



**SIÇANLARDA PARASETAMOL İLE
İNDÜKLENEN AKUT BÖBREK TOKSİSİTESİ
ÜZERİNE AMLODİPİNİN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Erdoğan KARATAŞ

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Elif ÇADIRCI

Yüksek Lisans Tezi – 2016

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA PARASETAMOL İLE İNDÜKLENEN
AKUT BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE AMLODİPİNİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Erdoğan KARATAŞ

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Elif ÇADIRCI

ERZURUM
2016

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT BÖBREK
TOKSİSİTESİNDE AMLODİPİNİN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Erdoğan KARATAŞ

Tez Savunma Tarihi : 04.03.2016

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Elif ÇADIRCI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Damla ÇETİN (Kafkas Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yayuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2016

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Böbrek Histolojisi.....	4
2.2. Akut Böbrek Toksisitesi.....	5
2.2.1. Böbrek Toksisitesinde Kullanılan Biyokimyasal Parametreler.....	7
2.2.1.1. BUN.....	7
2.2.1.2. Kreatin.....	8
2.2.1.3. Üre.....	8
2.3. Parasetamol.....	9
2.3.1. Parasetamolün Farmakolojik Özellikleri.....	10
2.3.2. Parasetamolün Farmakokinetiği ve Metabolizması.....	12
2.3.3. Parasetamol Toksisitesi.....	14
2.3.3.1. Parasetamolün Karaciğer Toksisitesi.....	15
2.3.3.2. Parasetamolün Böbrek Toksisitesi.....	16

2.3.3.3.	Parasetamol Toksisitesinde Klinik Bulgular	18
2.3.3.4.	Parasetamol Toksisitesinde Tedavi	20
2.3.3.5.	Aktif Kömür Uygulaması	24
2.3.3.6.	Simetidin	24
2.3.3.7.	Metionin	25
2.4.	Kalsiyum Kanal Blokerleri	25
2.4.1.	Kalsiyum Kanal Blokerlerinin Sınıflandırılması	26
2.4.2.	Kalsiyum Kanal Blokerlerinin Böbreklerdeki Etkileri	27
2.4.2.1.	Amlodipin	27
2.4.2.2.	Amlodipin Farmakokinetiği	28
2.4.2.3.	Amlodipin Endikasyonları ve Yan Etkileri	28
2.5.	Serbest Radikaller	29
2.5.1.	Serbest Radikallerin Etkileri	30
2.5.1.1.	Serbest Radikallerin Membran Lipitleri Üzerine Etkileri	30
2.5.1.2.	Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri	31
2.5.1.3.	Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri	32
2.5.1.4.	Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri	33
2.6.	Antioksidan Savunma Sistemleri	33
2.6.1.	Eksojen (Sekonder) Antioksidanlar	37
3.	MATERYAL VE METOT	38
3.1.	Materyal	38
3.1.1.	Deney Hayvanları	38

3.1.2.	Kullanılan İlaçlar ve İlaçların Hazırlanışı	38
3.1.2.1.	Kullanılan İlaçlar	38
3.1.2.2.	İlaçların Hazırlanışı	39
3.1.3.	Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	40
3.2.	Metot.....	41
3.2.1.	Deney Planı	41
3.2.2.	Biyokimyasal Çalışmalar	42
3.2.2.1.	Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler.....	42
3.2.2.2.	Serumda Yapılan Analizler	46
3.3.	İstatistiksel Analiz	46
4.	BULGULAR	47
4.1.	Serum BUN ve kreatin bulguları	47
4.2.	Böbrek SOD, GSH ve MDA bulguları	49
5.	TARTIŞMA	53
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	59	
EK-1: ÖZGEÇMİŞ	78	
EK-2: ETİK KURUL ONAY FORMU.....	79	

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren, tez konumun seçilmesinde ve çalışmamın her aşamasında beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr Elif ÇADIRCI'ya en içten dileklerle teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimime katkıda bulunan başta Anabilim Dalı Başkanımız sayın Doç. Dr. Mine GÜLLAPOĞLU'na, Doç. Dr. Yasin BAYIR'a ve akabinde Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde görevli tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarında ve tez yazıma katkılarından dolayı Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU, Prof. Dr. Zekai HALICI, Doç. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK, Doç. Dr. Beyzagül POLAT, Doç. Dr. Emre KARAKUŞ, Yrd. Doç. Dr. Erol AKPINAR, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda görev yapmakta olan araştırma görevlisi arkadaşlarıma özellikle teşekkürlerimi sunuyorum. Bu çalışmayı "ATAUNİ-BAP 2014/166" proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ediyorum. Son olarak manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen benim bu günlere gelmemde büyük özveri ve desteklerde bulunan Anneme Babama ve Eşime tüm akraba ve arkadaşlarıma sevgilerimi iletiyorum.

Erdoğan KARATAŞ

ÖZET

Sıçanlarda Parasetamol İle İndüklenen Akut Böbrek Toksikitesi Üzerine Amlodipinin Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Parasetamol, dünya çapında yaygın olarak kullanılan antipiretik ve analjezik ilaçtır. Kullanımın artması ve kolay erişilebilir olması toksisite riskini de beraberinde getirmektedir. Parasetamol toksisitesi hepatotoksisteye ve nefrotoksisteye neden olabilir. L tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek vazodilatasyon oluşturan amlodipinin antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin olması ve yaşlılarda renoprotektif amaçla da kullanılıyor olması parasetamolle indüklenen böbrek hasarı gibi inflamasyonla seyreden bir durumda da faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle çalışmamızın amacı parasetamolle indüklenen akut böbrek hasarında L-tipi kalsiyum kanal blokerlerinden amlodipinin etkisini incelemektir.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda 5 gruptan oluşan 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Amlodipin (oral) verildikten 1 saat sonra parasetamol (%1'lik CMC içeren 2 ml PBS çözünen 2 g/kg parasetamol oral) verildi. Gruplar; I: Sağlıklı Kontrol grubu. 2 ml PBS oral verildi. II: 10 mg/kg Amlodipin III: Parasetamol (2 g/kg) IV: 5 mg/kg Amlodipin + parasetamol V: 10 mg/kg Amlodipin+ parasetamol. Parasetamol uygulamasından 24 saat sonra sıçanlar sakrifiye edildi.

Bulgular: Serum kreatinin ve üre seviyeleri parasetamol grubunda artarken, amlodipin verilen gruplarda bu parametreler düzeldi. Parasetamol grubunda, böbrekte ölçülen SOD aktivitesi ve GSH miktarları azalma gösterirken, amlodipinin bu parametreleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düzelttiği görüldü. Aynı zamanda böbrek dokusunda MDA miktarları parasetamol grubunda yükselirken, amlodipin uygulanan gruplarda artmış olan MDA miktarlarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görüldü.

Sonuç: Bu çalışma bulguları amlodipin uygulamasının, böbrekte parasetamol toksisitesine karşı koruyucu etkili olduğunu göstermiştir. Amlodipin koruyucu etkilerini oksidatif hasarı baskılayıp antioksidan aktiviteyi güçlendirerek ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Amlodipin, böbrek, parasetamol, sıçan, toksisite.

ABSTRACT

Research of amlodipine effects on the paracetamol induced acute renal toxicity on rats

Aim: Paracetamol is an antipyretic and analgesic widely used throughout the world. The increase of the usage and its easy accessibility brings along the toxicity risk. Paracetamol toxicity may result in drug induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. Antiinflammatory and antioxidant effects of amlodipine which creates vasodilatation by blocking L type calcium channels and its usage in elderly for renoprotective purposes, ponders that it might be favorable in cases with inflammation such renal damage induced with paracetamol. Thus aim of our study is to analyze effects of amlodipine, one of L-type calcium channel blockers, in acute renal damage induced with paracetamol.

Material and Method: 30 male rats consisting of 5 groups were used in our study. Paracetamol was administered 1 hour after oral administration of amlodipine. Groups; I: Health Control group. 2 ml PBS oral was administered. II: 10 mg/kg Amlodipine III: Paracetamol (2 g/kg) IV: 5 mg/kg Amlodipine + paracetamol V: 10 mg/kg Amlodipine+ paracetamol. Rats were sacrificed after 24 hours following paracetamol administration.

Results: Serum creatinine and urea levels increased in paracetamol group, those parameters improved in amlodipine groups. While SOD activity and GSH levels measured in kidney decreased in paracetamol group, amlodipine has significantly corrected these parameters. Meanwhile MDA quantities increased in paracetamol group, it has been seen that in the amlodipine administered groups quantities of increased MDA have statistically significantly decreased.

Conclusion: This study showed that amlodipine has protective effects against paracetamol toxicity in kidney. Amlodipine revealed its protective effects by suppressing the oxidative damage and improving antioxidant activity.

Key Words: Amlodipine, kidney, paracetamol, rat, toxicity.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACE	: Anjiotensin Converting Enzim
ADH	: Antidiüretik Hormon
AHH	: Akut Hepatik Hasar
AKY	: Akut Karaciğer Yetmezliği
ALT	: Alanin Amino Transferaz
AST	: Aspartat Amino Transferaz
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
BHT	: Bütil Hidroksitoluen
BUN	: Kan Üre Azotu (Blood Urea Nitrogen)
CAT	: Katalaz
CMC	: Karboksimetil Selüloz
COX	: Siklooksijenaz
CYP	: Sitokrom p450 Enzimi
DHP	: Dihidropiridin
DTPA	: Dietilenetriaminepentaasetikasit
GFO	: Glomerüler Filtrasyon Oranı
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Glutathione disulfide (Oxidize Glutasyon)
GST	: Glutasyon S-Transferaz
IL	: İnterlökin
INR	: Uluslararası Düzeltme Oranı

LPO	: Lipid Peroksidasyonu
MDA	: Malon Dialdehit Türleri
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NAC	: N- Asetilsistein
NAPQI	: N-Asetil p-benzokinonimine
PBS	: Phosphate-buffered saline
PG	: Prostaglandin
PT	: Protrombin Zamanı
RKA	: Renal Kan Akımı
ROS	: Reaktif Oksigen Species
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiobarbitürik asit
TNF	: Tümör Nekroz Faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. Gruplara göre serum BUN düzeylerinin karşılaştırılması.....	48
Şekil 4.2. Gruplara göre serum kreatin düzeylerinin karşılaştırılması.....	49
Şekil 4.3. Gruplara göre böbrek dokusundaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması.....	50
Şekil 4.4. Gruplara göre böbrek dokusundaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması.....	51
Şekil 4.5. Gruplara göre böbrek dokusundaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması.....	52

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Kullanılan ilaçlar.....	38
Tablo 3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	40
Tablo 3.3. Deney Planı.....	42
Tablo 4.1. Ortalama BUN ve Kreatin Düzeyleri.....	47
Tablo 4.2. Tüm Grupların Ortalama SOD, GSH ve MDA Düzeyleri.....	50

1. GİRİŞ

Parasetamol, son 50 yıldır dünya çapında yaygın olarak kullanılan antipiretik ve analjezik ilaç olup terapötik dozlarda alındığında çok az yan etkileri olan bir ilaçtır. Parasetamol tek bir bileşik olarak ya da diğer ilaçlarla kombine bir şekilde reçetesiz veya reçeteli olarak yaygın bir şekilde satılmakta ve kullanılmaktadır. Kullanımın artması ve kolay erişilebilir olması toksisite riskini de beraberinde getirmektedir.^{1, 2} Parasetamol 6 yaşın üstündeki çocuk ve yetişkinde bir kerede 200 mg/kg ya da 24 saat içinde toplam 10 gram, 6 yaşın altındaki çocukta ise bir kerede 200 mg/kg ve üstündeki dozda alındığında akut zehirlenmeye yol açar. Alkolizm, uzun süreli açlık ve izoniazid kullanımı gibi parasetamol toksisitesine duyarlılığın arttığı durumlarda parasetamolün toksik dozu günde 4 g ya da 100 mg/kg'dır.³ Parasetamol toksisitesi asemptomatik olabileceği gibi ilaçlarla indüklenen hepatotoksisiteye veya daha ağır ve fatal seyreden akut hepatik hasara (AHH) neden olduğu 1960'ların başında gösterilmiştir.⁴

Parasetamol büyük oranda karaciğerde sülfat ya da glukronik asit ile konjuge edilerek metabolize edilir. Terapötik dozlarda alınan parasetamol'ün kalan %2-4'lük kısmı sitokrom p450 enzimi (CYP) ile toksik metaboliti N-asetil p-benzokinonimine (NAPQI) dönüşür. Bu metabolit oldukça reaktif elektrofilik bir molekül olup karaciğerdeki glutatyonla bağlanarak detoksifiye edilir ve idrarla atılır.^{5, 6} Toksik dozda alındığında, oluşan NAPQI miktarı glutatyonun bağlama kapasitesini aşarak karaciğer ve böbrek hasarına neden olur.⁵

Parasetamol böbrek korteksinde ise deasetilasyon ile seçici bir nefrotoksin olan ve renal kortikal nekroz oluşturan p-aminofenol metabolitine dönüşür. Terapötik dozlarda oluşan p-aminofenol glutatyonla konjuge edilerek inaktif glutatyon

konjugatları şeklinde atılır. Kronik kullanımda veya yüksek dozlarda, glukronid ve sülfat konjugasyon yolları doygunluğa ulaşması ile glutatyon depoları tükenir ve toksik NAPQI ve p-aminofenol metabolitleri birikir. NAPQI'nın hepatosit membranına ve sülfidril proteinlere bağlanması karaciğer hasarına neden olur. P-aminofenol renal makromoleküllere kovalent bağlarla bağlanarak böbrek hasarına neden olur. Asetaminofen'in PGsentetaz enzim inhibisyonu yoluyla böbrek medulla ve papillasında hasar yapıcı etkileri de bulunmaktadır.

