: Sağlıklı, ALS: Aliskiren, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Grafikteki her bir sütunda eşit harf veya harflerle belirtilen sonuçlar arasında Post Hoc Duncan testine göre istatistiksel açıdan anlamlı bir nüans yoktur .(p<0.05)

4.4. Moleküler Bulgular

4.4.1. TNF- α Analizleri

Bu çalışmamızda TNF- α seviyesini RT-PCR yöntemiyle göstermiş olduk. TNF- α gen ekspresyonu parasetamol ile indüklenen tosisite grubunda sağlıklı grubuna göre 4.26 kat artış göstermektedir (Şekil 4.13.). Parasetamol + ALS 50 mg/ kg ve parasetamol + ALS 100 mg/ kg grupları ise TNF- α ekspresyonu üzerinde sırasıyla 2.99 ve 2.11 kat aşağı düzenleyici bir etki göstermiştir.



Şekil 4.12. Sıçan karaciğer dokusunda ölçülen TNF- α miktarları

mRNA'ların ekspresyonu, kantitatif real time (gerçek zamanlı) PCR analizi ile tespit edildi. Referans gen olarak β -actin kullanıldı. Sonuçlar, kontrol grubu ratları ile nispi kat olarak karşılaştırılarak ifade edildi. Gene özgü probler (sondalar) Materyal ve Metod bölümünde belirtildiği gibi kullanıldı. Nispi ekspresyon seviyeleri $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu ile hesaplandı. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ anlamlı olarak kabul edilir. Değerler: ORT \pm S.D.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, sıçanlarda parasetamol kaynaklı karaciğer hasarına karşı bir renin inhibitörü olan aliskirenin etkileri araştırıldı. Parasetamol analjezik ve antipiretik bir ajan olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak yüksek dozlarda kullanıldığında parasetamolün insanlarda ve deneysel hayvan modellerinde karaciğer hasarına neden olduğu bilinmektedir.^{256, 257}

İngiltere’de 7000 anne ile birlikte yapılan bir çalışmada annelerin % 84’ünün çocuklarına doğumdan sonraki ilk 6 ayda parasetamol verdiği gösterilmiştir.⁷⁵ Yetişkin bireylerin haricinde bebeklerde parasetamol kullanımı göze çarpmaktadır. Parasetamolün kolay erişilebilir bir ilaç olması, bu denli yaygın ve yüksek doz kullanılması nedeniyle toksisite riski yüksektir.

Parasetamol toksisitesi sağlık kuruluşlarının, özellikle de acil servislerin önemli bir iş yükünü oluşturmakta olup ve yüksek dozda parasetamol alımına bağlı hepatotoksisite dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmiştir.²⁵⁸

Aliskiren ise plazmada aktif olarak dolaşan reninin inhibisyonunu sağlayarak pek çok patolojik olayda rolü gösterilmiş olan Ag II’nin üretilmesine engel olmaktadır. Tüm bu bilgiler ışığında bizler de parasetamol kaynaklı akut karaciğer toksisitesi gibi toplum sağlığında yaygın bir yeri olan bu vakaların tedavisinde aliskiren’ in etkili olabileceğini düşündük. Ve bu etkilerini gerek antioksidan sistemi aktive ederek gerekse enflamatuvar süreci baskılayarak ortaya koyduğunu gösterdik.

Parasetamol primer olarak karaciğerde metabolize edilir. Tedavi edici dozlarda kullanılan parasetamol; majör metabolitleri olan, toksik olmayan ve idrarda atılabilen, glukuronik asit-sülfat konjugatları olarak elimine edilir. Parasetamolün yalnız küçük bir bölümü (%5 den azı) CYP P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) tarafından oksidatif yolla toksik etkiler oluşturan oldukça reaktif bir ürün olan NAPQI

metabolitine çevrilir. Normal koşullarda bu toksik reaktif metabolit redükte GSH tarafından detoksifiye edilir. Ancak parasetamolün yüksek dozlarda alınması konjugasyon yolunun doyuma ulaşmasına ve buna bağlı olarak da oksidatif strese karşı en önemli hücresel savunma moleküllerinden biri olan GSH'da azalma ve toksik reaktif metabolitlerin oluşumunda artışa ve dokunun zarar görmesine neden olur.⁵⁰ Anlatılan bu mekanizma parasetamol ile oluşturulan karaciğer toksisitesi için ana yolak olarak kabul görür.²⁵⁹

Genellikle yüksek doz parasetamol alımının 72-96 saat sonrasında fulminan hepatik toksisitesi oluşur. Bunun sonucu olarak karaciğer transaminazlarında önemli ölçüde artış gözlenir. Nekroz ve membran hasarı transaminazların dolaşıma sızmasına sebebiyet verir. Bu sebepten karaciğer hasarı oluşması durumunda bu enzimlerin seviyelerindeki yükselme kaçınılmazdır. Enzim seviyelerindeki bu artış hücre zarının fonksiyonel bütünlüğünün bozulduğuna dair bir işarettir.²⁶⁰ Bu nedenle parasetamole bağlı gelişen karaciğer hasarı değerlendirilmesinde öncelikle serum ALT ve AST seviyeleri belirlenmelidir. Bu enzimler karaciğer hastalıklarının tanısında kullanılan çok hassas belirteçlerdir.³⁰ Kuvandik G. ve arkadaşları ratlar üzerinde parasetamol toksisitesi oluşturmuş oldukları bir çalışmada toksisite oluşturulan gruplarda serum AST ve ALT seviyelerinin yükseldiğini tespit etmişlerdir.²⁶¹ Ahmed ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise parasetamol ratlara oral yolla uygulanarak karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ve Ambrosia Maritimanın koruyucu etkileri araştırılmıştır. Yapılan ölçümlerde AST ve ALT değerlerinin toksik grupta, kontrol grubuna göre belirgin derecede arttığı saptanmıştır.²⁶² Yayla ve arkadaşları tarafından ratlarda parasetamol ile toksisite oluşturulan grupta serum AST ve ALT seviyesi anlamlı bir şekilde yükselmiş, tedavi gruplarında ise düşmüştür.²⁶³ Bu verileri destekleyici pek çok çalışma bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda da parasetamol toksisitesinden 24 saat sonra alınan

kan örneklerinden yapılan ölçümlerde, toksisite oluşturulan grupta AST ve ALT değerleri artarken, aliskiren uygulanan grupların karaciğer hasarına bağlı olarak dolaşıma sızan AST ve ALT değerlerinde toksisite grubuna göre önemli derecede bir azalma görüldü. Literatüre baktığımızda sonuçlarımıza ters olarak; antiepileptik tedavi ile birlikte aliskiren verilen 61 yaşındaki bir kadında tedaviye başlandıktan bir ay sonra asemptomatik akut karaciğer sirozu gelişmiş ve ALT, AST seviyelerinde dramatik artış saptanmıştır.²⁶⁴ Farelerde Karbon tetra klorür ile yapılan başka bir hepatik toksisite çalışmasında ise aliskirenin terapötik etkisinin olduğu görülmüştür.²⁶⁵ Bu sonuçlar aliskirenin uzun süreli kullanımında yaptığı hepatik hasarı akut kullanımda yapmadığını hatta AST ve ALT seviyelerini düşürerek karaciğer hasarını enzimatik olarak düzelttiğini göstermiştir.

Parasetamol toksisitesine bağlı olarak gelişen karaciğer hasarının diğer belirleyicileri; antioksidan enzim aktiviteleri, enflamatuvar sitokinler, histopatolojik inceleme ve oksidanların seviyeleri olduğu daha önceki çalışmalarda görülmektedir.²⁶⁶ Parasetamol toksisitesine bağlı oksidatif stresten sorumlu parametrelerden biri süperoksit radikalidir. Bazı çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin artmasına neden olan mekanizmalar üzerinde araştırmalar yapılmış ve üç farklı mekanizma tanımlanmıştır. Bu mekanizmaların hepsinde süperoksit seviyesinin artışının oksidatif stres oluşumunda kritik bir öneme sahip olduğu gösterilmiştir.^{267, 268} Süperoksit seviyesindeki yükselme hücrede diğer reaktif oksijen türlerinden olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit üretiminin artmasına neden olmaktadır.^{269, 270} SOD, süperoksitin oksijen ve hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen bir enzim ailesidir. Süperoksit hücrelerde ana reaktif oksijen ürünlerinden biridir ve dolayısıyla SOD anahtar bir antioksidan olarak rol oynar. Katalaz ve SOD gibi antioksidan enzimler lipit peroksidazlar yahut reaktif oksijen ürünlerince gayet kolay bir şekilde inaktive hale

getirilirlir ve böylece parasetamol ile oluşturulan toksisitede bu enzim aktivitesinde azalmalar tespit edilmiştir.²⁷¹

Hücreleri süperoksit radikallerinin lipid peroksidasyonu gibi hasar verici etkilerine karşı korumak SOD'un başlıca görevidir. M. Tolulope Olaleye ve arkadaşları farelerde parasetamol ile hepatotoksisite oluşturdukları çalışma ile hepatik SOD seviyesinin parasetamol verilen gruplarda anlamlı bir şekilde dştgn göstermişlerdir.²⁷² Daha önce yapılan diğer çalışmalarda da parasetamol toksisitesine bağlı karaciğer hasarı oluşan grupta SOD seviyesinin azaldığı tedavi yapılan gruplarda ise arttığı gösterilmiştir.^{273, 274} Bizim alışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Aynı zamanda aliskirenin karaciğer dokusu dışında yapılan diğer çalışmalarında da SOD aktivitesini artırdığı ve yüksek antioksidant özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir.²⁷⁵ Bu sonuçlara bakarak aliskirenin dokulardaki oksidatif hasarı azalttığını ve hepatik antioksidan enzim aktivitesini artırdığını söyleyebiliriz.

Tiyol grubu içeren, düşük molekül ağırlıklı oldukça önemli bir tripeptid olan Glutasyon, organizmada DNA ve protein sentezleri, enzim aktivitesinin düzenlenmesi, hücre içi ve dışı transportlar gibi hüresel görevlere ilaveten başlıca antioksidan olarak hücre savunmasında da önemli rol oynar.²⁷⁶ GSH başlıca serbest radikal türlerini yani, hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri gibi serbest radikal türlerini uzaklaştırarak doku hasarına engel olmaktadır. Karaciğer hücrelerinde GSH seviyesindeki azalma parasetamol toksisitesinde çok önemli bir rol oynar. Hatta parasetamol toksisitesinde adeta karaciğer hasarını başlatan bir kıvılcım olarak belirtilen faktör GSH'ın tükenmesidir.²⁷⁷

Parasetamolün yüksek doz alımına bağlı gelişen oksidatif stresin gerçekleşmesine aracılık eden NAPQI'nın, GSH düzeylerinde düşüşe ve bu düşüşe bağlı olarak lipit peroksidasyonunda artmaya neden olduğu bilinmektedir.²⁷⁸ şöyle ki,

normal şartlar altında NAPQI GSH'a bağlanır ve GSH tarafından etkisiz hale getirilir. Toksikite durumunda ise GSH depolarını tüketen NAPQI GSH'a bağlanamayarak serbest kalır ve kovalent bağıyla hücredeki proteinlere bağlanır. Böylece sentrobüler hepatik nekroz oluşumunun yanı sıra GSH düzeylerinin azalması lipit peroksidasyonunun artmasına neden olur. Literatür araştırmalarında parasetamolle bağlı hepatotoksisitenin patofizyolojisinde karaciğer dokusundaki GSH depolarının tükenmesinin rolünü gösteren birçok çalışma vardır. Yapılan bir çalışmada serum GSH değerleri parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulan grupta, kontrol grubuna göre azalmış olarak saptanmış olup agomelatin verilen tedavi gruplarında ise bu değerlerde artış belirlenmiştir.²⁵⁶ Aynı zamanda aliskirenin karaciğer dokusu dışında yapılan diğer çalışmalarında da GSH aktivitesini artırdığı gösterilmiştir.²⁷⁹ Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer olarak parasetamol verilmesi ile GSH seviyesinin azaldığı, aliskiren ile tedavi edilen gruplarda istatistiksel olarak arttırdığı gösterilmiştir. Yani aliskiren uygulaması ile GSH düzeyi artmış ve AHH'ya karşı koruma gözlenmiştir.

Parasetamole bağlı karaciğer hasarını oluşturan en önemli mekanizmalardan biri olan lipit peroksidasyonu serbest oksijen radikallerine bağlı olarak meydana gelir. Serbest oksijen radikallerinin membranda bol miktarda bulunan lipitleri etkilemesi ile lipit peroksidasyonu başlar. Lipit peroksidasyon olayının zincir aşamasında beliren son derece dayanıksız olan lipit hidroperoksitler özellikle zincirde açılmalar şeklinde yapısal bozulmalara uğrayarak çeşitli metabolik şekillere dönüşmektedirler. Lipit peroksidasyonunda sonlanma basamağının ürünü olan MDA gibi reaktif aldehitler açığa çıkmaktadır. Ortaya çıkmış olan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişini etkileyip membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi istenmeyen sonuçlara neden olmaktadır. MDA bu özelliğiyle DNA'nın nitrojen bazları ile tepkimeye girerek mutajenik, hücre kültürleri

için genotoksik ve karsinojenik etkilerini göstermektedir.^{280, 281} Bundan anlayacağımız üzere hücredeki hasarın bir göstergesi olarak karşımıza çıkan MDA lipid peroksidasyonun en yaygın belirteçlerindedir.^{282, 283} Shahjahan M. ve arkadaşlarının ratlarda CCl₄ indüklenen karaciğer hasarı modelinde oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna bağlı olarak MDA seviyesinde artış olduğu gösterilmiştir.²⁸⁴ Ratlara 2,5 g/kg parasetamol verilerek oluşturulan karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerinde yapılan bir araştırmada parasetamol grubunda MDA seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldiği gözlenmiştir. Uygulanan tedavi ile MDA seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir.²⁸⁵

Bu çalışmamızda da lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA seviyelerini inceledik. Yapılan bazı çalışmalarda parasetamol toksisitesine bağlı gelişen karaciğer hasarında artmış olan MDA seviyeleri verilen tedavi ile düşmüştür.^{286, 287} Bu yakın zamanlı çalışmaları destekler nitelikteki bir çalışmada Hassanin A. ve arkadaşları tarafından aliskirenin MDA seviyelerini düşürdüğü görülmüştür.²⁸⁸ Bizim çalışmamızda da yapılan bu çalışmalara benzer olarak parasetamol toksisitesi oluşturulan gruplarda MDA seviyesinin kontrol grubuna nazaran önemli derecede artmış olduğu gözlendi. Yani bu bulgu toksisite grubunda oksidatif stres oluştuğunu ve serbest radikallerin üretimine engel olan antioksidan savunma sisteminin çöktüğünü göstermektedir. Aynı zamanda sonuçlarımızda tedavi gruplarında ölçülen MDA seviyesini aliskirenin azalttığı gösterilmiştir.

Klasik toksikoloji sürecinde önemli bir rol oynaması nedeniyle günümüzde oldukça dikkat çeken konu enflamasyondur. Bu süreçteki birçok medyatör arasında başroldeki santral medyatörlerden proinflamatuvar sitokinler daha fazla dikkat çekmektedir. Biz de çalışmamızda bağıışıklık, enflamasyon ve apoptosiste önemli rolleri bulunan bir proinflamatuvar sitokin olan TNF- α seviyesini moleküler düzeyde

inceledik.²⁸⁹ TNF- α , çoğunlukla karaciğerdeki aktive edilmiş Kupffer hücre tarafından salgılanarak doğal immünitelye aracılık eder.^{290, 291} İskemi reperfüzyon ve fulminan hepatik yetmezlik gibi karaciğer hasarının birçok şeklinde TNF- α 'nın önemli bir yeri olduğu bilinmektedir.²⁴⁵ Yapılan bir diğery çalışmada ise bilimadamları, testis reperfüzyonu sonrasında inflamatuvar sitokinlerden TNF- α ve IL-1 β 'de artış olduğunu belirtmişlerdir.²⁹²

Karaciğer rejenerasyonu sırasında normal hepatosit proliferasyonu için gerekli olan TNF- α bir diğery yandan da hepatotoksisite mediyatörüdür. Diğery bir deyişle TNF- α aşırı agresif inflamatuvar sürecini başlatarak hücre hasarını daha kötü duruma getirebileceği gibi apoptozisi ve hücre profilasyonunu uyararak doku onarımına da yardım eder.

Yüksek doz parasetamol alımı sonucu kupfer hücrelerinden TNF- α salgılanmaktadır.²⁹³ Karaciğer hasarının dolaylı bir göstergesi olarak artan TNF- α düzeyi karaciğer hasarında çok önemli rol oynamaktadır.²⁴⁶ Wu Y.L.ve arkadaşları tarafından yapılan diğery bir çalışmada fareler üzerinde parasetamol toksisitesi oluşturulmuş ve parasetamol verilen gruplarda TNF- α seviyesinde artış gözlenmiştir.²⁹⁴ Parasetamol toksisitesinde Kupffer hücrelerinin hepatoprotektif rolü TNF- α üretimi ve salgılanmasına atfedilmiştir.²⁹⁵

Yapılan bir çalışmada araştırmacılar TNF- α 'nın hepatotoksisiteye katkıda bulunduğunu ileri sürmüştür.²⁹⁶ Yine bununla paralel olarak yapılan iki çalışmada, siroz ve enflamasyon gibi karaciğer hastalıklarının klinik belirtileri biyolojik aktiviteleri değiştirilmiş TNF- α , IL-1 α ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinler ile ilişkilendirilmiştir.^{253,}

²⁹⁶ Blazka ve ark. TNF- α üretimindeki artışın metabolitlerin sebep olduğu hasara ilave olarak sekonder bir hepatik hasara yol açtığını belirtmişlerdir.²⁵³ Ayrıca yapılan çalışmalar Ag II seviyesinin artmasının da oksidatif stres ve inflamasyonu

kötüleştirdiğini göstermiştir.^{279, 297} Aliskiren ile renin-anjiyotensin sisteminin engellemesi ve Ag II'nin azalması ile doku hasarına bağlı oksidatif stres azalmaktadır.²⁰ Daha önce kaptopril ve aliskiren ile yapılan çalışmalarda Ag II üretiminin engellenmesi ile serbest oksijen radikallerinin azaldığı gösterilmiştir.^{279, 298, 299}

Bizim çalışmamızda ise aliskirenin TNF- α seviyelerini düzeltmesi daha önceden gösterilmiş olan antiinflamatuvar, antioksidant veya Ag II üretiminin engellenmesi nedeniyle olabilir. Çalışmamızda deney gruplarının karaciğer dokusu üzerinde yapılan incelemelere göre parasetamol verilen grupta TNF- α seviyesi diğer gruplara oranla 4 kat artmıştır. Bu da bize diğer çalışmalarda da olduğu gibi parasetamol toksisitesi sonucu TNF- α 'nın önemli derecede arttığını bir kez daha göstermiştir. Koruyucu etki oluşturduğumuz aliskiren gruplarında ise TNF- α seviyesinde parasetamol grubuna göre anlamlı derecede düzelmeye gözlenmiştir. Bu da bize karaciğer hasarında önemli rol oynayan TNF- α 'nın etkilerini aliskirenin engelleyebileceğini göstermektedir.