Genel olarak vücutta kasılma gevşeme yanıtlarından sorumlu olan kalsiyum iyonu, tüm düz ve çizgili kas fonksiyonlarında görev alır. Kalsiyum hücrel etkilerini kalsiyum kanalları üzerinden gösterir ve bulunma yerine göre farklı birçok kalsiyum kanalı (L, T, P, Q vb.) tanımlanmıştır. Amlodipin L tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek vasküler yapıda dilatasyon oluşturan temel antihipertansif ajanlardan biridir.⁷ Kalsiyum blokerlerinin şeker hastalarında böbrek koruyucu etkilerinden yararlanmak amacıyla ve yaşlılarda beyin kan akımını artırdıkları için tercih edildikleri bilinmektedir. Günümüzde kalsiyum kanal blokörlerinin en önemli etkilerinden biri damar düz kas hücresi üzerine gösterdiği gevşetici etkisidir.⁸ Bu etki böbrek kan akımının ve glomerüler filtrasyon hızının artmasına yol açar. Diğer vazodilatörlerden farklı olarak kalsiyum kanal blokörleri su ve tuz tutulmasına sebep olmazlar. Ayrıca diürez ve natriürez artırır. Hipertansiyonda ve böbrek yetmezliğinde bu ilaçların glomerüler filtrasyon hızındaki düşmeyi önledikleri bildirilmiştir. Bundan başka renal iskemiye veya nefrotoksisteye bağlı akut tübüler nekroz va akut böbrek yetmezliği üzerine koruyucu etkileri hakkında umut verici sonuçlar bildirilmiştir⁸. Daha önceki çalışmalarda amlodipinin antihipertansif ve renoprotektif etkilerinin yanı sıra güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri bildirilmiştir.⁹⁻¹² Amlodipinin antiinflamatuvar

ve antioksidan etkilerinin olması ve yaşlılarda renoprotektif amaçla da kullanılıyor olması parasetamolle indüklenen böbrek hasarı gibi inflamasyonla seyreden bir durumda da faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

Bu nedenle çalışmamızın amacı parasetamolle indüklenen akut böbrek hasarında L-tipi kalsiyum kanal blokerlerinden amlodipinin etkisini incelemektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Histolojisi

İnsanda, her biri yaklaşık bir yumruk büyüklüğünde ve 150 g ağırlığında olan böbrekler, retroperitoneal olarak karın arka duvarında yer alır. Her bir böbreğin mediyal kısmında, arter, ven, lenfatikler, sinirler ve üreterlerin girip çıktığı bölge hilum olarak adlandırılır. Böbrek medullasında, böbrek piramitleri olarak adlandırılan koni biçimli çok sayıda doku kitleleri bulunur. Piramitlerin tabanı, korteks ve medulla sınırından başlar ve üreterin huni şeklindeki üst ucunun devamından oluşan böbrek pelvisine doğru uzanan papillada sonlanır. Pelvisin dış sınırı majör kaliks denen ceplerle aşağı doğru uzanır ve her papillada tüplerden idrar toplayan minör kalikslere ayrılır. Kalikslerin, pelvisin ve üreterlerin duvarları kasılabilir elemanlardan oluşur.¹³⁻¹⁶

Böbrek, vücudumuzda önemli regülatör görevleri olan hemostatik bir organdır. Vücudun su, elektrolit ve asit-baz dengesinin temini ve zararlı ürünlerin atılması böbreğin regülatör görevinin başında gelir. Her bir böbrek, fonksiyonel ünitelere sahip bir milyon nefrondan oluşur. Bu nefronlar yerleşimlerine ve henle kulplarının uzunluklarına göre ya kortikal (%85) ya da jukstamedüller (%15) olarak adlandırılır. Sodyum ve suyun korunması açısından jukstamedüller nefronlar oldukça önemlidirler.^{14, 17, 18} Bir nefron, bowman kapsülü tarafından sarılan glomerüler bir kapiller ağ, bir proksimal tübül, bir henle kulpu, bir distal tübül ve bir toplayıcı duktustan oluşur.¹⁹

Böbrekler dinlenme durumundaki bir erişkinde total kardiyak outputun %20-25' ini kadar alırlar. Renal kan akımı (RKA)'nın %10-20'si glomerüllerde filtre edilir. Bu yolla glomerüllerde, 125 ml/dk'lık bir glomerüler filtrasyon oranı (GFO) ile günde yaklaşık 1.8 litre primer idrar üretilir.

Ultrafiltrat ile 1 kg'dan fazla sodyum klorid, 0.5 kg sodyum bikarbonat ve yüksek miktarda şeker, aminoasitler vb süzülür. Nefrondan geçiş sırasında, sodyum ve suyun %65'i proksimal tübüllerde ve %25'i ek olarak henle kulpundan reabsorbe edilir. Bu suretle, sodyumun %10'u distal tübüle girer. Burada, aldesteron ve antidiüretik hormon (ADH) tarafından, geriye kalan sodyum ve suyun atılımı vücudun fizyolojik ihtiyacına göre regüle edilir. Normal olarak başlangıçta filtre edilen sodyumun yalnız %1'i idrarla atılır.^{13,20}

Böbreklerin yüksek perfüzyonuna karşı çok düşük bir intrarenal direnç mevcuttur. Renal arteriyöz oksijen içeriğinin farkı, diğer organlarda %4-5 civarındadır. Fakat bu direnç farkı böbrekte yaklaşık %1.7'dir. Renal yolla oksijen tüketimi vücudun toplam oksijen tüketiminin %7'sidir. Bu enerjinin büyük bir bölümü tübüllerdeki sodyum transportuyla doğrudan ilgilidir ve ona göre değişim gösterir.²¹

2.2. Akut Böbrek Toksisitesi

Yapılan araştırmalarda yüksek doz parasetamolün insanlarda ve deney hayvanlarında renal kortikal nekroza neden olduğu tespit edilmiştir. Sitokrom p450 enzim sistemi, prostaglandin sentaz ve N-deasetilasyon enzim sistemlerini içeren yollar renal toksisite mekanizmalarında rol almaktadırlar. Oluşan hücresel hasar özellikle proksimal tübülde hasara ve glomerüler filtrasyon hızının düşmesine neden olmaktadır. Karaciğerde olduğu gibi renal mikrozomlarda p450 enzim sistemi ile parasetamolu okside ederler. Bu parasetamole bağlı akut böbrek hasarı da karaciğerde olduğu gibi biyokimyasal mekanizmalarla gerçekleştiğini göstermektedir. Parasetamol böbreklerde nefrotoksik etkili p-aminofenole deasetillenir. Kronik karaciğer yetmezliği,

cinsiyet ve p450 enzim sistemini etkileyebilecek durumlar renal toksisiteyi etkileyebilmektedir.²²

Sitokrom p450 mikrozomal enzim sistemi hem böbrek hem karaciğerde bulunmaktadır. Renal hasarın şiddeti ve dokulardaki reaktif katım ürünleri bu enzim sisteminin aktivitesine bağlıdır. Aktiviteyi arttıran durumlar asetaminofen toksisitesinin şiddetini de arttırmaktadır. Örneğin kronik alkol kullanımı ve bu enzim sistemi ile metabolize olan antikonvülsanlarla birlikte alınması toksisitenin şiddetini arttırabilmektedir.²³ Böbreklerde daha fazla bulunan sitokrom p450 izozimi CYP2E1 enzimi testosteron ile indüklenebilmesi cinsiyete bağlı olarak parasetamol toksisitesinin farklılık gösterebileceğini de göstermektedir.²⁴

Asetaminofen toksisitesi ile ilişkili olduğu düşünülen diğer bir enzim sistemi prostaglandin endoperoksidaz sentaz (PGES)'dir. Daha çok parasetamolün kronik toksisitesi ile ilişkilidir. Böbreklerde bulunan PGES parasetamolün başta NAPQI olmak üzere toksik metabolitlere dönüşümünü aktive eder. Bu metabolizma böbreğin medullasında gerçekleşirken sitokrom p450 enzimi ile metabolizma böbrek korteksinde önemli rol alır. Toksik metabolitlerin oluşması hücresel proteinlere kovalan bağlarla bağlanmaya ve bunu takiben hücre ölümü ve dokuda nekroza neden olur. Bu mekanizma hem insanlarda hem de hayvan modellerinde gösterilmiştir. Kronik parasetamol toksisitesinde ise terapötik dozlarda bile PGES parasetamole yüksek affinite ile bağlanarak reaktif metabolitlerin oluşmasına neden olarak etki gösterir.²⁵

Böbrek korteksinde N-asetilasyon sonucu oluşan NAPQI ve p-aminofenol glutatyon depolarının tükenmesi sonucu birikebilir. NAPQI membranlara ve sülfidril proteinlere bağlanarak böbrek hasarı oluşturur. Ayrıca p-aminofenol de renal makromoleküllere kovalan bağlarla bağlanarak böbrek hasarı yapar.²⁵

Çok nadir yapılsa da parasetamol toksisitesi nedeniyle yapılan renal biyopsinin ışık mikroskopunda incelenmesinde tübüllerin hem proksimal hem distal kısımlarında tübüler epitel hücrelerde nekroz gözlenmiştir.²⁶ Asetaminofen ile indüklenmiş renal yetmezlik akut tübüler nekroz (ATN) ile ilişkilidir. İdrar analizleri renal yetmezliğin diğer nedenlerini bu durumdan ayırt etmek için kullanılabilir. ATN sırasında idrar sedimentasyonu hematüri ve piyüri ile birlikte artmıştır. Diğer renal toksisite durumlarında akut üriner sedimentasyon daha az yükselir. İdrar sodyum ve osmolalitesi de ek bilgi verebilir. ATN'de idrar sodyum düzeyi >20 mmol/L olur. Bunun yanında böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi için serum üre ve kreatinin düzeyleri de parasetamol toksisitesi nedeni ile böbrekte oluşacak hasarı değerlendirmede kullanılabilir.^{22,27}

Renal yetmezlik zehirlenmeyi takiben 1-8 gün arasında gözlenebilmektedir. Pekçok vaka raporu zehirlenmeyi takiben 2-5 günde gözlendiğini bildirmiştir. Serum kreatinin düzeyleri zehirlenmeyi takiben ortalama 7. günde pik düzeylerine ulaşır. Renal fonksiyonlar tedavi sonrası 1 ay içinde düzelir. Hastaların yaklaşık %1'i zaman kazanmak amacıyla diyalize alınır.²⁸

2.2.1. Böbrek Toksisitesinde Kullanılan Biyokimyasal Parametreler

2.2.1.1. BUN

Kan üre azotu (BUN, Blood urea nitrogen) testi, böbrek fonksiyonunun ölçülmesinde kullanılan çok geçerli bir testtir. Memelilerin vücudunda protein maddelerinin yıkılması sonucu meydana gelen amonyak, karaciğerde karbondioksitle üreye dönüştürülür. Kana geçen üre, idrarla dışarıya atılır. Sağlıklı, yetişkin bir insanın 100 ml kanında 7-21 mg/dL üre azotu bulunmaktadır. BUN değeri, dehidrasyon, böbrek hastalıkları (glomerulonefrit, piyelonefrit, diyabetik nefropati), idrar yolu tıkanmaları

(prostat hipertrofi), ilaçlar (aminoglikozidler ve diğer antibiyotikler, diüretikler, lityum, kortikosteroidler), gastrointestinal kanamalar ve azalmış böbrek kan akımı gibi durumlarda yükselirken; karaciğer hastalıkları, kötü beslenme, gebeliğin 3. trimesteri gibi durumlarda BUN değeri düşmektedir²⁹.

2.2.1.2. Kreatinin

Kreatinin, kaslarda enerji deposu olarak rol alan kreatinin fosfatın yıkım ürünüdür. Kişinin vücut ve kas kitlesine bağlı olarak sabit hızda üretilir ve bu nedenle kadın ve çocuklara oranla erkeklerde kandaki seviyesi daha yüksektir. Kreatinin testi genellikle böbrek fonksiyonlarını ve hastalıklarını değerlendirmek için rutin olarak kullanılan bir testtir. Dehidratasyon, nefrotoksisite, transplantasyon rejeksiyonu, akut tübüler nekroz gibi durumlarda kreatinin seviyesinin yükseldiği bilinmektedir³⁰

2.2.1.3. Üre

Üre, fizyolojik önemi bulunan bir bileşiktir. Memelilerin vücudunda protein maddelerinin yakılması sonucu meydana gelen amonyak, karaciğerde karbondioksitle üreye dönüşür. Kana geçen üre, idrarla dışarıya atılır. Üre ayrıca az miktarda ter, süt ve gözyaşında da bulunur. Yetişkin bir insan günde 25-30 gram üreyi idrarla atar. Fakat vücut yaşlandıkça, böbreklerin üreyi vücuttan atma kabiliyeti de her geçen yıl bir parça daha azalacaktır. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla bakılan üre klerensi ise 1 dakikada üreden temizlenen plazma miktarıdır. Normal olarak dakikada 55-75 ml plazma üreden temizlenir. İdrar miktarı 2 ml/dk yada daha fazla ise atılan üre miktarı, kandaki miktarıyla orantılıdır. Halbuki idrar miktarı 2 ml'den az ise, atılan üre miktarı azalır ve klirensi düşer³¹

2.3. Parasetamol

Para-aminofenol türevi olan parasetamol, asetaminofen ve N-Asetil-P-aminofenol olarak da bilinen yaygın bir şekilde kullanılan antipiretik ve analjezik bir ilaçtır.³² Ülkemizde ağız ya da rektum yoluyla uygulanan, tek başına ya da başka ilaçlarla birlikte olan farmasötik biçimleri vardır. Bu farmasötik biçimlerden toksisteye en çok neden olan oral formülasyonlardır.³³

Orta çağlarda halk arasında geleneksel tedavi yöntemi olarak söğüt ağacı kabuğu ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktaydı. 17. Yüzyılda aynı amaçla kullanılan kınakına ağacı 1880'lerde zor bulunur hale gelince alternatif ilaçlar aranmaya başlandı.³⁴ İlk defa 1877 yılında Harmon Northrop Morse, p-nitrofenol'ü asetik asitle indirgeyerek parasetamolü sentezlemiştir. Ancak klinik kullanıma girmesi 1887'de Von Mering tarafından gerçekleştirilmiştir.³⁵ 1948 yılında yapılan çalışmalarda Brodie ve Axelrod parasetamol'ün asetanilid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirmişlerdir.³⁶

1886'da antipiretik ajan olan asetanilid ve 1887'de ise fenasetin geliştirildi. Yine 1887 yılında fenasetin ve parasetamol Von Mering tarafından klinikte kullanıldı.³⁵ Parasetamol'ün fenasetinden daha toksik olduğu düşünüldüğünden uzun bir süre kullanılmadı ancak 1948 yılında Brodie ve Axelrod parasetamolün asetanilid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirdiler.³⁶ Fenasetin'in ise methemoglobinemi ve analjezik nefropatiye yol açması 1950'lerde parasetamolün "yeniden keşfine" yol açtı. İlk kez Amerika Birleşik Devletleri'nde, 'Tylenol' adı altında, 1956 yılında ise İngiltere'de 'Panadol' ve çocukların kullanımı için 'Panadolelixir' ticari isimleriyle İngiltere'de piyasaya sürüldü. Sonraki yıllarda ise yan etkisi az olan bir analjezik olarak büyük popülarite kazandı.

2.3.1. Parasetamolün Farmakolojik Özellikleri

Parasetamol, fenasetinin etkin metabolitlerinden biri olan para-aminofenol türevidir. *4-hydroxyacetanilide* veya *N-acetyl-p-aminophenol* olarak da bilinir.