Parasetamol toksisitesine bağlı oluşan karaciğer nekrozu sadece enzimatik değişikliklere değil, karaciğer histopatolojisinde de değişikliklere neden olur. Parasetamol yüksek doz alımı ile sentrilobüler nekroz gelişmektedir.²⁷⁷ Parasetamol ile indüklenen karaciğer toksisitesi ve ilgili konjesyonun patogenezi çok önceki çalışmalarda karakterize edilmiştir.³⁰⁰ Şimdiye kadar yapılan araştırmalar asetaminofenin hepatositlerde yaygın vasküler dejeneratif değişikliklere yol açtığını ve sentrilobüler nekroz oluşturduğunu ortaya koymuştur. Kuvandik G. ve arkadaşları ratlarda parasetamol ile oluşturdukları hepatotoksisite modelinde sentrilobüler hepatik nekroz ve orta düzeyde sinüzoidal konjesyon saptadıkları gibi toksisite oluşturulan grupta sentral ven etrafında sinüzoidal daralma ayrıca sitoplazmik farklılaşmaların diğer gruplara göre oldukça fazla olduğunu göstermişlerdir.²⁶¹ Parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulmuş başka bir çalışmada Moringa Oleifera isimli bir maddenin

antioksidan ve hepatoprotektif etkileri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada parasetamol ile zehirlenme oluşturulan gruptaki ratlardan alınan karaciğer kesitlerinde yapılan histopatolojik incelemede; masif nötrofil, sinuzoidal dilatasyon, sentrolobüler hepatosit dejenerasyonu ve lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir.³⁰¹

Ko ve arkadaşlarının parasetamol ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı Silene Aprica isimli antioksidan bir maddenin koruyucu etkileri araştırdıkları çalışmalarında alınan karaciğer kesitlerindeki histopatolojik incelemede parasetamol toksitesi oluşturulan grupta diffüz nekroz alanları, sinusoidal konjezyon ve lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir.³⁰²

Bizim çalışmamızda da parasetamol ile yapılan deneysel çalışma sonuçlarını destekler şekilde 2 g/kg parasetamol ile toksisite oluşturulan deney grubunda şiddetli nekrotik odaklar gözlemlendi. Bu odaklardaki hepatositlerin yoğun hiperkromatik çekirdekleri ve yoğun eozinofili artışı gerçekleşmiş sitoplazmaları vardı. 50 mg/kg ve 100 mg/kg tedavi dozlarında uygulanan aliskirenin, karaciğerde parasetamol toksisitesini histopatolojik olarak önemli ölçüde önlediği gözlemlendi. Yani, toksisite grubundaki hücrelerle karakterize herhangi bir nekrotik odak kontrol ve tedavi gruplarımızda gözlenmedi. aliskiren verilen gruplarda parankimada vena sentralisten uzanan hepatosit kordonlarının dizilimi parasetamol grubuna göre oldukça düzenli ve neredeyse kontrole yakındı. Bu da bize aliskirenin, parasetamol verilen ratlarda karaciğeri gerek enzimatik gerekse histopatolojik olarak koruduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızda, aliskirenin yüksek doz parasetamolün neden olduğu karaciğer toksisitesi üzerinde koruyucu etkiye sahip olabileceği gösterilmiştir. Parasetamol ile oluşturulan akut karaciğer toksisitesi aliskiren uygulaması ile deneysel olarak geriye döndürülmüştür. Aliskiren uygulanması koruyucu etkisini doku hasarının primer öncüsü olan MDA düzeylerindeki azalmayı, SOD ile GSH gibi antioksidanların ise artışını gerçekleştirip karaciğer hasarına bağlı oluşan oksidan/antioksidan dengesini olumlu yönde etkileyerek, ayrıca proinflamatuvar sitokin olan TNF- α 'nın da ekspresyonlarını olumlu yönde düzelmesini sağlayarak gösterdi. Parasetamole bağlı karaciğer hasarının önemli göstergesi olan serum ALT ve AST seviyeleri de aliskiren grubunda anlamlı olarak azalmıştır.

Tüm bu sonuçlar, ratlarda deneysel olarak oluşturduğumuz parasetamol toksisitesine bağlı karaciğer hasarında aliskirenin gelecekte tedavide umut verici katkısının olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Blough ER, Wu M. Acetaminophen: beyond pain and Fever-relieving. *Front Pharmacol*, 2011, 2: 72.
2. Davidson DG, Eastham WN. Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. *Br Med J*, 1966, 2: 497-499.
3. Rovegno M, Vera M, Ruiz A, Benitez C. Current concepts in acute liver failure. *Ann Hepatol*, 2019, 18: 543-552.
4. Mutimer DJ, Ayres RC, Neuberger JM, Davies MH, Holguin J, Buckels JA, Mayer AD, McMaster P, Elias E. Serious paracetamol poisoning and the results of liver transplantation. *Gut*, 1994, 35: 809-814.
5. Schiodt FV, Atillasoy E, Shakil AO, Schiff ER, Caldwell C, Kowdley KV, Stribling R, Crippin JS, Flamm S, Somberg KA, Rosen H, McCashland TM, Hay JE, Lee WM. Etiology and outcome for 295 patients with acute liver failure in the United States. *Liver Transplantation and Surgery*, 1999, 5: 29-34.
6. Chun LJ, Tong MJ, Busuttill RW, Hiatt JR. Acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure. *J Clin Gastroenterol*, 2009, 43: 342-349.
7. Kwan D, Bartle WR, Walker SE. Abnormal serum transaminases following therapeutic doses of acetaminophen in the absence of known risk factors. *Dig Dis Sci*, 1995, 40: 1951-1955.
8. Johnson GK, Tolman KG. Chronic liver disease and acetaminophen. *Ann Intern Med*, 1977, 87: 302-304.
9. Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Molecular pharmacology*, 1980, 18: 536-542.

10. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical reviews in toxicology*, 2001, 31: 55-138.
11. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Curr Opin Pharmacol*, 2007, 7: 355-359.
12. Kanter MZ. Comparison of oral and i.v. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning. *Am J Health Syst Pharm*, 2006, 63: 1821-1827.
13. Sakuraya K, Endo A, Someya T, Hirano D, Murano Y, Fujinaga S, Ohtomo Y, Shimizu T. The synergistic effect of mizoribine and a direct renin inhibitor, aliskiren, on unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis in rats. *J Urol*, 2013.
14. Moore ED, Kooshki M, Metheny-Barlow LJ, Gallagher PE, Robbins ME. Angiotensin-(1-7) prevents radiation-induced inflammation in rat primary astrocytes through regulation of MAP kinase signaling. *Free Radic Biol Med*, 2013, 65: 1060-1068.
15. Aroor AR, Demarco VG, Jia G, Sun Z, Nistala R, Meininger GA, Sowers JR. The Role of Tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone System in the Development of Endothelial Dysfunction and Arterial Stiffness. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2013, 4: 161.
16. Zhu D, Tong Q, Liu W, Tian M, Xie W, Ji L, Shi J. Angiotensin (1-7) protects against stress-induced gastric lesions in rats. *Biochem Pharmacol*, 2013.
17. Pagano PJ, Ito Y, Tornheim K, Gallop PM, Tauber AI, Cohen RA. An NADPH oxidase superoxide-generating system in the rabbit aorta. *Am J Physiol*, 1995, 268: H2274-2280.

18. Wang Z, Liu Y, Han Y, Guan W, Kou X, Fu J, Yang D, Ren H, He D, Zhou L, Zeng C. Protective effects of aliskiren on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *Eur J Pharmacol*, 2013, 718: 160-166.
19. Rashikh A, Pillai KK, Ahmad SJ, Akhtar M, Najmi AK. Aliskiren alleviates doxorubicin-induced nephrotoxicity by inhibiting oxidative stress and podocyte injury. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2013, 14: 14-22.
20. Rashikh A, Ahmad SJ, Pillai KK, Kohli K, Najmi AK. Aliskiren attenuates myocardial apoptosis and oxidative stress in chronic murine model of cardiomyopathy. *Biomed Pharmacother*, 2012, 66: 138-143.
21. James LP, Gill P, Simpson P. Predicting risk in patients with acetaminophen overdose. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 7: 509-512.
22. Hocaoglu N, Kalkan S, Akgun A, Capar S, Tuncok Y. A retrospective evaluation of analgesic exposures from Izmir, Turkey. *Human & experimental toxicology*, 2007, 26: 629-636.
23. Akkose S, Bulut M, Armagan E, Cebicci H, Fedakar R. Acute poisoning in adults in the years 1996-2001 treated in the Uludag University Hospital, Marmara Region, Turkey. *Clinical toxicology*, 2005, 43: 105-109.
24. Lai MW, Klein-Schwartz W, Rodgers GC, Abrams JY, Haber DA, Bronstein AC, Wruk KM. 2005 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' national poisoning and exposure database. *Clinical toxicology*, 2006, 44: 803-932.
25. Bicer S SS, Cetindag F, Kesikminare M, Tombulca N, Aydogan G, Aldemir H. Acil çocuk kliniği 2005 yılı akut zehirlenme olgularının değerlendirilmesi. *Marmara Medical Journal*, 2007, 20: 7.