Beyaz, kokusuz, hafif acı bir tadı olan kristal toz yapısındadır.³⁷ Erime noktası 170 °C, yoğunluğu 21 °C'de 1.293 g/cm³'dür.³⁸ Su ve eterde az çözünürken metanol ve etanol gibi organik çözücülerde çözünür. Doymuş çözeltisinin pH aralığı 5.5-6.5 arasındadır. Asidik ve alkali ortamlarda yavaşça asetik asit ve p-aminofenole dönüşür.³⁹

Parasetamolün endikasyonları; baş ağrısı, migren, adet sancıları, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara bağlı ağrı, nefralji, nefrit, siyatik, lumbago, kas ve eklem ağrıları, orta kulak ağrıları, sinüzit ve cerrahi operasyonlardan veya yaralanmalardan kaynaklanan ağrılardır.⁴⁰ Romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıklarda diğer antiinflamatuvar ajanlarla birlikte ek tedavi olarak kullanılabilir.³ Kullanımı yaygın olan parasetamol ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda parasetamol'ün merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinden santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu ve serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla etki ettiğine inanılmaktadır.⁴⁰ Analjezi amacı ile kullanılan salisilatların gastrointestinal rahatsızlıklara veya alerjik reaksiyonlara yol açtığı durumlarda parasetamol tercih edilir. Bunun yanında aspirin alımından sonra akut bronkospazm gelişen ve hemofili veya peptik ülser öyküsü olan hastalarda da parasetamol tercih edilir. Ürik asit itrahinı etkilemez ve ürikozürük ilaçların etkinliğini azaltmaz ve gut tedavisinde probenesid ile birlikte kullanılır. Çocuklarda viral enfeksiyon gözlemlendiği durumlarda aspirine tercih edilir.³

Lim ve arkadaşları,⁴¹ yaptıkları bir çalışmada, köpeğin dalağına enjekte ettikleri bradikininin ağrı yapıcı etkisinin parasetamol'ün ağrı kesici etkisinin santralde değil de

periferde prostaglandin sentezini inhibe ederek ortaya koyduğu etki ile yaptığı gösterilmiştir.

Milton ve Wendlant kedilerde endotoksin kaynaklı madde enjekte ederek oluşturdukları ateşi parasetamolün engellediğini fakat enjekte edilen prostaglandin E1 kaynaklı ateşi etkilemediğini bildirmişler.⁴² Daha sonra yapılan çalışmalarda parasetamol'ün beyin omurilik sıvısındaki prostaglandin benzeri maddeleri inhibe ederek ateşi düşürdüğü gösterilmiştir.⁴³

Parasetamol santral etkili bir ilaçtır. Prostaglandin sentezini ve sinir sisteminde COX enzimini selektif olarak inhibe eder. Analjezik ve antipiretik etkilerini, hipotalamus ve omurilik arka boynuzunda prostaglandin sentez ve salıverilmesini inhibe etmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.⁴⁴ Yine beyindeki COX inhibisyonunun parasetamolün antipiretik etkisini açıklayabileceği düşünülmektedir.⁴⁵ Santral analjezik etkisi beyinde COX-1 ve COX-2 dışındaki siklooksijenazları inhibe etmesi rol oynar.⁴⁴ Yapılan son çalışmalar parasetamol'ün MSS'de tespit edilen COX-1 ve COX-2'den farklı olarak COX-3 olarak adlandırılan enzimi selektif olarak bloke ettiği düşünülmektedir.⁴⁶ Köpeklerde rastlanan bu variantın insan beyinde olup olmadığı veya inhibisyonunun parasetamolün insanlardaki etkinliğiyle ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir.^{45, 47} Bununla birlikte COX-3 ile ilgili literatürde kesin bir bilgi bulunmamaktadır.⁴⁸

Periferdeki iltihabi dokular gibi peroksitten zengin ortamda siklooksijenazı inhibe edememesi ve prostaglandin sentezi üzerinde etkisi olmadığından antiinflamatuvar etkili olduğu düşünülmemektedir.^{35, 44} Antitrombotik etkinliği de zayıftır.⁴⁴

Analjezik etkisi aspirin ile eşit ve antipiretik etkisi de onunkine yakın güçtedir. Antiinflamatuvar etkisi ise aspirinden farklı olarak oldukça düşüktür ve antiinflamatuvar etkinlik gerektiren endikasyonlarda kullanılmaz. Antiinflamatuvar ilaçların analjezik

etkisini arttırmak için kullanılabilir. Solunum, kardiyovasküler sistem ve asit-baz dengesi üzerinde belirgin bir etkisi olmamakla birlikte midede irritasyon ve kanama yapmaz. Protrombin sentezi üzerine etkisi yoktur. Oral antikoagülanlarla belirgin bir etkileşme göstermez ve plazma proteinlerine fazla bağlanmaz.⁴⁴

2.3.2. Parasetamolün Farmakokinetiği ve Metabolizması

Parasetamol toksisitesini anlayabilmek için farmakokinetik ve metabolizasyonunun bilinmesi gerekmektedir. Oral yoldan alındığında parasetamol gastrointestinal yoldan hızlı ve neredeyse tamamen emilir ve mükemmel bir biyoyararlanıma sahiptir, etkisi erken başlar.³⁶ Doruk plazma konsantrasyonuna 30 ile 60 dakika içinde erişir. Yarılanma ömrü iki saattir. Bir dozdan sonra analjezik etkisi 3-4 saat kadar devam eder. Parasetamolün büyük kısmı karaciğerde glukuronik asitle ve sülfatla konjüge edilir ve böbreklerden bu şekilde itrah edilir. Olağan dozda eliminasyon yarılanma ömrü 2.4 saattir; non-lineer eliminasyon kinetiği göstermesi nedeniyle aşırı dozda 7.3 saate kadar çıkabilir. Gastrointestinal toksisitesinin düşüklüğü nedeniyle tam dozda, antiinflamatuvar analjeziklerin düşük dozları ile kombine edilebilir.⁴⁴

Parasetamol bütün vücut sıvılarına nispeten eşit olarak dağılır. Plazma proteinlerine bağlanması nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlardan daha azdır. Parasetamolün terapötik serum konsantrasyonu yaklaşık 10-20 µg/mL'dir. Analjezik ve antipiretik etkisini sırası ile 10 µg/ml ve 18 µg/ml düzeyindeki kan konsantrasyonlarında gösterir. Yemek ile beraber veya tok karnına alınması biyoyararlanımı belirgin şekilde değiştirdiğinden aç karnına alınması önerilir. Opioidler ve antikolinerjik ilaçlar kan pik düzeyine ulaşma süresini geciktirir. Parasetamol'ün erişkin ve adölesanlarda oral dozu 500-1000 mg'dır ve günlük en yüksek dozu 4 g

olarak kabul edilir. Böbrek yetmezliği varsa veya alkolik ise doz azaltılmalıdır.⁴⁹ Çocuklarda, hepatotoksisite potansiyeli düşük olduğundan Dünya Sağlık Örgütü bir defada verilebilecek dozu 10 mg/kg ve 6-12 yaşlar arasındaki çocuklarda ise bir defalık dozun ise 20-30 mg/kg'a çıkartılabileceğini bildirmiştir. Parasetamol oral dozuna eşit dozlarda rektal yoldan da verilebilir.^{49, 50}

Parasetamol terapötik dozlarda kullanıldığı zaman %90-95 oranında 24 saat içerisinde karaciğerde glukroniltransferaz enzimi yardımıyla glukronik asitle (%60 kadarı), sülfoniltransferaz enzimi yardımıyla sülfürik asitle (%35 kadarı) veya yaklaşık %3'ü sistein (az miktarda) ile konjuge edilmiş olarak idrarla atılır. %2'lik kısmı ise idrardan değişmeden atılmaktadır.⁵¹ Çok az miktarda da hidroksillenmiş ve deasetillenmiş metabolitleri atılır.

Çocuklar yetişkinlere göre daha az glukuronidasyon yapabilme kapasitesine sahiptirler. Parasetamol küçük bir oranda hepatik sitokrom P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) yoluyla N-hidroksilasyona uğrar ve oldukça reaktif bir ara ürün olan NAPQI'i oluşturur.^{52, 53} Bu metabolit diğer intrasellüler proteinlere kovalent olarak bağlanarak zarar verir ve fizyolojik koşullarda glutatyondaki (GSH) sülfidril grupları ile reaksiyona girerek zarar vermeden merkaptürik asit ve sistein konjugatları olarak idrarla atılır.^{52, 54-56} Bu metabolitin karaciğer hasarı oluşturabilmesi için parasetamol yüksek dozlarda alınması gerekir ki bu durumda bu reaktif ürün hepatik GSH depolarını tüketerek karaciğer hasarı oluşturur.⁵⁷ Parasetamol hepatotoksisitesindeki asıl mekanizmanın bu yoldan olduğu düşünülmektedir.⁵⁵

Parasetamol böbreklerde ise deasetillenerek bir nefrotoksin olan ve renal kortikal nekroz oluşturan p-aminofenol metabolitine dönüşür. Terapötik dozlarda oluşan p-aminofenol karaciğerde NAPQI metabolitine benzer şekilde glutasyonla konjuge edilerek inaktif glutasyon konjugatları şeklinde atılır. Bunun yanında parasetamolün

böbrek korteksinde de sitokrom p450 sistemi ile oksidasyonu sonucu ortaya çıkan reaktif ara ürünler böbrek korteksinde hasar oluşturabilmektedir.⁵⁸

2.3.3. Parasetamol Toksisitesi

Terapötik dozlarda alındığında gözlenen karaciğer enzimlerindeki hafif artış geri dönüşümlü olup ilaç kesilince ortadan kalkar. Yüksek dozlarda baş dönmesi, huzursuzluk ve yönelim bozukluğu yapabilir. Methemoglobinemi ve hemolitik anemi çok nadir görülen advers olaylardır.⁵⁰

Nadirde olsa deride döküntü ve kaşıntı ve benzeri alerjik reaksiyonlar meydana gelir. Alerjik ilaç ateşi, hematolojik bozukluklar (nötropeni, trombositopeni ve pansitopeni), hipoglisemik koma ve renal tübüler nekroz gibi yan etkiler görülmektedir.⁵⁹

Aşırı dozda alındığında öldürücü akut karaciğer nekrozu yapar. İlaça bağlı fatal akut karaciğer nekrozu olgularının en başta gelen nedenidir. Karaciğer hasarının erken dönem belirtileri 24 saat içerisinde bulantı, kusma ve karın ağrısı ile gözlenir. 2-3 gün sonra sarılık ve diğer karaciğer yetmezliği belirtileri ortaya çıkmaya başlar. Tek dozda 10 g ve daha yüksek dozlarda alındığında akut karaciğer nekrozu oluşur. Tek dozda 20 g üzerinde alınması ölümlü sonuçlanabilir. Yine günde 5-8 g dozunda birkaç hafta alınması karaciğer nekrozu ve onu takiben ölüme neden olabilir.⁴⁴

Yüksek dozda parasetamol alımı sonucu aşırı miktarda oluşan NAPQI detoksifikasyon kapasitesinin dışında kalır. Bu durumda, glutatyon açığa çıkan fazla miktardaki NAPQI molekülünü bağlayamaz. Karaciğerde oluşan oksidasyon ürünü NAPQI karaciğer dokusunda hasarlanmaya yol açar ve hepatotoksik etki gösterir.⁶⁰ Hücrel proteinler ile kovalent bağlanabilen bu metabolit proteinlerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilir. Oluşan bu hücrel bozukluklar, kalsiyum ATPaz

aktivitesinde azalmaya ve sitozolik kalsiyum düzeylerinde artışa yol açar. Hücrel kalsiyum hemostazındaki anormallik, hücrenin geçirgenliğini değiştirebilir ve membran bütünlüğünün kaybına yol açabilir.^{42, 43} Yapılan çalışmalarda NAPQI'nın NADH (Nikotinamid adenin dinükleotit) fonksiyonunu ve süksinat dehidrogenaz fonksiyonunu da inhibe ettiği gösterilmiştir.⁶¹

2.3.3.1.Parasetamolün Karaciğer Toksisitesi

Parasetamol metabolizması sonucu oluşan NAPQI karaciğer hasarına neden olarak akut karaciğer yetmezliğine neden olabilir. Akut karaciğer yetmezliği (AKY) herhangi bir karaciğer hastalığı bulunmaksızın karaciğer fonksiyonlarının aniden ve ciddi bir şekilde bozulmasıyla karakterize, hepatik ensefalopatinin eşlik ettiği, potansiyel olarak geri dönüşümlü olabilen ancak mortalitesi oldukça yüksek bir klinik sendromdur.^{62, 63} AKY'nin etiyolojisi bölgelere göre değişiklikler göstermektedir. İngiltere'de akut karaciğer yetersizliğinin %70'inden, ABD'de de% 20'sinden parasetamol toksisitesi sorumludur.^{64, 65}

Akut karaciğer yetmezliğinin klinik belirtileri hafif gastrointestinal bozukluktan halsizlik ve konfüzyona kadar değişkenlik gösterir.^{66, 67} Tanı koymak için hasta anamnezi çok önemlidir. Fiziksel muayene kronik karaciğer yetmezliği ve ensefalopati varlığını saptayıp değerlendirmek için faydalı olabileceği gibi karaciğer hasarının altta yatan sebepleri hakkında ipuçları sunmada da faydalı olabilir.^{68, 69}

Akut karaciğer yetmezliği başlangıçta bulantı, kusma ve halsizlik gibi nonspesifik semptomlarla kendini gösterir. Bilirubin eliminasyonu bozulması ile sarılık gözlenir. Pıhtılaşma faktörlerinin sentezi azalır ve tüketiminin artması kompleks koagulopatiye neden olur. Glikoz sentezinin azalması, intraselüler laktat üretiminin artışı ve laktatın karaciğere alımının azalması metabolik asidoza ve hipoglisemiye

neden olur. Hipoglisemi bozulmuş glukoneogenezin ve dolaşımdaki artmış insülinin bir göstergesidir. Akut karaciğer yetmezliğine sahip hastaların % 30 ila 40'ında böbrek fonksiyon bozukluğu ve bununla ilişkili olarak azotemi ve oligüri görülür.^{70, 71}

Hastanın mental durumu, nörolojik durum hızla değişebildiğinden ve hasta komaya kadar gidebileceğinden dikkatli bir şekilde gözlenmeli ve değerlendirilmelidir. Karaciğer hasarı olmasına rağmen karaciğer fonksiyonları korunmuş olabileceğinden bilirubin seviyesi yükselmeyebilir bu nedenle sarılık ilk başlarda belirgin olmayabilir. Karaciğer metabolizmasının yetersizliği nedeniyle serum bilirubin seviyesi daha sonra yükselir. Abdominal muayenede karında hassasiyet gözlenebilir. Aspartat amino transferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) enzim seviyelerinin yükselmesi kaçınılmazdır. AST ve ALT, 10000 IU/L ve 1000 IU/L seviyelerini aşar. Alkalen fosfataz seviyesinde gözlenen artış ise daha azdır. Total bilirubin seviyesi 4 mg/dL düzeyine ulaşır. Protrombin zamanı (PT) ve Uluslararası Düzeltme Oranı (INR) seviyelerindeki belirgin artışla ciddi koagülasyon bozuklukları gözlenir. Karaciğer biyopsisi, histopatoloji steatoz ve hafif inflamatuvar infiltrat olmadan geniş sentrizonal nekrozu gösterir.⁷² Akut karaciğer yetmezliği multisistemiktir ve nörolojik bozukluk, hematolojik bozukluklar ve metabolik bozukluklar ile ilişkili olabilir.^{66, 73}