26. Yılmaz A KG, Korkmaz İ, Karabulut S. Acil serviste akut zehirlenmelerin retrospektif analizi. *Cerrahpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2006, 28.
27. Lippman M, Rumley W. Medical Emergencies. In: Dunagan WC, Rinder ML (eds). *Manual of Medical Therapeutics*. Boston, Little, Brown and Company, 483-514.
28. Koos O, Kovacs T, Fulop A, Pekli D, Onody P, Lukovich P, Harsanyi L, Kupcsulik P, Hahn O, Szijarto A. [The importance of postoperative circulatory alterations in hepatic surgery]. *Orv Hetil*, 2015, 156: 1938-1948.
29. Junqueira LC CJ. *Basic Histology* 10th Baskı. New York, McGraw Hill Companies Inc, 2003.
30. Ross MH KG, Pawlina W. *Histology A Text and Atlas*. 4th Baskı. USA, Lippincott Williams & Wilkins, 2002.
31. Sass DA, Shakil AO. Fulminant hepatic failure. *Liver Transplantation*, 2005, 11: 594-605.
32. Trey C, Davidson CS. The management of fulminant hepatic failure. *Progress in liver diseases*, 1970, 3: 282-298.
33. Lucke B, Mallory T. The Fulminant Form of Epidemic Hepatitis. *The American journal of pathology*, 1946, 22: 867-945.
34. Bernuau J, Rueff B, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure: definitions and causes. *Seminars in liver disease*, 1986, 6: 97-106.
35. Steinberg JL, Yeo W, Zhong S, Chan JY, Tam JS, Chan PK, Leung NW, Johnson PJ. Hepatitis B virus reactivation in patients undergoing cytotoxic chemotherapy for solid tumours: precore/core mutations may play an important role. *Journal of medical virology*, 2000, 60: 249-255.
36. Schiodt FV, Atillasoy E, Shakil AO, Schiff ER, Caldwell C, Kowdley KV, Stribling R, Crippin JS, Flamm S, Somberg KA, Rosen H, McCashland TM, Hay JE,

- Lee WM. Etiology and outcome for 295 patients with acute liver failure in the United States. *Liver Transpl Surg*, 1999, 5: 29-34.
37. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, Davern TJ, Lalani E, Hynan LS, Reisch JS, Schiodt FV, Ostapowicz G, Shakil AO, Lee WM. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology*, 2005, 42: 1364-1372.
38. Heard KJ. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. *The New England Journal of Medicine*, 2008, 359: 285-292.
39. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS drug reviews*, 2006, 12: 250-275.
40. Shahroor S, Shvil Y, Ohali M, Granot E. [Acetaminophen toxicity in children as a "therapeutic misadventure"]. *Harefuah*, 2000, 138: 654-657, 710.
41. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*, 2007, 11: 525-548, vi.
42. Forrest JA, Clements JA, Prescott LF. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clinical pharmacokinetics*, 1982, 7: 93-107.
43. Kayaalp O. *Non-Steroidall Antiinflatuar ilaçlar*. 12. Baskı. 2009.
44. Camu F, Vanlersberghe C. Pharmacology of systemic analgesics. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2002, 16: 475-488.
45. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drug metabolism. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 185-194.
46. Dahlin DC, Miwa GT, Lu AY, Nelson SD. N-acetyl-p-benzoquinone imine: a cytochrome P-450-mediated oxidation product of acetaminophen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, 81: 1327-1331.

47. Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II. Role of covalent binding in vivo. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 195-202.
48. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 211-217.
49. Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2003, 24: 154-157.
50. Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Molecular pharmacology*, 1980, 18: 536-542.
51. Hinson JA, Reid AB, McCullough SS, James LP. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug metabolism reviews*, 2004, 36: 805-822.
52. Gilman AG. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics* Bask1. 2006.
53. Aniya Y, Yokomakura T, Yonamine M, Nagamine T, Nakanishi H. Protective effect of the mold *Monascus anka* against acetaminophen-induced liver toxicity in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 1998, 78: 79-82.
54. Gerson RJ, Casini A, Gilfor D, Serroni A, Farber JL. Oxygen-mediated cell injury in the killing of cultured hepatocytes by acetaminophen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1985, 126: 1129-1137.
55. Jaya DS, Augustine J, Menon VP. Role of lipid peroxides, glutathione and antiperoxidative enzymes in alcohol and drug toxicity. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1993, 31: 453-459.

56. Mirochnitchenko O, Weisbrot-Lefkowitz M, Reuhl K, Chen L, Yang C, Inouye M. Acetaminophen toxicity. Opposite effects of two forms of glutathione peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274: 10349-10355.
57. Potter WZ, Davis DC, Mitchell JR, Jollow DJ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. 3. Cytochrome P-450-mediated covalent binding in vitro. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 203-210.
58. Slattery JT, Wilson JM, Kalhorn TF, Nelson SD. Dose-dependent pharmacokinetics of acetaminophen: evidence of glutathione depletion in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1987, 41: 413-418.
59. JE F. *Analytical Profiles of Drug Substances*. Baski. New York and London, 1974: 1-109.
60. Clissold SP. Paracetamol and phenacetin. *Drugs*, 1986, 32 Suppl 4: 46-59.
61. Lim RK, Guzman F, Rodgers DW, Goto K, Braun C, Dickerson GD, Engle RJ. Site of Action of Narcotic and Non-Narcotic Analgesics Determined by Blocking Bradykinin-Evoked Visceral Pain. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, 1964, 152: 25-58.
62. Milton AS, Wendlandt S. A possible role for prostaglandin E1 as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat. *The Journal of physiology*, 1970, 207: 76P-77P.
63. Feldberg W, Gupta KP, Milton AS, Wendlandt S. Effect of pyrogen and antipyretics on prostaglandin activity in cisternal c.s.f. of unanaesthetized cats. *The Journal of physiology*, 1973, 234: 279-303.
64. Graham GG, Scott KF. Mechanism of action of paracetamol. *American Journal of Therapeutics*, 2005, 12: 46-55.

65. 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. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 2002, 8: BR496-503.
66. Botting RM. Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2000, 31 Suppl 5: S202-210.
67. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2004, 18: 790-804.
68. Davies NM, Good RL, Roupe KA, Yanez JA. Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice error?--Not as easy as 1, 2, 3. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques*, 2004, 7: 217-226.
69. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 11 Baskı. Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd Şti, 2005.
70. Aaron CK HM. *Insecticides: Organophosphates and carbamates*. 6th Baskı. Appleton-Lange, 2000.
71. Graham GG, Scott KF, Day RO. Tolerability of paracetamol. *Drug safety : an international journal of medical toxicology and drug experience*, 2005, 28: 227-240.
72. BG. K. *Basic and Clinical Pharmacology*. 10th Baskı. New York, McGraw Hill Companies Inc, 2007
73. Fontana RJ. Acute liver failure due to drugs. *Seminars in liver disease*, 2008, 28: 175-187.

74. O.S. K. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 11. Baskı. Ankara, Hacettepe-Taş 2005: 849-850.
75. Hawkins N, Golding J. A survey of the administration of drugs to young infants. The Alspac Survey Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1995, 40: 79-82.
76. Khan MA, Pumar A, Vassilicos JC. Kinematic simulation of turbulent dispersion of triangles. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 2003, 68: 026313.
77. Arici S. Toksik Hepatit. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 2008, 1: 113-119.
78. Norris W, Paredes AH, Lewis JH. Drug-induced liver injury in 2007. *Curr Opin Gastroenterol*, 2008, 24: 287-297.
79. Arundel C, Lewis JH. Drug-induced liver disease in 2006. *Current opinion in gastroenterology*, 2007, 23: 244-254.
80. Zimmerman HJ. Drug-induced liver disease. *Drugs*, 1978, 16: 25-45.
81. Gibson JD, Pumford NR, Samokyszyn VM, Hinson JA. Mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity: covalent binding versus oxidative stress. *Chemical Research in Toxicology*, 1996, 9: 580-585.
82. Nelson SD. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. *Seminars in liver disease*, 1990, 10: 267-278.
83. Pumford NR, Roberts DW, Benson RW, Hinson JA. Immunochemical quantitation of 3-(cystein-S-yl)acetaminophen protein adducts in subcellular liver fractions following a hepatotoxic dose of acetaminophen. *Biochem Pharmacol*, 1990, 40: 573-579.
84. Jaeschke H, Bajt ML. Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen-induced liver cell death. *Toxicol Sci*, 2006, 89: 31-41.

85. Wallace JL. Acetaminophen hepatotoxicity: NO to the rescue. *Br J Pharmacol*, 2004, 143: 1-2.
86. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*, 1993, 329: 2002-2012.
87. Laskin DL, Rodriguez del Valle M, Heck DE, Hwang SM, Ohnishi ST, Durham SK, Goller NL, Laskin JD. Hepatic nitric oxide production following acute endotoxemia in rats is mediated by increased inducible nitric oxide synthase gene expression. *Hepatology*, 1995, 22: 223-234.
88. Hodgson PD, Renton KW. The role of nitric oxide generation in interferon-evoked cytochrome P450 down-regulation. *Int J Immunopharmacol*, 1995, 17: 995-1000.
89. Nussler AK, Beger HG, Liu ZZ, Billiar TR. Nitric oxide, hepatocytes and inflammation. *Res Immunol*, 1995, 146: 671-677.
90. Shinagawa T, Yoshioka K, Kakumu S, Wakita T, Ishikawa T, Itoh Y, Takayanagi M. Apoptosis in cultured rat hepatocytes: the effects of tumour necrosis factor alpha and interferon gamma. *J Pathol*, 1991, 165: 247-253.
91. Laskin JD, Heck DE, Gardner CR, Laskin DL. Prooxidant and antioxidant functions of nitric oxide in liver toxicity. *Antioxid Redox Signal*, 2001, 3: 261-271.
92. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 1990, 186: 421-431.
93. Blazka ME, Elwell MR, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Histopathology of acetaminophen-induced liver changes: role of interleukin 1 alpha and tumor necrosis factor alpha. *Toxicologic pathology*, 1996, 24: 181-189.