2.3.3.2. Parasetamolün Böbrek Toksikitesi

Yapılan araştırmalarda yüksek doz parasetamolün insanlarda ve deney hayvanlarında renal kortikal nekroza neden olduğu tespit edilmiştir. Sitokrom p450 enzim sistemi, prostaglandin sentaz ve N-deasetilasyon enzim sistemlerini içeren yolaklar renal toksisite mekanizmalarında rol almaktadırlar. Oluşan hücresel hasar özellikle proksimal tübülde hasara ve glomerüler filtrasyon hızının düşmesine neden olmaktadır. Karaciğerde olduğu gibi renal mikrozomlarda p450 enzim sistemi ile

parasetamolü okside ederler. Bu parasetamole bağı akut böbrek hasarı da karaciğerde olduğu gibi biyokimyasal mekanizmalarla gerçekleştiğini göstermektedir. Parasetamol böbreklerde nefrotoksik etkili p-aminofenole deasetillenir. Kronik karaciğer yetmezliği, cinsiyet ve p450 enzim sistemini etkileyebilecek durumlar renal toksisiteyi etkileyebilmektedir.⁷⁴

Sitokrom p450 mikrozomal enzim sistemi hem böbrek hem karaciğerde bulunmaktadır. Renal hasarın şiddeti ve dokulardaki reaktif katım ürünleri bu enzim sisteminin aktivitesine bağlıdır. Aktiviteyi arttıran durumlar parasetamol toksisitesinin şiddetini de arttırmaktadır. Örneğin kronik alkol kullanımı ve bu enzim sistemi ile metabolize olan antikonvülsanlarla birlikte alınması toksisitenin şiddetini arttırabilmektedir.⁷⁵ böbreklerde daha fazla bulunan sitokrom p450 izozimi CYP2E1 enzimi testosteron ile indüklenbilmesi cinsiyete bağı olarak parasetamol toksisitesinin farklılık gösterebileceğini de göstermektedir.⁷⁶

Parasetamol toksisitesi ile ilişkili olduğu düşünölen diğer bir enzim sistemi prostaglandin endoperoksidaz sentaz (PGES)'dir. Daha çok parasetamolün kronik toksisitesi ile ilişkilidir. Böbreklerde bulunan PGES parasetamolün başta NAPQI olmak üzere toksik metabolitlere dönüşümünü aktive eder. Bu metabolizma böbreğin medullasında gerçekleşirken sitokrom p450 enzimi ile metabolizma böbrek korteksinde önemli rol alır. Toksik metabolitlerin oluşması hücrel proteinlere kovalan bağılarla bağlanmaya ve bunu takiben hücre ölümü ve dokuda nekroza neden olur. Bu mekanizma hem insanlarda hem de hayvan modellerinde gösterilmiştir. Kronik parasetamol toksisitesinde ise terapötik dozlarda bile PGES parasetamole yüksek affinite ile bağlanarak reaktif metabolitlerin oluşmasına neden olarak etki gösterir.⁷⁷

Böbrek korteksinde N-asetilasyon sonucu oluşın NAPQI ve p-aminofenol glutasyon depolarının tükenmesi sonucu birikebilir. NAPQI membranlara ve sülfidrill

proteinlere bağlanarak böbrek hasarı oluşturur. Ayrıca p-aminofenol de renal makromoleküllere kovalan bağlarla bağlanarak böbrek hasarı yapar.⁷⁷

Çok nadir yapılsa da parasetamol toksisitesi nedeniyle yapılan renal biyopsinin ışık mikroskopunda incelenmesi tübüllerin hem proksimal hem distal kısımlarında tübüler epitel hücrelerde nekroz gözlenmiştir.²⁶ Parasetamol ile indüklenmiş renal yetmezlik akut tübüler nekroz (ATN) ile ilişkilidir. İdrar analizleri renal yetmezliğin diğer nedenlerini bu durumdan ayırt etmek için kullanılabilir. ATN sırasında idrar sedimentasyonu hematüri ve piyüri ile birlikte artmıştır. Diğer renal toksisite durumlarında akut üriner sedimentasyon daha az yükselir. İdrar sodyum ve osmolalitesi de ek bilgi verebilir. ATN'de idrar sodyum düzeyi >20 mmol/L olur. Bunun yanında böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi için serum üre ve kreatinin düzeyleri de parasetamol toksisitesi nedeni ile böbrekte oluşacak hasarı değerlendirmede kullanılabilir.^{74, 78}

Renal yetmezlik zehirlenmeyi takiben 1-8 gün arasında gözlenebilmektedir. Pekçok vaka raporu zehirlenmeyi takiben 2-5 günde gözlendiğini bildirmiştir. Serum kreatinin düzeyleri zehirlenmeyi takiben ortalama 7.günde pik düzeylerine ulaşır. Renal fonksiyonlar tedavi sonrası 1 ay içinde düzelir. Hastaların yaklaşık %1'i zaman kazanmak amacıyla diyalize alınır.⁷⁹

2.3.3.3.Parasetamol Toksisitesinde Klinik Bulgular

Parasetamol toksisitesinde ki semptom ve bulgular ilaç alımın süresine bağlı olarak farklılık gösterebildiğinden klinik bulguları alımından itibaren zamana dayalı olarak 4 aşamaya ayrılabilir. Bu nedenle semptomları süreye bağlı olarak değerlendirmenin daha doğru bir davranış olacağı ve yanlış teşhis ve tedaviyi en aza indireceği düşünülmektedir.^{72, 80, 81}

1. Evre (0-24 saat): Karın ağrısı, diare, iştahsızlık, bulantı, kusma, letarji, genel kırıklık ve terleme görülür. Laboratuvar sonuçları (karaciğer fonksiyon testleri gibi) normaldir veya değerler minimum düzeyde bozulmuştur.⁸²

2. Evre (24-72 saat): Karaciğer hasarı belirgin hale gelmiştir. Semptomlar geçici olarak kabolmakta ve biyokimyasal değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu biyokimyasal değişiklikler karaciğer tansaminazlarında yükselme, bilirubin seviyesi artış ve protrombin zamanında uzama olarak gözlenir. Faz 2'nin sonlarına doğru ise hepatomegali görülebilir. Sağ üst kadranda yerleşmiş ağrı dikkati çeker ve bu evrenin sonlarına doğru sarılık görülür.

3. Evre (72-96 saat veya daha uzun): Hepatotoksisite pik yapar ve karaciğer enzim anomalileri bu safhada en üst seviyeye çıkmış olup oligoüri ve akut tübüler nekroz da görülebilmektedir. Gastrointestinal semptomlar yeniden başlar, kusma yeniden ortaya çıkar veya daha da kötüleşir. Bu belirtilere halsizlik, fiziki muayenede rahatlıkla tespit edilir hale gelen sarılık ve konfüzyon, uyku hali veya koma gibi santral sinir sistemi bulguları ortaya çıkar ki bu bulgular faz 3'ün önemli bulgularıdır ve çok hızlı hareket edilmesi gerektiğini gösterir. Hepatoselüler hasar ve parasetamole bağlı ölüm en sık bu safhada görülmektedir.^{51, 83}

4. Evre (96 saatten 14 güne kadar): Karaciğer hasarının düzeldiği ve enzimlerin eski haline geldiği iyileşme evresidir. Semptomların ve karaciğer fonksiyon enzimlerinin yavaş yavaş düzeldiği gözlenir ancak tam düzelme 3 ay kadar sürebilmektedir. Akut karaciğer hasarı gözlenen hastaların %70'i faz 4' e girerek tamamen düzelir.^{51, 83, 84}

Yüksek doz parasetamol alımında metabolik asidoz gözlenebilir. Oluşan metabolik asidozun nedeni ilk 15 saat içerisinde laktik asit alımı ve metabolizmasının inhibisyonu ile ve karaciğer fonksiyonlarının da daha kötüleşmesi ile laktik asidin

hepatik klerensinin bozulmasıdır.⁷⁰ Metabolik asidoz yanında hipofosfatemi ve hipoglisemi gibi metabolik bozukluklar da gözlenebilir. Hipofosfatemi parasetamolün doz aşımında hepatotoksisite olmasa bile belirgin bir işarettir. Oluşan hipofosfateminin derecesi doz aşımı hakkında fikir verebilir.^{70, 85} Tedavi edilmeyen hastaların %1-2'si ölümcül karaciğer yetmezliğine girer. Doz aşımında herhangi bir müdahale yapılmazsa 4-18 gün içerisinde ölüm meydana gelir.^{51, 72, 81}

Parasetamol'ün toksisite riski 1975 yılında geliştirilen Rumack-Matthew nomogram ile gösterilebilir. Bu nomogram parasetamol alımından sonra geçen saatler ve serum parasetamol düzeyini baz alarak toksisite riskini tahmin eder.⁸⁶ Ancak yine de teşhiste tercih edilen ve en etkili olan yol kandaki parasetamol seviyesine bakmaktır.

2.3.3.4. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi

Bütün zehirlenme tedavilerinde olduğu gibi prensip olarak öncelikle hastanın havayolu açıklığının sağlanması, solunum ve dolaşım fonksiyonlarının değerlendirilmesi ve desteklenmesi gerekir. Parasetamolün emilimini azaltmak, kandaki düzeyini uygun düzeye indirmek, toksik metabolit miktarını azaltmak ve/veya toksik metaboliti detoksifiye etmek ve itrahını arttırmaktır. Parasetamol alımından sonra kısa bir süre geçmişse emilimi azaltmakla başlamak en uygun tedavi yaklaşımı iken eğer alımından sonra uzun bir süre geçmişse toksik metabolitin atılımı ve detoksifikasyonunu sağlamaya başlamak daha uygun bir çözüm olacaktır. Bu nedenle hangi tedavi yöntemi ile başlanacağı geçen zamana göre değişiklik gösterecektir. Gastrik dekontaminasyon ve aktif kömür uygulaması ilk birkaç saat içinde yapılan ve absorpsiyonu önlemede fayda sağlayan bir yöntem olup hayat kurtarıcı olabilmektedir.⁸⁷⁻⁸⁹ Eğer parasetamolün alımını takiben 8 saat içinde hastanede parasetamol düzeyi belirlenebilirse klinisyen ölçülen düzeyi nanogram üzerinden

değerlendirerek NAC tedavisinin gerekliliğine karar verir. Aksi halde NAC'ın ilk dozu ampirik şekilde uygulanır ve parasetamol düzeyi belirlendiğinde ek NAC tedavisine ihtiyaç olup olmadığını değerlendirmek için parasetamol düzeyi nomogram üzerinde değerlendirilmelidir. Ancak parasetamol alımını takiben 24 saatten fazla zaman geçen hastalarda ise gastrointestinal dekontaminasyonun gerekliliği, serum parasetamol düzeyi ve karaciğer fonksiyon testleri değerlendirilmelidir. 10 mcg/ml'den fazla olan serum parasetamol düzeyi, yükselmiş karaciğer fonksiyon enzimleri hastanın hepatotoksisite gelişimi açısından riskli olabileceğini gösterir. Bu durumda sürekli NAC tedavisi gereklidir. Eğer parasetamol düzeyi düşük ve AST ile ALT düzeyleri yükselmişse NAC tedavisi sonradan kesilebilir. NAC tedavisi tamamlanana kadar hastalar hastanede gözetim altında tutulmalıdırlar.⁹⁰ Bunun yanında simetidin kullanımının da sitokrom p450 enzimini inhibe ederek parasetamolün toksik metaboliti NAPQI dönüşümünü azaltır. Ancak yapılan çalışmalar simetidin ile birlikte NAC kullanımının yararlı bir etki göstermediği tespit edilmiştir.⁹¹

2.3.5.1. N-asetilsistein

L-sisteinin amino grubuna asetil eklenmesiyle oluşan bir aminoasit türevidir. İlk olarak 1960'larda mukolitik bir ajan olarak tanımlanmıştır. NAC'ın parasetamol toksisitesinde kullanılabileceği ilk olarak 1974 yılında Prescott ve Matthew tarafından gösterilmiştir.^{92, 93}

NAC; bronşitli ve kistik fibrozisli hastalarda, pnömoni ve sinüzit tedavisinde, kronik obstrüktif akciğer hastalığında mukolitik olarak, ağır metal zehirlenmelerinin tedavisinde, siklofosamid ve diğer kemoteropatik ajanların neden olduğu hemorajik sistit tedavisinde ve romatoid artrit tedavilerinde yer almaktadır. Bunların yanında antiinflamatuvar ve antioksidan olarak fonksiyon gösterir. Parasetamol başta olmak üzere çeşitli ilaçların oluşturduğu hepatotoksisitede ise antidot olarak kullanılmaktadır.^{94, 95}

NAC'ın birkaç koruyucu mekanizma aracılığı ile etki ettiği düşünülmektedir. Lokal nitrik oksit (NO) konsantrasyonunu arttırarak kan akımı üzerinde yaptığı vazodilatör etki ile periferel dokulara lokal oksijen dağılımını arttırır. Bu etkisi ile belirlenmiş bir hepatoksisite olsa bile mortalite ve morbiditede bir azalma görülür.^{96, 97} NAC'ın glutasyon miktarını arttırarak hepatotoksik etkiden sorumlu NAPQI'nın detoksifikasyonunu sağladığı düşünülmektedir. Dolayısıyla NAC, hücre içi glutasyon miktarını artırarak veya potansiyel toksik ajanlar ile spontan konjugasyon ve/veya redüksiyon ile doğrudan reaksiyona girerek hücresel bütünlüğü koruyabilir Ayrıca sülfat prekürsörü olarak da rol oynaması parasetamol'ün sülfat konjugasyonunu arttırarak bu yolağın doymasını önler.^{89, 96, 98-100} NAC toksik doz parasetamol alımında seçkin bir antidot olarak bilinmektedir.¹⁰¹ 1985 yılında oral NAC, 2004 yılında ise intravenöz NAC parasetamolün toksik dozda alımı sonrası karaciğer hasarını azaltmak için Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylanmıştır.^{102, 103}

Parasetamol alımından sonraki 8 saat içinde alınmaya başlanan NAC'ın hepatotoksisite gelişimini önlemede neredeyse %100 etkilidir. 8 saati geçen durumlarda hepatotoksisite gelişme riski artar. Ancak yine de 24 saat geçse dahi NAC tedavisine başlanması normale göre daha düşük bir hepatotoksisite riski ile sonuçlanır.¹⁰² Parasetamol toksisitesinde oluşan hasarı önleyebilmek için NAC'ın ilk 8-10 saat içinde 140 mg/kg %5 solüsyon içerisinde oral olarak verilmeye başlanması gerekmektedir. Takiben her 4 saatte bir 70 mg/kg oral olarak verilmeli ve bu en az 17 kez tekrarlanmalıdır. Oral olarak verilememesi durumunda %5 dekstroz içinde 150 mg/kg 15 dakikada verildikten 4 saat sonra %5 dekstroz içinde 50 mg/kg NAC verilmesini takiben 16.saatte 1 mg/kg verilerek tedavi sonlandırılır.^{66, 104, 105}