94. Blazka ME, Wilmer JL, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 1995, 133: 43-52.
95. Laskin DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ. Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*, 1995, 21: 1045-1050.
96. Hung O NL. *Acetaminophen*. 4th Baskl. ABD, Mc Graw Hill 2000
97. Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological Reviews*, 2004, 56: 387-437.
98. Hartley V. Paracetamol overdose. *Emergency Nurse*, 2002, 10: 17-24.
99. Kozer E, Koren G. Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug Safety*, 2001, 24: 503-512.
100. Bray GP, Harrison PM, O'Grady JG, Tredger JM, Williams R. Long-term anticonvulsant therapy worsens outcome in paracetamol-induced fulminant hepatic failure. *Human & experimental toxicology*, 1992, 11: 265-270.
101. Sanaka M, Kuyama Y, Mineshita S, Qi J, Hanada Y, Enatsu I, Tanaka H, Makino H, Yamanaka M. Pharmacokinetic interaction between acetaminophen and lansoprazole. *Journal of clinical gastroenterology*, 1999, 29: 56-58.
102. Whitcomb DC, Block GD. Association of acetaminophen hepatotoxicity with fasting and ethanol use. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 1994, 272: 1845-1850.
103. Zimmerman HJ, Maddrey WC. Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: analysis of instances of therapeutic misadventure. *Hepatology*, 1995, 22: 767-773.

104. Polson J, Lee WM, American Association for the Study of Liver D. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology*, 2005, 41: 1179-1197.
105. Fontana RJ. Acute liver failure including acetaminophen overdose. *Med Clin North Am*, 2008, 92: 761-794, viii.
106. Korman JD, Volenberg I, Balko J, Webster J, Schiodt FV, Squires RH, Jr., Fontana RJ, Lee WM, Schilsky ML, Pediatric, Adult Acute Liver Failure Study G. Screening for Wilson disease in acute liver failure: a comparison of currently available diagnostic tests. *Hepatology*, 2008, 48: 1167-1174.
107. Broussard CN, Aggarwal A, Lacey SR, Post AB, Gramlich T, Henderson JM, Younossi ZM. Mushroom poisoning--from diarrhea to liver transplantation. *Am J Gastroenterol*, 2001, 96: 3195-3198.
108. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *The New England Journal of Medicine*, 1993, 329: 2002-2012.
109. Rumack BH, Matthew H. Acetaminophen poisoning and toxicity. *Pediatrics*, 1975, 55: 871-876.
110. Wallace CI, Dargan PI, Jones AL. Paracetamol overdose: an evidence based flowchart to guide management. *Emergency Medicine Journal*, 2002, 19: 202-205.
111. Schilling A, Corey R, Leonard M, Eghtesad B. Acetaminophen: old drug, new warnings. *Cleve Clin J Med*, 2010, 77: 19-27.
112. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*, 2007, 11: 525-548, vi.
113. Black M. Acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology*, 1980, 78: 382-392.
114. Salgia AD, Kosnik SD. When acetaminophen use becomes toxic. Treating acute accidental and intentional overdose. *Postgraduate medicine*, 1999, 105: 81-84, 87, 90.

115. Brok J, Buckley N, Gluud C. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane database of systematic reviews*, 2006: CD003328.
116. Underhill TJ, Greene MK, Dove AF. A comparison of the efficacy of gastric lavage, ipecacuanha and activated charcoal in the emergency management of paracetamol overdose. *Archives of emergency medicine*, 1990, 7: 148-154.
117. Burkhart KK, Janco N, Kulig KW, Rumack BH. Cimetidine as adjunctive treatment for acetaminophen overdose. *Human & experimental toxicology*, 1995, 14: 299-304.
118. Oliver L. *Acetaminophen*. Baski. New York, McGraw-Hill, 2004.
119. Flanagan RJ, Meredith TJ. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *The American Journal of Medicine*, 1991, 91: 131S-139S.
120. Kelly GS. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern Med Rev*, 1998, 3: 114-127.
121. Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet*, 1977, 2: 432-434.
122. Prescott LF MH. Cysteamine for paracetamol overdosage. *Lancet*, 1974, 1: 998.
123. Jones AL. Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: a critical review. *Journal of toxicology. Clinical toxicology*, 1998, 36: 277-285.
124. Marzullo L. An update of N-acetylcysteine treatment for acute acetaminophen toxicity in children. *Curr Opin Pediatr*, 2005, 17: 239-245.
125. Pauley KA, Sandritter TL, Lowry JA, Algren DA. Evaluation of an Alternative Intravenous N-Acetylcysteine Regimen in Pediatric Patients. *J Pediatr Pharmacol Ther*, 2015, 20: 178-185.

126. Kozer E, Koren G. Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug safety : an international journal of medical toxicology and drug experience*, 2001, 24: 503-512.
127. Polson J, Lee WM. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology*, 2005, 41: 1179-1197.
128. Lynch RM, Robertson R. Anaphylactoid reactions to intravenous N-acetylcysteine: a prospective case controlled study. *Accident and emergency nursing*, 2004, 12: 10-15.
129. O'Grady JG. Paracetamol-induced acute liver failure: prevention and management. *Journal of hepatology*, 1997, 26 Suppl 1: 41-46.
130. Horowitz RS, Dart RC, Jarvie DR, Bearer CF, Gupta U. Placental transfer of N-acetylcysteine following human maternal acetaminophen toxicity. *Journal of toxicology. Clinical toxicology*, 1997, 35: 447-451.
131. Riggs BS, Bronstein AC, Kulig K, Archer PG, Rumack BH. Acute acetaminophen overdose during pregnancy. *Obstetrics and gynecology*, 1989, 74: 247-253.
132. Green R, Grierson R, Sitar DS, Tenenbein M. How long after drug ingestion is activated charcoal still effective? *Journal of toxicology. Clinical toxicology*, 2001, 39: 601-605.
133. Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning. *Trends Pharmacol Sci*, 2003, 24: 154-157.
134. Christophersen AB, Levin D, Hoegberg LC, Angelo HR, Kampmann JP. Activated charcoal alone or after gastric lavage: a simulated large paracetamol intoxication. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2002, 53: 312-317.

135. Rolband GC, Marcuard SP. Cimetidine in the treatment of acetaminophen overdose. *J Clin Gastroenterol*, 1991, 13: 79-82.
136. Peterson FJ, Knodell RG, Lindemann NJ, Steele NM. Prevention of acetaminophen and cocaine hepatotoxicity in mice by cimetidine treatment. *Gastroenterology*, 1983, 85: 122-129.
137. Slattery JT, McRorie TI, Reynolds R, Kalthorn TF, Kharasch ED, Eddy AC. Lack of effect of cimetidine on acetaminophen disposition in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1989, 46: 591-597.
138. Sajedianfard J KA, Emailpour H. . Therapeutic effect of cimetidine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Comperative Clinical Pathology*, 2006, 15: 55-57.
139. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Baskı. Ankara, 2009: 1251.
140. McBride PV RB. Acetaminophen intoxication. *Seminars in Dialysis*, 1992, 5: 292-297.
141. Matthew H. Acute acetaminophen poisoning. *Clinical toxicology*, 1973, 6: 9-11.
142. Ghannoum M, Kazim S, Grunbaum AM, Villeneuve E, Gosselin S. Massive acetaminophen overdose: effect of hemodialysis on acetaminophen and acetylcysteine kinetics. *Clinical toxicology*, 2016, 54: 519-522.
143. Farmer DG, Anselmo DM, Ghobrial RM, Yersiz H, McDiarmid SV, Cao C, Weaver M, Figueroa J, Khan K, Vargas J, Saab S, Han S, Durazo F, Goldstein L, Holt C, Busuttil RW. Liver transplantation for fulminant hepatic failure: experience with more than 200 patients over a 17-year period. *Annals of surgery*, 2003, 237: 666-675; discussion 675-666.

144. Barshes NR, Gay AN, Williams B, Patel AJ, Awad SS. Support for the acutely failing liver: a comprehensive review of historic and contemporary strategies. *Journal of the American College of Surgeons*, 2005, 201: 458-476.
145. Dargan PI, Jones AL. Acetaminophen poisoning: an update for the intensivist. *Critical care*, 2002, 6: 108-110.
146. Russo MW, Galanko JA, Shrestha R, Fried MW, Watkins P. Liver transplantation for acute liver failure from drug induced liver injury in the United States. *Liver Transplantation*, 2004, 10: 1018-1023.
147. Makin AJ, Wendon J, Williams R. A 7-year experience of severe acetaminophen-induced hepatotoxicity (1987-1993). *Gastroenterology*, 1995, 109: 1907-1916.
148. Harrison PM, O'Grady JG, Keays RT, Alexander GJ, Williams R. Serial prothrombin time as prognostic indicator in paracetamol induced fulminant hepatic failure. *British medical journal*, 1990, 301: 964-966.
149. Bernal W, Wendon J, Rela M, Heaton N, Williams R. Use and outcome of liver transplantation in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatology*, 1998, 27: 1050-1055.
150. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiodt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, McCashland TM, Shakil AO, Hay JE, Hynan L, Crippin JS, Blei AT, Samuel G, Reisch J, Lee WM. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Annals of internal medicine*, 2002, 137: 947-954.
151. Chen QF, Hao H, Kuang XD, Hu QD, Huang YH, Zhou XY. BML-111, a lipoxin receptor agonist, protects against acute injury via regulating the renin angiotensin-aldosterone system. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2019, 140: 9-17.