Yan etkilerin en belirginini parenteral uygulamada nadiren gözlenen anaflaktik reaksiyondur. Kızarıklık, ürtiker, kaşıntı, bronkospazm, anjiödem, hipotansiyon ve

taşikardi oluşabilir. Oral uygulamada ise karın ağrısı, kusma, diare ve döküntü görülebilmektedir.^{90, 98, 106-108} Etkinlik bakımından karşılaştırıldıklarında ise bir farklılık olmaması ile birlikte parenteral uygulamada hastanede kalım süresinin daha kısa olmasının tercih edilme nedeni olabileceği düşünülmektedir. Hastanın anaflaktik reaksiyon hikayesi ise oral NAC tedavisinin tercih edilmesine nedenidir.¹⁰⁹

Akut alımı takiben antidotal tedaviye başlama kararı serumdaki parasetamol konsantrasyonuna bağlıdır. Rumack-Matthew nomogramı yardımıyla alımdan sonra geçen zaman ve parasetamol konsantrasyonu karşılaştırılır ve antidotal tedavi için karar verilir.¹⁰² Toksisitenin şiddetini gösteren arterial, pH, PT, serum kreatinin, hemoglobin ve serum amilaz seviyeleri NAC tedavisinin başlamasında ve sonlandırılmasında önemli birer ölçüttür.¹⁰⁹

Farmakokinetik özellikleri iyi bilinmemekle birlikte toksisitesi düşüktür. Oral yolla 100-600 mg verilmesinden sonra emilimi oldukça hızlıdır. İntravenöz uygulamayı takiben eliminasyon yarı ömrü 2-6 saattir ve %20-30'u değişmeden atılır.⁹⁴ Yapısında sülfidril grupları içeren bir bileşik olan NAC sindirim sistemi ve karaciğerde deasetile edilerek disülfid protein peptidaz ile birleşir. %83 oranında proteinlere bağlanır ve yaklaşık bir saatte zirve plazma seviyesine ulaşır.¹¹⁰

Parasetamol toksisitesinde kullanılan NAC, metiyonin ve sistiaminin karşılaştırıldığı klinik çalışmada her 3 maddenin de hepatotoksisiteyi engellemesine rağmen metiyonin ve sistiaminin kullanımında daha fazla yan etki gözlenmiştir. Bu nedenle akut karaciğer hasarında parasetamol toksisitesinde kullanılacak en iyi antidot olarak NAC seçilmiştir.⁸⁷

2.3.3.5. Aktif Kömür Uygulaması

Oral aktif kömür uygulaması, parasetamol aldığı bilinen hastalarda ilk 4 saat içerisinde uygulanır ise NAC tedavisinden bile önce gelen ilk basamak tedavi olarak tavsiye edilir.^{66, 111} 20 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada gastrik lavaj, ipeka şurubu ve aktif kömür uygulamalarından aktif kömürün kan parasetamol düzeyini diğer girişimlere göre anlamlı bir şekilde azalttığını göstermiştir.¹⁰⁸ Oral aktif kömür tek doz olarak 1 g/kg olarak verilir. Yapılan çalışmalar yüksek doz parasetamol alımından sonra ilk bir saatte uygulanmasını desteklemektedir.^{112, 113} Bazı çalışmalar aktif kömürün NAC emilimini azaltarak onun antidotal etkinliğini azalttığını ileri sürse de yapılan hayvan deneylerine ve retrospektif klinik çalışmalara göre bu hipotez desteklenmemiştir.¹¹³⁻¹¹⁵

2.3.3.6. Simetidin

CYP2E1 enzimi tarafından metabolize olan parasetamol ve simetidin beraber alındığında simetidin CYP2E1 enzimini kompetitif inhibe ederek parasetamolün toksik metaboliti olan NAPQI'in üretimini azaltacaktır.^{91, 116} Parasetamol intoksikasyonunda simetidin koruyucu rolü yıllardır tartışılmaktaysa da yapılan çalışmalarda bu etkisi gösterilmiştir.^{95, 117} Al-Mustafa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NAC ve simetidin'in birlikte kullanılmasının her iki ilacın da hepatoprotektif özelliklerinin arttığı ve aditif etki gösterdiği görülmüştür.¹¹⁸ Ancak Slattery ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise parasetamol alımından sonra 300 mg simetidin kullanımının NAPQI üretimini azaltmadığını göstermiş olup bu da simetidin uygulamasının daha erken başlaması gerektiğini göstermektedir.^{91, 116}

2.3.3.7. Metionin

Hücre içi glutatyonun yenilenmesinde etkili olan metionin de parasetamol zehirlenmesinde etkili ilaçlardan biridir. Son ürünü glutatyon olan transsülfürasyon yolağının prekürsörü metionindir.¹¹⁹⁻¹²¹ Oral olarak kullanılır. Aktif kömürle birlikte verildiğinde ve hastanın kusmaları olduğunda etkinliği azalır. Hücrede NAC'e benzer şekilde koruyucu mekanizmalarda rol oynar. Zehirlenmeyi takiben on saati geçmişse etkinliği azalır.⁹⁴

2.4. Kalsiyum Kanal Blokerleri

Kalsiyum kanal blokerleri veya diğer adlandırmayla kalsiyum antagonistleri kalp kası, kalbin ileti sistemi ve damar duvarı düz kas hücresi üzerine çok çeşitli etkilere sahip heterojen bir gruptur. Bu grup ilaçlar, hipertansiyon ve hipertansif acil durumların tedavisinde etkilidirler. Ülkemizde izin almış ve ruhsatlandırılmış amlodipin, diltiazem, felodipin, nifedipin, nitrendipin, nisoldipin, isradipin, lacidipin, nikardipin, verapamil ve lerkanidipin gibi kalsiyum antagonistleri klinikte kullanılmaktadır. Kalsiyum kanal blokerlerinin damar genişletici etkisi arteriyollerde belirgindir. AKB'yi düşürmelerine rağmen böbrek ve beyin kan akımında ve glomeruler filtrasyon hızında (GFR) azalma yapmazlar. Nifedipin ve diğer DHP türevleri, böbreklerden sodyum ve su atıcı etki gösterirler. Hafif ve orta birincil yüksek kan basıncı tedavisinde tek ilaç tedavi seçeneklerinden biridir. Bu grup ilaçların ilk çıkan kısa etkili preparatları, günde birkaç dozda alınma mecburiyeti nedeniyle, yüksek kan basıncı tedavisinde yeterince kullanım alanı bulamamıştır. Ancak son yıllarda uzun etki süreli, günde tek veya iki dozda alınan preparatları piyasaya sürülmüştür. Kalsiyum

antagonistlerinin, özellikle beyin kan akımını da artırdığı için, yaşlılarda uygun seçenek olduğunu düşünülmektedir.

Kalsiyum antagonistleri bilinen tüm antihipertansif ilaçlarla kombine edilebilirler. Genel olarak şeker hastalarında böbrek koruyucu etkilerinden yararlanmak amacıyla, yaşlılarda beyin kan akımını artırdıkları için tercih edilmesi gereken ilaçlardır. Birçok ülkede yüksek kan basıncı tedavisinde en çok kullanılan ilaç grubu dihidropiridinlerdir (DHP). Bu gruptan ilk kullanıma giren ve prototipi sayılan nifedipin'dir. Daha sonra çıkan ve 2. kuşak kalsiyum kanal blokerleri de denilen amlodipin, felodipin, nikardipin, nitrendipin, lerkanidipin ve lasidipin, nifedipin'e göre daha damar seçicidir (vazoselektif) ve yarılanma ömrü uzundur. Günde tek dozda kullanılabilme üstünlüklerine sahiptir. DHP türevi olmayan kalsiyum antagonistleri ise diltiazem ve verapamildir¹²²

2.4.1. Kalsiyum Kanal Blokerlerinin Sınıflandırılması

A-Selektif olanlar

a-Dihidropiridinler (nifedipin, nikardipin, nitrendipin, amlodipin, nizoldipin, isradipin, lasidipin, felodipin, nimodipin)

b- Fenilalkilaminler (verapamil, gallopamil)

c- Benzotiazepin (diltiazem)

B- Non - selektif olanlar

a-Flunarizin

b- Sinarizin

c- Prenilamin

d- Perheksilin

2.4.2. Kalsiyum Kanal Blokerlerinin Böbreklerdeki Etkileri

Günümüzde kalsiyum kanal blokörlerinin en önemli etkilerinden biri damar düz kas hücresi üzerine gösterdiği gevşetici etkisidir. Hipertansif hastalara veya deney hayvanlarına kalsiyum kanal blokörleri verildiği zaman görülen en belirgin etki vazodilatasyon ve vasküler direncin azalmasıdır.⁸ Bu etki böbrek kan akımının ve glomerüler filtrasyon hızının artmasına yol açar. Diğer vazodilatörlerden farklı olarak kalsiyum kanal blokörleri su ve tuz tutulmasına sebep olmazlar. Ayrıca diürez ve natriürez artırır. Hipertansiyonda ve böbrek yetmezliğinde bu ilaçların glomerüler filtrasyon hızındaki düşmeyi önledikleri bildirilmiştir. Bundan başka renal iskemiye veya nefrotoksikiteye bağlı akut tübüler nekroz ve akut böbrek yetmezliği üzerine koruyucu etkileri hakkında umut verici sonuçlar bildirilmiştir.⁸

2.4.2.1. Amlodipin

Amlodipin oral yoldan kullanılan bir kalsiyum kanal blokörüdür. Hipertansiyon kronik stabil anjina pectoris ve Prinzmetal varyant anjina tedavisinde kullanılır. Amlodipin diyabetik nefropati ya da hipertansif böbrek hastalığı olan hastalarda böbrek hastalığının ilerlemesini yavaşlatan, ACE inhibitörleri veya AII reseptör antagonistlerine göre daha az etkili olarak kabul edilir¹²³

2.4.2.2. Amlodipin Farmakokinetiği

Amlodipin oral yoldan verilmesini takiben hemen bütünüyle absorbe olur.oral biyoyararlanımı %52-88 arasında değişir. Doruk plazma konsantrasyonlarına oral dozunda alınmasından 6-9 saat sonra ulaşır; maximum hipotansif etkisinde buna uyacak şekilde geç ortaya çıkar. Yemekler ile birlikte alınması bu parametreleri anlamlı bir şekilde etkilemez. Amlodipin plazma proteinlerine %93 gibi yüksek bir oranda bağlanır; fakat buradaki bağlanma yerlerinden uzaklaştırılması ile ilgili bir etkileşme bildirilmemiştir. Amlodipin kapsamlı bi şekilde inaktif metabolitlerine metabolize edilir; ana bileşiğin %10'u ve inaktif metabolitlerinin %60'ı idrarla atılıma uğrar. Eliminasyonu bifaziktir; terminal yarı ömrü 30-50 saat arasında olup bu bakımdan diğer dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokörleri arasında en uzun süreye sahiptir. Amlodipinin kararlı konsantrasyonlarına 7-8 günlük tedaviden sonra ulaşır.¹²⁴

2.4.2.3. Amlodipin Endikasyonları ve Yan Etkileri

Kan basıncını kontrol altına almada tek başına yada diğer antihipertansiflerle kombine olarak kullanılabilir. Kronik stabil anjının semptomatik tedavisinde ve koroner damarlarda vazospazma bağlı gelişen anjina ataklarının tedavisinde endikedir. Her iki durumda da tek başına ya da diğer antianjinal ilaçlarla kullanılabilir.¹²⁵

Yan etkiler

Çok yaygın yan etkiler: kullananların %8.3'ünde periferel ödem, kullananların %4.5'inde halsizlik, başağrısı, dispepsi, karın ağrısı, çarpıntı, uykusuzluk, baş dönmesi, %1'inde yüz kızarması ve kusma. Yapılan klinik çalışmalarda baş dönmesi ,yüzde kızarma ve çarpıntının doz bağımlı yan etkiler olduğu ve artan doza bağımlı olarak bu yan etkilerin şiddetlendiği tespit edilmiştir.

Yaygın yan etkiler: kan tablosunda bozulma, jinekomasti, erektil impotans, depresyon, uykusuzluk, taşikardi ve diş eti hiperplazisi %0.1.

Seyrek yan etkiler: değişken ruh hali, hepatit, sarılık %0.01

Çok seyrek: hiperglisemi, tremor, stevens-johnson sendromu %0.001 ¹²⁶

2.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren, yüksek enerjili, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük moleküllerdir. Elektron çiftlemek için diğer moleküller ile reaksiyona girme eğiliminde olmaları, serbest radikalleri oldukça reaktif bir hale getirir. Yapısındaki çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır.^{127, 128}

Aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak sürekli üretilen serbest radikallere karşılık, antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulurlar. Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir.¹²⁹ Oksidatif stres, oksidan/antioksidan dengenin antioksidan lehine bozulması olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikallerin protein, lipid ve nükleik asit gibi makro moleküller ile etkileşmeleri sonucu hücre yapısı ve fonksiyonlarında önemli değişiklikler gerçekleşmektedir.^{127, 130}

Biyolojik sistemlerdeki en önemli radikal kaynağı oksijenden oluşan radikallerdir. Eşlenmemiş elektron çiftine sahip oksijen bu kararsız yapılarından dolayı serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerken, radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen atomu orbitallerindeki elektronların farklı dizilimiyle

singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$), hidroksil ($\cdot\text{OH}$), peroksi ($\text{ROO}\cdot$) ve alkoksi ($\text{RO}\cdot$) radikalleri gibi serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır.^{131, 132} Oksijen merkezli ve oksijen merkezli olmayan serbest radikaller olarak sınıflandırılabilen serbest radikaller yanında H_2O_2 gibi radikal olmayan fakat etkileri ve sonuçları sebebiyle kimyasal aktiviteleri yüksek reaktif oksijen bileşikleri de vardır.¹³⁰

2.5.1. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, hücrelerin DNA, lipid, protein, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederler. Hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır. Serbest radikallerden süperoksit ve hidroksil radikali sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonu başlatarak membran permeabilitesini arttırır. Proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer aminoasit kalıntıları, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest radikallerin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı oluşur. Serbest radikaller farklı mekanizmalar ile hücreye zarar vermektedir. Bu mekanizmalar aşağıdaki başlıklar halinde incelenebilirler.¹³³

2.5.1.1. Serbest Radikallerin Membran Lipitleri Üzerine Etkileri

Membran üzerindeki birçok bileşik ve molekül serbest radikallerden etkilenir. Ancak biyomoleküllerin serbest radikallerin etkilerine en hassas olanı lipidlerdir. Serbest radikaller hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerini üzerine etki ederek lipid peroksidasyonu (LPO) başlatırlar. Biyolojik sistemlerde doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile bir zincir reaksiyonuna girdikten sonra okside olup oksidatif degradasyona uğramasına “lipid peroksidasyon” adı verilir. LPO çok zararlı bir zincir reaksiyonudur ve oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Bu

zincir reaksiyonlar daha sonra protein oksidasyonuna neden olur. Membranlarda oluşturduğu yıkıcı etki, genellikle reaksiyon sırasında açığa çıkan hidroksil radikalının membran yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur.¹³⁴ Membran hasarının oluşturduğu etki ile hücre elemanlarına zarar verir. Lipidlerin, araşidonik asid metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ise, “non-enzimatik lipid peroksidasyonu” adı verilir. Sonuçta hücre membranından sızma ve hücre ölümüne kadar giden bir dizi reaksiyon gerçekleşirken çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehit yapısında ürünler ortama çıkar. Aldehitler katım ürünü oluşturabilen reaktif türlerdir. Bu bileşikler ya başlangıçtaki etki alanlarından diffuze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar veya hücre düzeyinde metabolize edilirler. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir.^{132, 133,}
¹³⁵ Yapılan birçok araştırmada MDA’in proteinleri modifiye ettiği ve DNA ile reaksiyona girerek deoksiguanozin ve deoksiadenin ile katım ürünleri oluşturduğu gösterilmiştir.^{136, 137} Ölçümü spektrofotometrik, spektrofotometrik veya yüksek basınçlı sıvı kromatografisi gibi çeşitli yöntemlerle yapılabilen MDA günümüzde lipidlerin oksidatif hasarının geçerli bir biyogöstergesi olarak kullanılmaktadır.¹³⁸