152. Peach MJ. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. *Physiol Rev*, 1977, 57: 313-370.
153. Basso N, Terragno NA. History about the discovery of the renin-angiotensin system. *Hypertension*, 2001, 38: 1246-1249.
154. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Jr., Roccella EJ. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*, 2003, 42: 1206-1252.
155. Skott O, Jensen BL. Cellular and intrarenal control of renin secretion. *Clin Sci (Lond)*, 1993, 84: 1-10.
156. Naftilan AJ, Zuo WM, Inglefinger J, Ryan TJ, Jr., Pratt RE, Dzau VJ. Localization and differential regulation of angiotensinogen mRNA expression in the vessel wall. *J Clin Invest*, 1991, 87: 1300-1311.
157. Appel GB, Appel AS. Angiotensin II receptor antagonists: role in hypertension, cardiovascular disease, and renoprotection. *Prog Cardiovasc Dis*, 2004, 47: 105-115.
158. Timurkaynak T. [What is renin inhibition? Mechanism of action]. *Turk Kardiyol Dern Ars*, 2009, 37 Suppl 7: 5-14.
159. Haznedaroglu IC, Tuncer S, Gursoy M. A local renin-angiotensin system in the bone marrow. *Med Hypotheses*, 1996, 46: 507-510.
160. Dostal DE, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system: conceptual, or a regulator of cardiac function? *Circ Res*, 1999, 85: 643-650.
161. Leung PS, Chappell MC. A local pancreatic renin-angiotensin system: endocrine and exocrine roles. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003, 35: 838-846.
162. Paternostro R, Reiberger T, Mandorfer M, Schwarzer R, Schwabl P, Bota S, Ferlitsch M, Trauner M, Peck-Radosavljevic M, Ferlitsch A. Plasma renin concentration

- represents an independent risk factor for mortality and is associated with liver dysfunction in patients with cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 32: 184-190.
163. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*, 2008, 134: 1655-1669.
164. Bataller R, Gabele E, Parsons CJ, Morris T, Yang L, Schoonhoven R, Brenner DA, Rippe RA. Systemic infusion of angiotensin II exacerbates liver fibrosis in bile duct-ligated rats. *Hepatology*, 2005, 41: 1046-1055.
165. Bataller R, Gabele E, Schoonhoven R, Morris T, Lehnert M, Yang L, Brenner DA, Rippe RA. Prolonged infusion of angiotensin II into normal rats induces stellate cell activation and proinflammatory events in liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 285: G642-651.
166. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest*, 2005, 115: 209-218.
167. Lubel JS, Herath CB, Burrell LM, Angus PW. Liver disease and the renin-angiotensin system: recent discoveries and clinical implications. *J Gastroenterol Hepatol*, 2008, 23: 1327-1338.
168. Mollnau H, Wendt M, Szocs K, Lassegue B, Schulz E, Oelze M, Li H, Bodenschatz M, August M, Kleschyov AL, Tsilimingas N, Walter U, Forstermann U, Meinertz T, Griendling K, Munzel T. Effects of angiotensin II infusion on the expression and function of NAD(P)H oxidase and components of nitric oxide/cGMP signaling. *Circ Res*, 2002, 90: E58-65.
169. Landmesser U, Spiekermann S, Preuss C, Sorrentino S, Fischer D, Manes C, Mueller M, Drexler H. Angiotensin II induces endothelial xanthine oxidase activation: role for endothelial dysfunction in patients with coronary disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27: 943-948.

170. Simoes ESAC, Miranda AS, Rocha NP, Teixeira AL. Renin angiotensin system in liver diseases: Friend or foe? *World J Gastroenterol*, 2017, 23: 3396-3406.
171. Azizi M, Webb R, Nussberger J, Hollenberg NK. Renin inhibition with aliskiren: where are we now, and where are we going? *J Hypertens*, 2006, 24: 243-256.
172. Lijnen P, Fagard R, Staessen J, Amery A. Effect of chronic diuretic treatment on the plasma renin-angiotensin-aldosterone system in essential hypertension. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1981, 12: 387-392.
173. Skeggs LT, Jr., Kahn JR, Lentz K, Shumway NP. The preparation, purification, and amino acid sequence of a polypeptide renin substrate. *J Exp Med*, 1957, 106: 439-453.
174. Delabays A, Nussberger J, Porchet M, Waeber B, Hoyos P, Boger R, Glassman H, Kleinert HD, Luther R, Brunner HR. Hemodynamic and humoral effects of the new renin inhibitor enalkiren in normal humans. *Hypertension*, 1989, 13: 941-947.
175. Wood JM, Criscione L, de Gasparo M, Buhlmayer P, Rueger H, Stanton JL, Jupp RA, Kay J. CGP 38 560: orally active, low-molecular-weight renin inhibitor with high potency and specificity. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1989, 14: 221-226.
176. Kobrin I, Viskoper RJ, Laszt A, Bock J, Weber C, Charlon V. Effects of an orally active renin inhibitor, Ro 42-5892, in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*, 1993, 6: 349-356.
177. Menard J, Boger RS, Moyse DM, Guyene TT, Glassman HN, Kleinert HD. Dose-dependent effects of the renin inhibitor zankiren HCl after a single oral dose in mildly sodium-depleted normotensive subjects. *Circulation*, 1995, 91: 330-338.
178. Fischli W, Clozel JP, Breu V, Buchmann S, Mathews S, Stadler H, Vieira E, Wostl W. Ciprokiren (Ro 44-9375). A renin inhibitor with increasing effects on chronic treatment. *Hypertension*, 1994, 24: 163-169.

179. Murphy WR, Rosati RL, Hoover DJ, Purcell IM, MacAndrew JT. Hemodynamic effects of the renin inhibitor CP-80,794 in several species. İçinde: G L (Çeviri editörü). Lubek G RG (editör). *Amino Acids*, Escom Science Publishers, Leiden, 1990: 676–688.
180. Maibaum J FD. Renin inhibitors as novel treatments for cardiovascular disease. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2003, 13: 589-603.
181. Wood JM, Maibaum J, Rahuel J, Grutter MG, Cohen NC, Rasetti V, Ruger H, Goschke R, Stutz S, Fuhrer W, Schilling W, Rigollier P, Yamaguchi Y, Cumin F, Baum HP, Schnell CR, Herold P, Mah R, Jensen C, O'Brien E, Stanton A, Bedigian MP. Structure-based design of aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 308: 698-705.
182. Rongen GA, Lenders JW, Smits P, Thien T. Clinical pharmacokinetics and efficacy of renin inhibitors. *Clinical pharmacokinetics*, 1995, 29: 6-14.
183. Hara T, Nishimura S, Yamamoto T, Kajimoto Y, Kusumoto K, Kanagawa R, Ikeda S, Nishimoto T. TAK-272 (imarikiren), a novel renin inhibitor, improves cardiac remodeling and mortality in a murine heart failure model. *PLoS One*, 2018, 13: e0202176.
184. Jacobs TF, Terrell JM. Aliskiren. İçinde: *StatPearls*, Treasure Island (FL), 2019.
185. Campbell DJ. Interpretation of plasma renin concentration in patients receiving aliskiren therapy. *Hypertension*, 2008, 51: 15-18.
186. Stanton A. Therapeutic potential of renin inhibitors in the management of cardiovascular disorders. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2003, 3: 389-394.
187. wikipedia. <http://en.wikipedia.org/wiki/Aliskiren>. 25.12.2013.
188. Waldmeier F, Glaenzel U, Wirz B, Oberer L, Schmid D, Seiberling M, Valencia J, Riviere GJ, End P, Vaidyanathan S. Absorption, distribution, metabolism, and

elimination of the direct renin inhibitor aliskiren in healthy volunteers. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35: 1418-1428.

189. Tanaka M, Akahori M, Goto H. [The pharmacological profile and clinical findings on aliskiren (Rasilez tablet), direct renin inhibitor]. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 2010, 135: 159-168.

190. Nussberger J, Wuerzner G, Jensen C, Brunner HR. Angiotensin II suppression in humans by the orally active renin inhibitor Aliskiren (SPP100): comparison with enalapril. *Hypertension*, 2002, 39: E1-8.

191. Cheng JW. Aliskiren: renin inhibitor for hypertension management. *Clin Ther*, 2008, 30: 31-47.

192. al. HJe, A86. The novel renin inhibitor aliskiren is not associated with rebound effects on blood pressure or plasma renin activity following treatment withdrawal. *J Clin Hypertens*, 2006, 8: 86.

193. Vaughan DE. The renin-angiotensin system and fibrinolysis. *Am J Cardiol*, 1997, 79: 12-16.

194. Creighton University Drug Information Center. . Aliskiren (Tekturna®) Novartis. Drug Monograph., Baskı, 2007.

195. CorporationNP. <http://www.pharma.us.novartis.com/product/pi/pdf/tekturna.pdf>.

196. Azizi M, Menard J, Bissery A, Guyenne TT, Bura-Riviere A, Vaidyanathan S, Camisasca RP. Pharmacologic demonstration of the synergistic effects of a combination of the renin inhibitor aliskiren and the AT1 receptor antagonist valsartan on the angiotensin II-renin feedback interruption. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15: 3126-3133.

197. Staessen JA, Li Y, Richart T. Oral renin inhibitors. *Lancet*, 2006, 368: 1449-1456.

198. Wood JM, Cumin F, Maibaum J. Pharmacology of renin inhibitors and their application to the treatment of hypertension. *Pharmacol Ther*, 1994, 61: 325-344.
199. Saito H, Nakamaru M, Ogihara T, Rakugi H, Kumahara Y, Shimamoto K, Miyazaki M, Inagami T. Renin inhibitor and converting enzyme inhibitors suppress vascular angiotensin II. *Hypertension*, 1989, 13: 749-753.
200. Clozel JP, Hess P, Schietinger K, Breu V, Fischli W, Baumgartner HR. Major role of the renin angiotensin system in the neointima formation after vascular injury in guinea pigs. *Life Sci*, 1994, 54: PL87-92.
201. Bekerecioğlu M US, Dilek ON. Serbest Radikaller. *Sendrom*, 1998, 10: 85-94.
202. Murray RK GD, Mayes PA, Rodwell VM. *Harper's Biochemistry*. Baskı. USA, McGraw-Hill Press, 2000.
203. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*, 1991, 161: 488-503.
204. Wu YL, Jiang YZ, Jin XJ, Lian LH, Piao JY, Wan Y, Jin HR, Joon Lee J, Nan JX. Acanthoic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum*, protects acetaminophen-induced hepatic toxicity in mice. *Phytomedicine*, 2010, 17: 475-479.
205. Ozdemir R, Parlakpınar H, Polat A, Colak C, Ermis N, Acet A. Selective endothelin a (ETA) receptor antagonist (BQ-123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury. *Toxicology*, 2006, 219: 142-149.
206. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Cıtil M. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft für Toxikologische Pathologie*, 2007, 59: 121-128.

207. Hsu CC, Lin CC, Liao TS, Yin MC. Protective effect of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 2006, 44: 393-397.
208. Abheri DS AR, Ghosh AK. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 2010, 1(3): 185-192.
209. Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder B, Makowski J, Armstrong D, Nicotera T. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet*, 1996, 347: 444-445.
210. Teoule R. Radiation-induced DNA damage and its repair. *International Journal of Radiation Biology & Related Studies in Physics, Chemistry & Medicine*, 1987, 51: 573-589.
211. Dizdaroglu M. Chemical determination of oxidative DNA damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Methods in Enzymology*, 1994, 234: 3-16.
212. Senturker S, Dizdaroglu M. The effect of experimental conditions on the levels of oxidatively modified bases in DNA as measured by gas chromatography-mass spectrometry: how many modified bases are involved? Purification or not? *Free Radic Biol Med*, 1999, 27: 370-380.
213. Dizdaroglu M. Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Free Radical Research*, 1998, 29: 551-563.
214. Xu H, Lin L, Yuan WJ. Antiarrhythmic effect of endothelin-A receptor antagonist on acute ischemic arrhythmia in isolated rat heart. *Acta pharmacologica Sinica*, 2003, 24: 37-44.

215. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*, 2003, 17: 1195-1214.
216. Knaapen AM, Gungor N, Schins RP, Borm PJ, Van Schooten FJ. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review. *Mutagenesis*, 2006, 21: 225-236.
217. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutation Research*, 2004, 567: 1-61.
218. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 2000, 21: 361-370.
219. Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*, 2004, 52: 794-804.
220. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med*, 1991, 91: 31S-38S.
221. Yan SL, Wu ST, Yin MC, Chen HT, Chen HC. Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen-induced liver injury. *Journal of food science*, 2009, 74: H259-265.
222. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int*, 1999, 49: 91-102.
223. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 1999, 48: 1-9.
224. Lykkesfeldt J, Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. *Vet J*, 2007, 173: 502-511.
225. Bayır Y. Sıçanlarda İsoptrenol İle Oluşturulan Miyokard İnfarktüsü Modelinde Dna Hasarı ve Oksidatif Stres Üzerine Lasidipin, Ramipril ve Valsartan'ın Etkilerinin

- İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Erzurum, Atatürk Üniversitesi, 2008.
226. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 2004, 15: 91-96.
227. Koya D, Hayashi K, Kitada M, Kashiwagi A, Kikkawa R, Haneda M. Effects of antioxidants in diabetes-induced oxidative stress in the glomeruli of diabetic rats. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14: S250-253.
228. Kontek R, Jakubczak M, Matlawska-Wasowska K. The antioxidants, vitamin A and E but not vitamin C and melatonin enhance the proapoptotic effects of irinotecan in cancer cells in vitro. *Toxicol In Vitro*, 2014, 28: 282-291.
229. N-acetylcysteine. *Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic*, 2000, 5: 467-471.
230. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2004, 44: 275-295.
231. R Y. Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan kapasitelerinin Karşılaştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı. Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, 2011.
232. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. II. The mechanism of the mediation of cytochrome c reduction by a variety of electron carriers. *The Journal of Biological Chemistry*, 1970, 245: 1374-1377.
233. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 1994, 74: 139-162.
234. McCord JM, Edeas MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother*, 2005, 59: 139-142.

235. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *J Biol Chem*, 1993, 268: 416-420.
236. Buettner GR, Ng CF, Wang M, Rodgers VG, Schafer FQ. A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H₂O₂ in cells and thereby their biological state. *Free Radic Biol Med*, 2006, 41: 1338-1350.
237. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *The Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268: 416-420.
238. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*, 25th ed. New York, McGraw-Hill Companies Inc, 2000: 254-258.
239. Keha EE, Küfrevioğlu Öİ. *Biyokimya*, 6. Baskı. Ankara, Aktif Yayınevi, 2009: 348-470.
240. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr*, 1993, 57: 715S-724S; discussion 724S-725S.
241. Pacifici RE, Davies KJ. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: the free-radical theory of aging revisited. *Gerontology*, 1991, 37: 166-180.
242. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J*, 1984, 222: 1-15.
243. Satoh M, Yamazaki M. Tumor necrosis factor stimulates DNA synthesis of mouse hepatocytes in primary culture and is suppressed by transforming growth factor beta and interleukin 6. *J Cell Physiol*, 1992, 150: 134-139.
244. Gupta SK, Saxena A, Singh U, Arya DS. Bosentan, the mixed ETA-ETB endothelin receptor antagonist, attenuated oxidative stress after experimental myocardial ischemia and reperfusion. *Molecular and cellular biochemistry*, 2005, 275: 67-74.

245. Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology*, 2006, 43: S31-44.
246. Sun WY, Wei W, Gui SY, Wu L, Wang H. Protective effect of extract from *Paeonia lactiflora* and *Astragalus membranaceus* against liver injury induced by bacillus Calmette-Guerin and lipopolysaccharide in mice. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 2008, 103: 143-149.
247. Satoh M, Yamazaki M. Tumor necrosis factor stimulates DNA synthesis of mouse hepatocytes in primary culture and is suppressed by transforming growth factor beta and interleukin 6. *Journal of cellular physiology*, 1992, 150: 134-139.
248. Astegiano M, Sapone N, Demarchi B, Rossetti S, Bonardi R, Rizzetto M. Laboratory evaluation of the patient with liver disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2004, 8: 3-9.
249. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *The New England Journal of Medicine*, 2000, 342: 1266-1271.
250. Akerman P, Cote P, Yang SQ, McClain C, Nelson S, Bagby GJ, Diehl AM. Antibodies to tumor necrosis factor-alpha inhibit liver regeneration after partial hepatectomy. *Am J Physiol*, 1992, 263: G579-585.
251. Luster MI, Simeonova PP, Gallucci RM, Bruccoleri A, Blazka ME, Yucesoy B, Matheson JM. The role of tumor necrosis factor alpha in chemical-induced hepatotoxicity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000, 919: 214-220.
252. Li P, He K, Li J, Liu Z, Gong J. The role of Kupffer cells in hepatic diseases. *Mol Immunol*, 2017, 85: 222-229.
253. Blazka ME, Wilmer JL, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 1995, 133: 43-52.

254. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: part II. *Journal of ethnopharmacology*, 2003, 89: 217-219.
255. Kuralay F, Akarca US, Ozutemiz AO, Kutay F, Batur Y. Possible role of glutathione in prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity enhanced by fish oil in male Wistar rats. *Journal of toxicology and environmental health.*, 1998, 53: 223-229.
256. Karakus E, Halici Z, Albayrak A, Polat B, Bayir Y, Kiki I, Cadirci E, Topcu A, Aksak S. Agomelatine: an antidepressant with new potent hepatoprotective effects on paracetamol-induced liver damage in rats. *Human & experimental toxicology*, 2013, 32: 846-857.
257. Uzkeser M KE, Albayrak A, Kiki I, Bayir Y, Cadirci E. Protective effect of panax ginseng against n-acetyl-p-aminophenol-induced hepatotoxicity in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2012, 6(36): 2634-2642.
258. Gyamlani GG, Parikh CR. Acetaminophen toxicity: suicidal vs. accidental. *Critical care*, 2002, 6: 155-159.
259. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical reviews in toxicology*, 2001, 31: 55-138.
260. Drotman RB, Lawhorn GT. Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage. *Drug Chem Toxicol*, 1978, 1: 163-171.
261. 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.