2.5.1.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikal etkisine karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az etkilenirler. Serbest radikaller, DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazlar dahil birçok proteini de hedef alabilir veya dolaylı olarak lipid peroksidasyon oluşturarak protein hasarına neden olabilir.¹³⁹ Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri doymamış bağ ve kükürt içeren aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere

sahip proteinler serbest radikallerden daha çabuk etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Bu reaksiyonlar sonucu immünoglobülin G ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilir.^{132, 140-142}

2.5.1.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

UV-A, UV-B, iyonize radyasyon gibi eksojen faktörler ve ya endojen prosesler sonucunda DNA molekülünde oluşabilen değişikliklere DNA hasarı adı verilir. DNA hasarının ROS ile indüklenen hücrel modifikasyonların en ciddi olduğu düşünülmektedir. “Oksidatif DNA Hasarı” serbest radikallerin DNA’da oluşturduğu hasardır ve genelde onarılır. Ancak bazı durumlarda özellikle son derece reaktif bir bileşik olan hidroksil anyonunun etkisi ile DNA’da gerçekleşen oksidatif hasar onarılamaz. Onarılamayan hasar sonucunda mutagenез, karsinogenез veya yaşlanma olayları ortaya çıkar.¹⁴¹⁻¹⁴⁴ Lipid peroksidasyon sonucu oluşan MDA’nın da DNA’da mutasyona sebep olarak kansere ve bazı genetik hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir.¹⁴⁵

Hidroksil radikalının DNA’nın yakınlarında oluşması bu radikalın deoksiriboz ve bazlarca kolayca reaksiyona girmesi sonucu mutasyonlar oluşmasına neden olabilir. Bu etkilerini nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarma veya çift bağlara katma reaksiyonları ile DNA hasarı oluşturarak gösterirler.¹⁴⁶

2.5.1.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Serbest radikaller, monosakkaritlerin oto oksidasyonuna uğratması ile hidrojen peroksit, peroksitler ve okzalaldehyitler oluşur. Bunlar özellikle diabet ve sigara içimi ile ilişkili patolojilerde rol alırlar. Okzalaldehyitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki ile kanser ve yaşlanma olaylarında önemli rol oynarlar. Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hiyalüronik asitin oksidatif hasar sonucu parçalanması bol bulunduğu sinoviyal sıvı nedeniyle inflamatuvar eklem hastalıkları veya gözün vitröz hümöründe bulunması nedeniyle katarakt oluşması radikallerin karbonhidratlar üzerine etkisine bir örnektir.^{141,}

142

2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlı organizmalar, ROS oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı engellemek için hem hücre içerisinde hem de hücre membranında etkili olan çok sayıda koruma mekanizması geliştirmektedirler. Gerek radikallerin üretimini engelleyerek, gerekse oluşan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırarak etki gösteren bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1) Toplayıcı etki (scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme işlemidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

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

3) Onarıcı etki (repair etki): Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması etkisidir.

4) Zincir kırıcı etki (chain breaking etki): Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.¹⁴⁷

Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılırlar.

2.6.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar

Endoplazmik retikulum, mitokondrial elektron transport sistemi, araşidonik asit metabolizması veya siklooksijenaz (COX) sistemi, monosit ve makrofajlar, nötrofil, eozinofil gibi fagositik hücreler ve endotelyal hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz gibi oksidan enzimler ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır.¹⁴⁸

2.6.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen, hücrel savunma sisteminin önemli bir enzimidir. Sellüler bölmelerdeki süperoksid düzeylerini kontrol etmede önemli bir rol oynar. SOD aktivitesi yaş ilerledikçe artar ve hemen hemen bütün canlılarda bulunmaktadır. Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. Memelilerde üç tip SOD bulunmaktadır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn ihtiva eden

izomer (Cu-Zn SOD), extraselüler etki gösteren EC SOD ve mitokondride bulunan tetrametrik Mn ihtiva eden izomer (Mn-SOD)'dir. Demir ihtiva eden izomeri Fe-SOD ise sadece mikroorganizmalarda ve bazı bitkilerde bulunmaktadır. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dir.^{149, 150} Sitozolik Cu-Zn SOD siyanidle inhibe edilirken, mitokondrial Mn-SOD inhibe olmaz.¹³² Mn-SOD sitokinlerle ileri derecede indüklendiği gibi deprese de edilir, ancak oksidanlardan orta derecede etkilenir. EC-SOD ise intertisyel boşluklarda bulunur ve plazma, lenfler ve sinoviyal sıvıdaki majör SOD aktivitesini sağlayan enzimdir.^{151, 152} SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır.¹³² Süperoksit gibi oldukça saldırgan bir radikalın etkisini ortadan kaldıran SOD'un, canlılarda önemli roller üstlendiği ve yaşamsal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.¹⁵³ Serbest radikallerin oluşturduğu yıkıcı etkinin önlenmesinde, SOD enziminin katalaz enzimi ile birlikte incelenmesi gerektiği düşünülmektedir. Çünkü SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan hidrojen peroksit, oksijenin toksik türlerinden biridir ve katalaz tarafından birikimi önlenmektedir.¹⁵⁴

2.6.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan, tetrametrik, 4 selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. İntraselüler mesafede lipitleri peroksidasyonundan koruyan bu enzim böylelikle hücre yapısını ve fonksiyonunu korur.¹⁵⁵ Hidroperoksitlerin redükte olmasıyla meydana gelen okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile tekrar glutasyon (GSH)'a dönüşür. Eritrositlerde GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.¹⁵⁶

2.6.1.3. Glutasyon S-Transferaz (GST)

“Selenyuma bağlı olmayan GPx” olarak bilinen GST’lar, ilaçlar, karsinojenler, çevresel toksinler ve oksidatif stres ürünleri gibi endojen ve eksojen hidrofobik elektrofilik grupları içeren bileşikleri sülfidril grubu üzerinden konjuge etme yeteneğine sahip olan enzimlerdir. 1961 yılında tanımlanan bu enzimler üzerinde yapılan yoğun çalışmalar sonucu her geçen gün yeni izoenzim tipleri bulunmaktadır. GST’lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Detoksifikasyon yapmalarının yanında hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır.¹⁵⁷

2.6.1.4. Katalaz (CAT)

Katalaz, tüm canlı hücre çeşitlerinde farklı miktarlarda bulunan 4 tane hem grubuna sahip bir hemoproteindir. Oksijene maruz kalan hemen tüm organizmalarda peroksizomlarda bulunan bir enzimdir. Görevi, hidrojen peroksit ile etkin bir reaksiyona girerek hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya kataliz etmektir. Bir molekül CAT milyonlarca molekül hidrojen peroksiti parçalayabilir.¹⁵⁸

2.6.1.5. Glutasyon (GSH)

Glutasyon, γ -L-glutamil-L-sisteinil yapısında atipik bir tripeptiddir. Atipik olmasının nedeni sisteinin amin grubuyla yan zincirindeki karboksil grubu arasındaki γ bağıdır. Hücre redoks dengesinin sağlanması ve oksidatif strese karşı cevap verilmesinde temel role sahip bir tiyoldür.¹⁵⁹ Enzim olmayan endojen antioksidanlar sınıfında olan glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. GSH’daki sisteinin tiyol grubu reaktif oksijen bileşikleri gibi stabil olmayan molekülleri redkleyebilir. Bu durumda kendisi de reaktif hale gelir ve iki reaktif glutasyon birleşerek glutasyon dislfiti (GSSG) oluştururlar. GSSG daha sonra glutasyon redüktaz (GR) ile tekrar GSH’a dönüşür.¹⁶⁰ GSH yabancı bileşiklerin

detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar, eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini önlemede rol alır.¹²⁸ Ciddi oksidan stres altında hücrenin GSSG'yi GSH'a indirgeme özelliği azalır ve böylece GSSG hücrede akümüle olur. Artmış GSSG/GSH oranı oksidatif stresin göstergesidir. GSH, GPx enzimi katalizörlüğünde H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki gösterir ve H₂O₂'yi alyuvarlardan uzaklaştırır.¹²⁸

2.6.1. Eksojen (Sekonder) Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler. Vitamin E (α -tokoferol), β -karoten, askorbik asit (vitamin C) ve folik asit (folat) vitamin eksojen antioksidan grubundadırlar. Vitaminlerin bir bölümü biyokimyasal olayların düzenlenmesinde görev alırken A,C ve E vitaminleri serbest radikallerin hücrelerde meydana getirebileceği oksidatif hasarları önleyerek hücrelerin normal işlevlerini sürdürmelerini sağlayarak etki gösterirler. Hücrelerin dış yüzeyinde β -karoten nöbet tutarken, hücre dışından içeri girmek isteyen saldırganlara karşı savunmayı ise selenyum yardımıyla E vitamini üstlenmiştir. Hücre içerisindeki C vitamini serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırırken E vitamini ise lipitleri oksidatif hasardan korur.^{161, 162}

Vitaminlerin yanı sıra sekonder antioksidanlar arasında ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat) oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-C (vitamin E analogu), endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar, nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar, demir redoks döngüsü inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler (TNF ve IL-1), barbitüratlar ve demir şelatörleri sayılmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen toplam 30 adet ve ağırlıkları 200-215 gram arasında değişen Albino Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deney süresince, sıçanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Standart Sıçan Yemi) verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22 C⁰) barındırıldı ve beslendi. Çalışmalarımızın tüm aşamalarının Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunu tarafından 24.02.2012 tarih ve 2-26 nolu karar yazısı ile etik kurallara uygun olduğu onaylanmıştır.

3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve İlaçların Hazırlanışı

3.1.2.1. Kullanılan İlaçlar

Tablo 3.1. Kullanılan İlaçlar

Kullanılan İlaç	Firma/Yer
Parasetamol	Doğa İlaç Hammadde Ltd. şirketi, İstanbul
Amlodipin	Norvasc, 10 mg tablet
Tiyopental Sodyum	İE ULAGAY

3.1.2.2. İlaçların Hazırlanışı

Parasetamol: Çalışmada, 2 ml 1X'lik phosphate buffer saline (PBS) içinde %1'lik Karboksi Metil Selüloz (CMC) ile 2 g parasetamol çözülerek, hafif sıcaklıkta karıştırılarak hazırlandı. Oral yoldan gavaj yardımıyla verildi.

Amlodipin: 3 tablet 10 mg amlodipin 2 ml %0.9'luk NaCl çözeltisinde çözülerek hazırlandı. Uygun dozlarda gavaj yardımıyla oral yoldan verildi.

N-Asetil Sistein (NAC): Çalışmada, 600 mg tek tablet NAC, 2 ml % 0.9 luk NaCl çözeltisinde çözülerek hazırlandı. Uygun dozlarda gavaj yardımıyla oral yoldan verildi.

Tiyopental Sodyum: Çalışmada i.p. olarak ötenazi için 50 mg/kg olarak verildi.

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Tablo 3.2. Kullanılan alet ve cihazlar

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

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

Çalışmada, 5 adet hayvan grubu oluşturuldu. Her bir grupta 6 adet, toplam 30 adet sıçan kullanıldı. Deney planı, Tablo 3.1.'de verilmiştir. Deney öncesi tüm gruplar 24 saat aç bırakıldı.

Aç kalan hayvanlar aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine alındı:

Grup I: Kontrol grubu. 2 ml 1X PBS (%1'lik CMC içeren), oral gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup II: 2 g/kg dozunda 2 ml 1X PBS (%1'lik CMC içeren)'de hazırlanan parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup III: 10 mg/kg amlodipin oral yoldan verildikten 1 saat sonra 2 ml 1X PBS (%1'lik CMC içeren), oral gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup IV: 5 mg/kg amlodipin (2 ml %0.9 luk NaCl çözeltisinde hazırlanan) oral yoldan verildikten 1 saat sonrası 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup V: 10 mg/kg amlodipin oral yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi.

Çalışmada uygulanan bütün parasetamol dozları, ilgili literatüre göre ayarlanmıştır.^{163, 164} Parasetamol uygulamasından 4 saat sonra tüm gruptaki sıçanlara deney sonuna kadar, yeteri kadar (ad libitum) su ve yem verildi.

Tablo 3.3. Deney Planı

Gruplar	Hayvan Sayısı	Tedavi
I	6	Sağlıklı (2 ml PBS)
II	6	Parasetamol (2 g/kg)
III	6	Amlodipin (10 mg/kg)
IV	6	Amlodipin (5 mg/kg)+Parasetamol (2 g/kg)
V	6	Amlodipin (10 mg/kg)+Parasetamol (2 g/kg)

Parasetamolün tüm gruplara uygulanmasından 24 saat sonra yüksek doz tiopental (50 mg/kg) ile ötenazi uygulanarak deney sonlandırıldı. Tüm gruplardaki hayvanların böbrekleri ve kan örnekleri alındı. Alınan böbreğin bir kısmı biyokimyasal analiz için ayrılarak fosfat tamponuna konuldu ve -80°C dondurucuda muhafaza edildi. Geri kalan böbrek ise, histolojik çalışma için %4'lük nötral formaldehit çözeltisine konularak tespit edildi. Toplanan kanlar santrifüj edilerek serumları elde edildi ve serumlar -80°C dondurucuda muhafaza edildi.

3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar

3.2.2.1. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler

Sıçan dokuları -80°C'de saklandı. Her sıçanın 100 mg böbrek dokusu spesifik homojenat tamponunda (uygun bufferda) buz üzerinde ultra-turrax ile homojenize edildi. Daha sonra kitteki direktiflere göre santrifüj edildi. Biyokimyasal çalışmalar için her süpernatanttan SOD aktivitesi, MDA seviyeleri ve GSH seviyeleri sırasıyla sıçana spesifik dizayn edilmiş yüksek hassasiyetteki Cayman Chemical Superoxide Dismutase Assay Kit Item Number 706002, Cell Biolabs OxiSelect™ TBARS Assay Kit (MDA

Quantitation) STA-330 ve Cell Biolabs OxiSelect™ Total Glutathione (GSH) Assay Kit STA-312 ELISA kitleriyle her bir sıçan böbreği ikişer tekrarlamalı olarak ölçüldü. Ayrıca uygun tampon ile homojenize edilmiş tüm böbrek süpernatantlarında bütün datalar her mg protein için ort±standart sapma olarak gösterildi.