262. Ahmed MB, Khater MR. Evaluation of the protective potential of *Ambrosia maritima* extract on acetaminophen-induced liver damage. *Journal of ethnopharmacology*, 2001, 75: 169-174.
263. Yayla M, Halici Z, Unal B, Bayir Y, Akpinar E, Gocer F. Protective effect of Et-1 receptor antagonist bosentan on paracetamol induced acute liver toxicity in rats. *Eur J Pharmacol*, 2014, 726: 87-95.
264. Crepin S, Godet B, Carrier P, Villeneuve C, Merle L, Laroche ML. Probable drug-induced liver injury associated with aliskiren: case report and review of adverse event reports from pharmacovigilance databases. *Am J Health Syst Pharm*, 2014, 71: 643-647.
265. Lee KC, Chan CC, Yang YY, Hsieh YC, Huang YH, Lin HC. Aliskiren attenuates chronic carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Eur J Clin Invest*, 2012, 42: 1261-1271.
266. Ferah I, Halici Z, Bayir Y, Demirci E, Unal B, Cadirci E. The role of infliximab on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2013, 35: 373-381.
267. Koop DR. Oxidative and reductive metabolism by cytochrome P450 2E1. *FASEB J*, 1992, 6: 724-730.
268. Casteilla L, Rigoulet M, Penicaud L. Mitochondrial ROS metabolism: modulation by uncoupling proteins. *IUBMB Life*, 2001, 52: 181-188.
269. Cederbaum AI. CYP2E1--biochemical and toxicological aspects and role in alcohol-induced liver injury. *Mt Sinai J Med*, 2006, 73: 657-672.
270. Cheung C, Yu AM, Ward JM, Krausz KW, Akiyama TE, Feigenbaum L, Gonzalez FJ. The cyp2e1-humanized transgenic mouse: role of cyp2e1 in acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos*, 2005, 33: 449-457.

271. Chularojmontri L, Wattanapitayakul SK, Herunsalee A, Charuchongkolwongse S, Niumsakul S, Srichairat S. Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 2005, 28: 1165-1171.
272. Olaleye MT, Rocha BT. Acetaminophen-induced liver damage in mice: effects of some medicinal plants on the oxidative defense system. *Exp Toxicol Pathol*, 2008, 59: 319-327.
273. Trey C, Davidson CS. The management of fulminant hepatic failure. *Prog Liver Dis*, 1970, 3: 282-298.
274. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS drug reviews*, 2006, 12: 250-275.
275. Ziypak T, Halici Z, Alkan E, Akpinar E, Polat B, Adanur S, Cadirci E, Ferah I, Bayir Y, Karakus E, Mercantepe T. Renoprotective effect of aliskiren on renal ischemia/reperfusion injury in rats: electron microscopy and molecular study. *Ren Fail*, 2015, 37: 343-354.
276. Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res*, 1994, 54: 1969s-1975s.
277. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 211-217.
278. Bernuau J, Rueff B, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure: definitions and causes. *Semin Liver Dis*, 1986, 6: 97-106.
279. Prillaman HM, Turner TT. Rescue of testicular function after acute experimental torsion. *J Urol*, 1997, 157: 340-345.

280. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Acikgoz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, 2004, 202: 227-235.
281. Porter NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 1984, 105: 273-282.
282. Gamal el-din AM, Mostafa AM, Al-Shabanah OA, Al-Bekairi AM, Nagi MN. Protective effect of arabic gum against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Pharmacol Res*, 2003, 48: 631-635.
283. Sener G, Sehirli O, Cetinel S, Yegen BG, Gedik N, Ayanoglu-Dulger G. Protective effects of MESNA (2-mercaptoethane sulphonate) against acetaminophen-induced hepatorenal oxidative damage in mice. *J Appl Toxicol*, 2005, 25: 20-29.
284. Shahjahan M, Sabitha KE, Jainu M, Shyamala Devi CS. Effect of Solanum trilobatum against carbon tetrachloride induced hepatic damage in albino rats. *Indian J Med Res*, 2004, 120: 194-198.
285. Zhao YL, Zhou GD, Yang HB, Wang JB, Shan LM, Li RS, Xiao XH. Rhein protects against acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49: 1705-1710.
286. Sehitoglu MH, Yayla M, Kiraz A, Oztopuz RO, Bayir Y, Karaca T, Khalid S, Akpinar E. The effects of apomorphine on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2017, 63: 40-44.
287. Raskovic A, Gigov S, Capo I, Paut Kusturica M, Milijasevic B, Kojic-Damjanov S, Martic N. Antioxidative and Protective Actions of Apigenin in a Paracetamol-Induced Hepatotoxicity Rat Model. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2017, 42: 849-856.

288. Hassanin A, Malek HA. Effect of renin inhibition on adipokines in diabetic rats. *Pak J Pharm Sci*, 2014, 27: 767-772.
289. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol*, 2001, 11: 372-377.
290. Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci*, 2002, 65: 166-176.
291. Abbas AK LA, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology*. Baskl. Philadelphia, W.B. Saunders, 1994.
292. Turner TT, Bang HJ, Lysiak JL. The molecular pathology of experimental testicular torsion suggests adjunct therapy to surgical repair. *J Urol*, 2004, 172: 2574-2578.
293. Laskin DL, Pilaro AM. Potential role of activated macrophages in acetaminophen hepatotoxicity. I. Isolation and characterization of activated macrophages from rat liver. *Toxicology and applied pharmacology*, 1986, 86: 204-215.
294. Wu YL, Piao DM, Han XH, Nan JX. Protective effects of salidroside against acetaminophen-induced toxicity in mice. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31: 1523-1529.
295. Chiu H, Gardner CR, Dambach DM, Brittingham JA, Durham SK, Laskin JD, Laskin DL. Role of p55 tumor necrosis factor receptor 1 in acetaminophen-induced antioxidant defense. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 285: G959-966.
296. Blazka ME, Elwell MR, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Histopathology of acetaminophen-induced liver changes: role of interleukin 1 alpha and tumor necrosis factor alpha. *Toxicologic pathology*, 1996, 24: 181-189.
297. Kim SM, Kim YG, Jeong KH, Lee SH, Lee TW, Ihm CG, Moon JY. Angiotensin II-induced mitochondrial Nox4 is a major endogenous source of oxidative stress in kidney tubular cells. *PLoS One*, 2012, 7: e39739.

298. Ilieva I, Ohgami K, Jin XH, Suzuki Y, Shiratori K, Yoshida K, Kase S, Ohno S. Captopril suppresses inflammation in endotoxin-induced uveitis in rats. *Exp Eye Res*, 2006, 83: 651-657.
299. He X, Han B, Mura M, Xia S, Wang S, Ma T, Liu M, Liu Z. Angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril prevents oleic acid-induced severe acute lung injury in rats. *Shock*, 2007, 28: 106-111.
300. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drug metabolism. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 185-194.
301. Fakurazi S, Hairuszah I, Nanthini U. Moringa oleifera Lam prevents acetaminophen induced liver injury through restoration of glutathione level. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 2008, 46: 2611-2615.
302. Ko YJ, Hsieh WT, Wu YW, Lin WC. Ameliorative effect of *Silene aprica* on liver injuries induced by carbon tetrachloride and acetaminophen. *The American journal of Chinese medicine*, 2002, 30: 235-243.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Saliha Sena KARCIOĞLU
Doğum tarihi:	11 Ekim 1989
Doğum Yeri:	Merkez/Erzurum
Medeni Hali:	Bekâr
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD, 25240/ Erzurum
Tel:	0530 628 8664
Faks:	-
E-mail:	ssenakarci_25@hotmail.com
Eğitim	
Lise:	Erzurum Nene Hatun Kız Lisesi
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ebelik Bölümü
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Almanca:	-
Rusça:	-
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
-	
İlgi Alanları ve Hobiler	

Yüzme, Kitap,
Doğa ve kültürel geziler

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

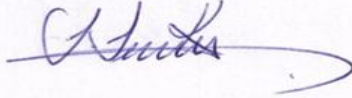
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK danışmanlığında sunulan “Sıçanlarda Parasetamol ile İndüklenen Akut Karaciğer Toksisitesi Üzerine Aliskiren’ in Etkilerinin Araştırılması” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

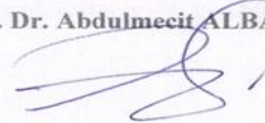
Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	6	15
Genel Bilgiler	13	30
Materyal ve Metod	32	35
Bulgular	8	10
Tartışma	4	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 05/ 08/ 2019

Saliha Sena KARCIOĞLU



Prof. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK



* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-13

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

04.06.2013
ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 22.05.2013 tarih ve 42190979-01-02/2231 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Abdulmecit ALBAYRAK'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütülecek olan "**Sıçanlarda Parasetamol İle İndüklenen Akut Karaciğer Toksikitesi Üzerine Aliskiren'in Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 31.05.2013 tarih ve 1 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 6 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan Vekili

Toplantı Tarihi : 31.05.2013

Toplantı Sayısı : 1

KARAR NO : 6- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Abdulmecit ALBAYRAK'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütülecek olan "**Sıçanlarda Parasetamol İle İndüklenen Akut Karaciğer Toksikitesi Üzerine Aliskiren'in Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 22.05.2013 tarih ve 42190979-01-02/2231 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, 25240 – Yakutiye / ERZURUM
Telefon : 0-442-236 08 80 **Fax** : 0-442-236 08 81 **e-mail**: hadyek@atauni.edu.tr