Protein tayini:

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

SOD enzim aktivite tayini

Kullanılan Reaktifler: 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 yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı
2. Sıvı azot altında dokularımız homejenize edildi.
3. 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 üstünde 1 dakika boyunca homojenize edildi.
4. Tüm numuneler işlem bitene kadar + 4 °C muhafaza edildi.
5. +4 °C 1,500x g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi.

Süpernatant kısmında ölçüm yapıldı

Çalışma 96 kuyucuklu platelerde gerçekleştirildi.

1. Örnek Kuyularına 20 µl örnek ve Standart'lardan eklendi.
2. 200 µl seyreltilmiş radikal detektör tüm kuyulara eklendi ve 10

dk. çalkalayıcıya (karıştırıcıya) konuldu.

3. Reaksiyonu başlatmak için 20 µl seyreltilmiş xantin oksidaz eklendi.

4. Birkaç saniye plate'in üstü kapalı şekilde çalkalayıcıda bekletildi.

Oda sıcaklığında 20 dk boyunca inkübe edildikten sonra 460 nm'de ELISA reader da okutuldu. Standart ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

Total Glutatyon (GSSG/GSH) tayini

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

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı.

2. Sıvı azot altında dokular homejenize edildi.

3. Sonra 1 ml MPA çözeltisi (5 gr MPA kristalleri 100 ml deiyonize suda çözülür) eklenerek ve Ultra Turrax homojenizatörde 1 dakika buzda homojenize edildi.

Deneyin yapılışı;

1. Homojenize numuneler 15 dakika + 4 derece 12000 Rpm de santrifüjlenip süpernatantları ölçüm için toplandı.

2. 96 kuyuluk plate 25 µl 1X glutatyon redüktaz herbir kuyuya eklendi.

3. 1X NADPH solüsyonundan 25 µl her kuyuya eklendi.

4. Hazırlanan GSH standartlarından veya örneklerden 190 µl her kuyuya eklendi.

Plate okuyucu kinetik ölçüm için ayarlandı ve 405 nm de okumaya ayarlandı. 1X kromojenden 50 µl eklenip ve karıştırıldı. Hızlı bir şekilde 10 dk boyunca 1 dk aralıklarla 405 nm de absorbans okundu. Standart ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı

Tiyobarbitürük asit reaktif maddeleri (TBARS) miktarının tayini

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

Deneyin Yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı.
2. Sıvı azot altında dokularımızı homejenize edildi.
3. Homojenize dokulardan 100'er mg tartılarak tüplere konuldu. Her tüpe hazırlanan 1X BHT in PBS solüsyonundan 1 ml eklendi.
4. Tüpler buz içine konularak homojenizatörde 30 sn homojenize edildi.
5. Homojenize dokular 10.000 g de 5 dk boyunca santrifüj edildi ve süpernatantları toplandı.

Çalışma 96 kuyucuklu platelerde yapıldı.

1. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatantları yeniden numaralandırılan başka tüplere 100 µl hacminde eklendi. Bunun yanında standartlarımız da ayrı tüplere 100 er µl olacak şekilde koyuldu.
2. Kristalize durumdaki SDS lysis solusyonunu çözdürdükten sonra her bir numunemize (standartlar da dahil) 100 er µl eklendi.
3. Oda sıcaklığında 5 dk. inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra ölçüm yapılacak her tüpe 250 µl TBA reagent eklendi.
4. Tüplerin ağzı kapatılıp 95 °C de 45 ila 60 dk inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrasında tüpler 5 dk buz üzerinde bekletildi.

6. Daha sonra tüm tüpler 3000 rpm de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatantı alındı.

7. 96 well plate'e numuneler yüklendi (her kuyuya 200 µl) ve 532 nm Abs de okutuldu. Standart ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.2.2.2. Serumda Yapılan Analizler

Antikoagülansız tüpe alınan kanlar, 4000 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve serumlar ayrıldı. Ayrılmış serum örnekleri eppendorf tüplerine aktarıldıktan sonra "Cobas C-501" oto analizörde analiz edilmek üzere cihaza yerleştirildi. BUN ve kreatinin seviyeleri cihaz tarafından otomatik olarak hesaplandı.

3.3. İstatistiksel Analiz

Deneylelerden elde edilen sonuçlar ortalama(ort)±standart sapma(ss) olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testinde post-hoc testlerinden "Duncan" tekniği kullanılarak belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Serum BUN ve kreatin bulguları

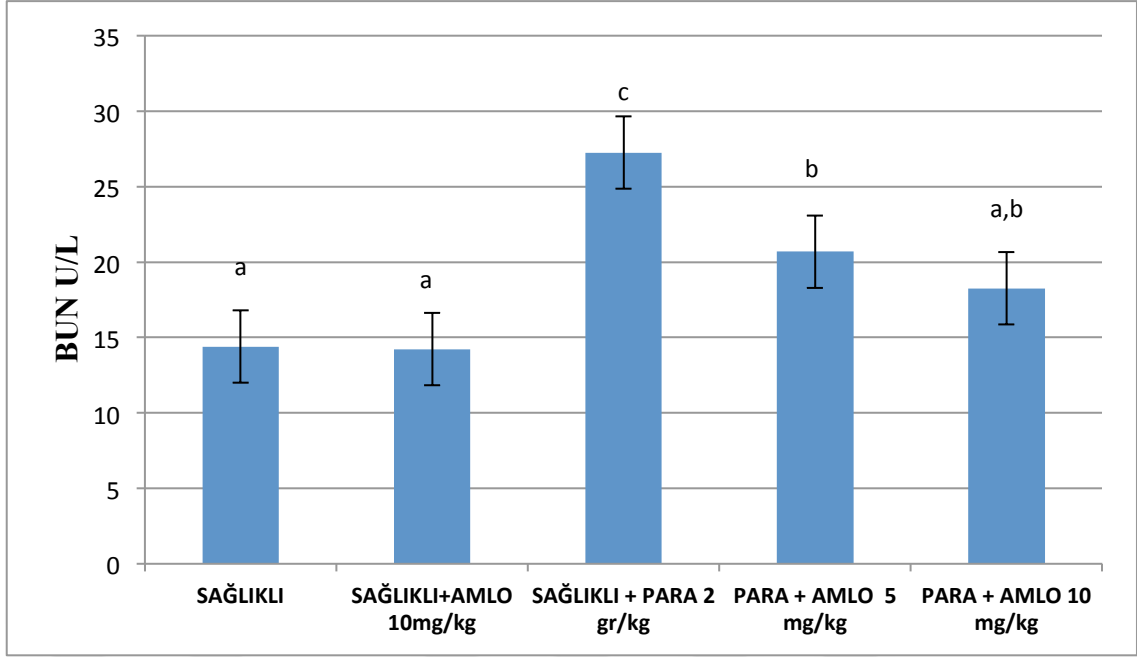
Tablo 4.1 te görüldüğü gibi intakt sıçanların serumlarındaki bun ve kreatin düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 14.4±3.05 U/L ve 0.25±0.09 U/L iken 2g/kg parasetamol verilmiş kontrol grubunda bu düzeyler sırasıyla 27.25±7.07 U/L ve 0.65±0.15 U/L olarak tespit edildi. Sadece amlodipin 10mg/kg verilen kontrol grubunda ise BUN ve kreatin düzeyleri sırasıyla 14.22±2.49 U/L ve 0.21±0.13 U/L olarak belirlendi. Parasetamol+amlodipin 5 mg/kg verilen sıçanlardaki BUN ve kreatin düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 20.69±4.26 U/L ve 0.52±0.06 U/L olarak ölçüldü. Parasetamol+amlodipin 10 mg/kg verilen sıçanlardaki BUN ve kreatin düzeyleri sırasıyla 18.25±7.21 U/L ve 0.4±0.12 U/L olarak ölçüldü.

Tablo 4.1. Tüm Grupların Ortalama BUN ve Kreatin Düzeyleri

Gruplar	BUN U/L	Kreatin U/L
SAĞLIKLI	14.4 ± 3.05 ^a	0.25 ± 0.09 ^a
SAĞLIKLI+AMLO 10mg/kg	14.22 ± 2.49 ^a	0.21 ± 0.13 ^a
SAĞLIKLI+PARA 2 gr/kg	27.25 ± 7.07 ^c	0.65 ± 0.15 ^d
PARA+AMLO 5 mg/kg	20.69 ± 4.26 ^b	0.52 ± 0.06 ^c
PARA+AMLO 10 mg/kg	18.25 ± 7.21 ^{a,b}	0.4 ± 0.12 ^b

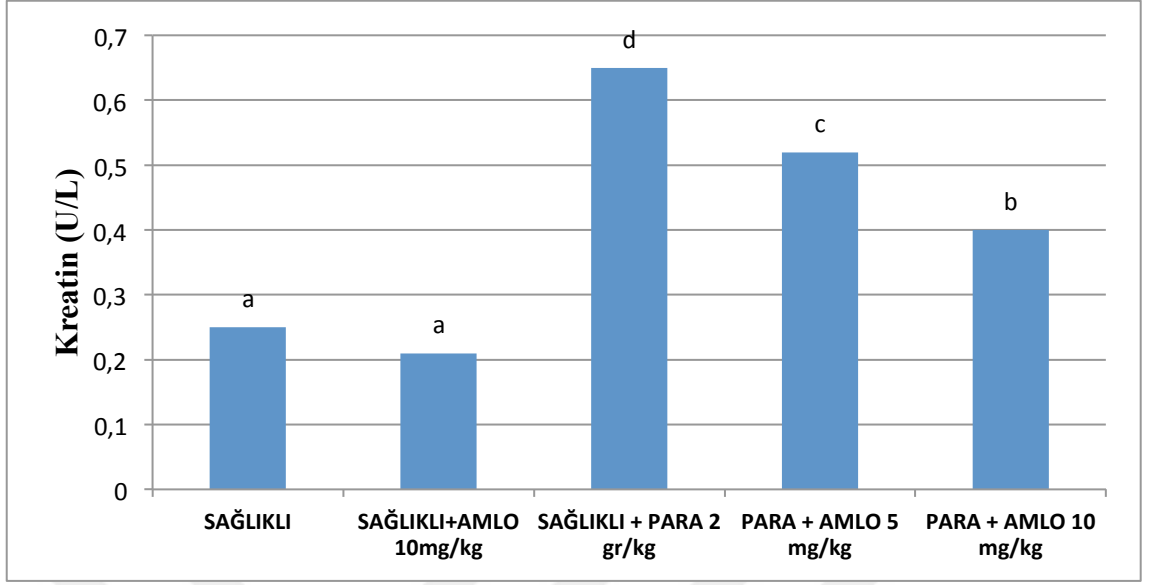
AMLO:Amlodipin, PARA: Parasetamol. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Duncan tekniği kullanılarak yapıldı. P<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: ORT ±SD)

Parasetamol grubunda BUN değerinin önemli derecede yüksek olduğu ve diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi. Para+AMLO5 grubunda BUN değerinin parasetamol grubuna göre düşük olduğu ve Para+AMLO10 mg/kg ve AMLO10 mg/kg gruplarıyla yaklaşık olarak aynı BUN değerlerine sahip olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.1. Gruplara göre serum BUN düzeylerinin karşılaştırılması
Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. ($P < 0.05$).
AMLO:Amlodipin, PARA: Parasetamol

Kreatin düzeylerine bakıldığında parasetamol grubunda bu değer oldukça yükselmiş olduğu ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi. Para+AMLO 5mg/kg, Para+AMLO 10 mg/kg ve AMLO 10 mg/kg grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da kreatin değerlerindeki en iyi düzelme AMLO 10 mg/kg grubunda gözlemlendi.



Şekil 4.2. Gruplara göre serum kreatin düzeylerinin karşılaştırılması
Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. (P<0.05).
AMLO:Amlodipin, PARA: Parasetamol

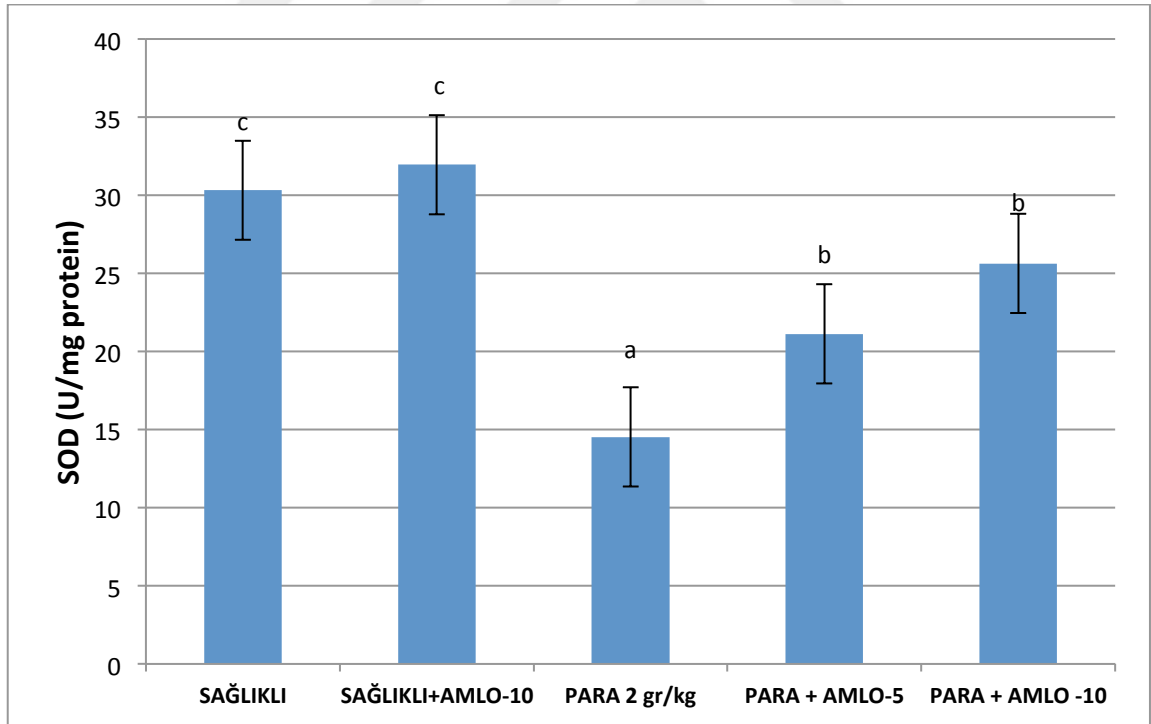
4.2. Böbrek SOD, GSH ve MDA bulguları

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi intakt sıçanların böbrek dokusunda SOD, GSH ve MDA düzeylerinin ortalamaları sırasıyla 30.33 ± 2.48 U/mg protein, 3.21 ± 0.57 nmol/mg protein ve 1.42 ± 0.39 nmol/mg protein iken 2 g/kg parasetamol verilmiş kontrol grubunda bu düzeyler sırasıyla 14.52 ± 3.94 U/mg protein, 1.21 ± 0.30 nmol/mg protein ve 3.4 ± 0.86 nmol/mg protein olarak tespit edildi. AMLO 10 grubunda bu değerler sırasıyla 31.96 ± 4.40 U/mg protein, 3.26 ± 0.58 nmol/mg protein ve 1.47 ± 0.32 nmol/mg protein olarak ölçüldü. PARA+AMLO 5 mg/kg grubunda SOD, GSH ve MDA seviyeleri sırasıyla 21.12 ± 4.72 U/mg protein, 2.26 ± 0.54 nmol/mg protein ve 2.54 ± 0.43 nmol/mg protein olarak, Para+AMLO 10 mg/kg grubunda bu değerler sırasıyla 25.63 ± 5.56 U/mg protein, 26 ± 0.73 nmol/mg protein ve 2.17 ± 0.33 nmol/mg protein olarak tespit edildi.

Tablo 4.2. Tüm Grupların Ortalama SOD, GSH ve MDA Düzeyleri

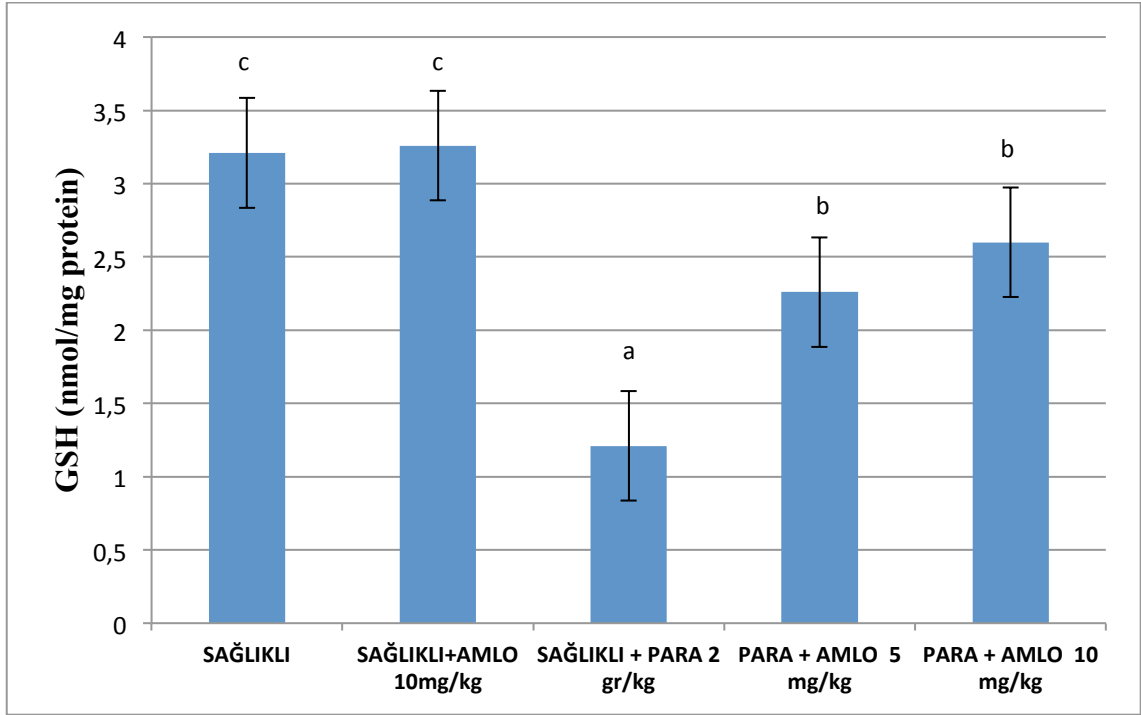
Gruplar	SOD		GSH		MDA	
	(U/mg protein)		(nmol/mg protein)		(nmol/mg protein)	
SAĞLIKLI	30.33	± 2.48 ^c	3.21	± 0.57 ^c	1.42	± 0.39 ^a
SAĞLIKLI+AMLO 10mg/kg	31.96	± 4.40 ^c	3.26	± 0.58 ^c	1.47	± 0.32 ^a
SAĞLIKLI+PARA 2 g/kg	14.52	± 3.94 ^a	1.21	± 0.30 ^a	3.4	± 0.86 ^c
PARA+AMLO 5 mg/kg	21.12	± 4.72 ^b	2.26	± 0.54 ^b	2.54	± 0.43 ^b
PARA+AMLO 10 mg/kg	25.63	± 5.56 ^b	2.6	± 0.73 ^b	2.17	± 0.33 ^b

Parasetamol grubunda SOD değerinin diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ve bu değer önemli derecede düşmüş olduğu gözlemlendi. PARA+AMLO 5 mg/kg ve PARA+AMLO 10 mg/kg grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.



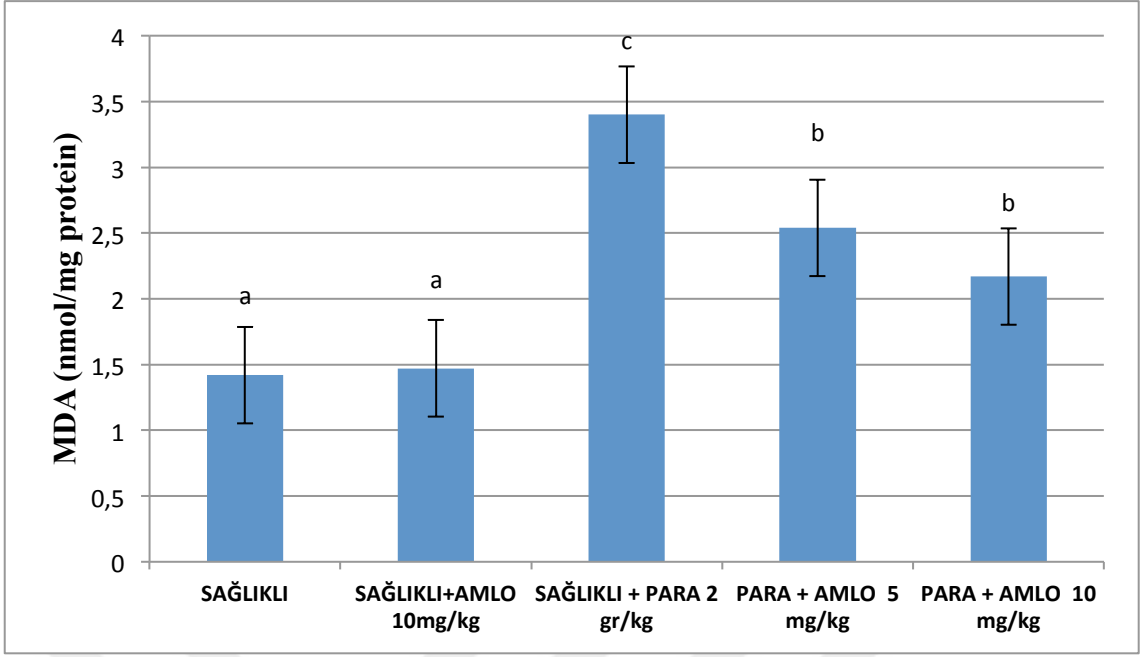
Şekil 4.3. Gruplara göre böbrek dokusundaki SOD düzeylerinin karşılaştırılması. Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. (P<0.05).***AMLO:Amlodipin, PARA: Parasetamol

Parasetamol grubunda ölçülen GSH değerleri diğer gruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşüktü. Amlodipin'in iki farklı dozu arasında GSH seviyelerini yükseltme açısından anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Bütün tedavi gruplarında GSH seviyesinde gözlenen yükseliş paralellik göstermekteydi. Anlamlı bir şekilde AMLO uygulamasının GSH düzeylerini yükseltmede oldukça etkili olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.4. Gruplara göre böbrek dokusundaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması. Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. ($P<0.05$).***AMLO:Amlodipin, PARA: Parasetamol

MDA seviyesinin parasetamol grubunda anlamlı olarak yükseldiği gözlemlendi. Para+ Amlo 5 ve Para+ Amlo 10 tedavi gruplarında MDA düzeylerinin anlamlı olarak iyileşme gösterdiği gözlemlendi. MDA seviyesi açısından en fazla iyileşme AMLO 10 mg/kg grubuna aitti.



Şekil 4.5. Gruplara göre böbrek dokusundaki MDA düzeylerinin karşılaştırılması. Sütunlardaki farklı harfler Duncan testine göre farkın önemli olduğunu ifade etmektedir. ($P < 0.05$).***AMLO:Amlodipin, PARA: Parasetamol

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada sıçan böbreklerinde deneysel olarak oluşturulan parasetamol toksisitesinde L tipi kalsiyum kanal blokerlerinden dihidropiridin tüveri amlodipinin etkileri gösterildi. Bu amaçla toksisitenin rutin parametleri olan BUN ve kreatin değerleri ile oksidatif stres ve antioksidan sistem parametreleri olan SOD, GSH ve MDA değerleri incelendi.

Parasetamol yaygın bir şekilde kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Parasetamol terapötik dozda alındığında, %90-95'i karaciğerde hepatositlerin düz endoplazmik retikulumlarında konjugasyona uğrayarak glukronik asit (~%60), sülfürik asit (~%35), sistein (~%3) ve küçük miktarda hidroksilli ve deasetilli metabolitlerine dönüşerek, %2-3'lük kısmı ise idrarla direkt atılır.¹⁶⁵ Parasetamolün küçük bir kısmı ise sitokrom-p aracılı N- hidroksilasyonla n-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI) 'a dönüşür. NAPQI reaktif bir ara üründür, hepatik glutasyon tarafından böbrekten elimine edilir ve toksik olmayan asetaminofen-merkapturat bileşiğine detoksifiye olur. Parasetamol aşırı dozda alınımında, öncelikle karaciğerde metabolize olduğu için ciddi hepatotoksisiteye sebep olmaktadır. Böbrekler ise karaciğer hasarının ileri evrelerinde veya nadiren karaciğerde hasar olmadan tek başına etkilenmektedir.¹⁶⁶

Böbrekteki hasar akut tubuler nekroz şeklinde görülmektedir ve parasetamol doz aşımına maruz kalan hastaların yaklaşık %1-2'sinde renal yetmezlik gelişebileceği saptanmıştır.¹⁶⁷ Böbrekte parasetamolle oluşan toksisitenin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Aşırı doz alınımında glutasyon ve sulfasyon reaksiyonlarının doygunluğa erişmesi sonucu sitokrom P-450 enzim sistemi devreye girer. Böbrekte biyotransformasyonda CYP2E1 izoenzimi görevlidir. Prostaglandin sentetaz ve N-deasetilaz enzimleri ve sitokrom P-450 enzim sistemlerinin etkisi ile de NAPQI ve p-

aminofenol gibi toksik metabolitler oluşur.⁵ Oluşan bu metabolitlerin hepsi detoksifiye edilemeyerek, hüresel proteinlerdeki sülfidril ve glutatyon ile konjugatlar oluşturur. Bu konjugatların kendisinin veya sebep olduğu glutatyon tükenmesinin oksidatif strese neden olduğu düşünülmektedir.¹⁶⁸ Bu durumun kaspazların ve lizozomal enzimlerin aktivasyonuna yol açtığı, apoptozisi veya programlı hücre ölümünü başlattığı sonuç olarak da hemostazın bozulup, dokuda hasar oluşturarak, böbrek fonksiyonlarında bozulmaya neden olduğu düşünülmektedir.

Klinikte böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede, hastalardan alınan kan örneklerinde BUN ve kreatinin düzeyi ölçümü rutin hale gelmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda da böbrek fonksiyonlarını değerlendirirken hayvan serumlarından BUN ve kreatinin düzeyleri bakılmış ve oluşturulan nefrotoksisite modeli değerlendirilip, verilen ilaçların böbrek fonksiyonlarına olan etkisi incelenmiştir.^{169, 170}

Naguib ve ark.¹⁷¹ yaptıkları bir çalışmada parasetamole bağlı gelişen hepatorenal hasarda *Pleurotus ostreatus* adlı mantar çeşidini incelemişlerdir. Parasetamol verilen grupta serum BUN ve kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Yine başka bir çalışmada Das ve ark.¹⁷² farelerde parasetamole bağlı nefrotoksisitede taurinin etkisini incelemişlerdir. Oluşan oksidatif hasarın böbrek fonksiyonları üzerindeki etkilerini değerlendirmede BUN ve kreatinin düzeylerini esas almış ve bu değerlerin yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Bizde çalışmamızda böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede serum BUN ve kreatinin değerlerini kullandık. Parasetamol verdiğimiz gruptan 24 saat sonra aldığımız serum BUN ve kreatinin düzeylerinde sağlıklı grupta kıyasladığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme gözlemledik. Buna dayanarak toksisite modelimizin Sağlıklı grupta kıyaslama yaparsak oluştuğunu söyleyebiliriz. Tedavi olarak kullandığımız amlodipin uygulamasının böbrek fonksiyonlarını bu iki değer üzerinden iyileştirdiğini görmekteyiz.

Li ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada amlodipin ve nifedipinin sıçanlarda gentamisinle indüklenen böbrek hasarı üzerindeki etkileri incelenmiş ve her iki ilacın da gentamisine bağlı hasarı azalttığı gösterilmiştir. Şöyleki sıçanlarda idrarda artmış olan protein ve N-asetil-Beta-D-glukozaminidaz seviyeleri ile serumda artmış olan kreatin ve BUN miktarları bu ilaçlar tarafından düşürülmüştür. Çalışmada yazarlar hem oksidatif stress parametrelerini hem de apoptoz yollarını incelemişlerdir.¹⁷³ Albayrak ve arkadaşları tarafından yapılan bir böbrek taşı modelinde amlodipinin faydalı etkiler oluşturmuş olması renal yetmezlik ve hasarda da koruyucu etkilerini desteklemektedir.¹⁰ Yine amlodipinin sıçan mesangial hücrelerinde Smad6 ve Smad7 upregülasyonu ile adriamisin toksisitesini engellemesi çalışmamızın bulguları ile örtüşmekte ve amlodipinin böbrek dokusu üzerindeki koruyucu etkisini desteklemektedir.¹⁷⁴

Parasetamolle indüklenen böbrek hasarında CYP-450 enzim sistemlerinin etkisi ile oluşan NAPQI sorumlu tutulmaktadır. Bu elektrofil ara ürünün detoksifikasyonu sırasında hücre proteinlerdeki sülfidril ve glutatyon parçaları ile farklı konjugatlar oluşur.⁵ Bu konjugatların oksidatif hasarı arttırdığı ve bunun toksisite mekanizmalarından biri olabileceği bildirilmiştir.¹⁶⁸ Oksidatif stresteki artmaya paralel olarak antioksidan savunma sistemlerinin tüketilmesi de parasetamolle indüklenen böbrek hasarında önemlidir. Bizim amlodipin çalışmamızın ana nedeni de daha önceden bildirilen güçlü antioksidan özelliğidir. Bu nedenle çalışmamızda antioksidan parametreler olarak SOD ve GSH, oksidatif parametre olarak ise lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA incelenmiştir.

SOD, hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerinden korurken, GSH serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Abdul Hamid ve ark.¹⁷⁵ parasetamole bağlı nefrotoksisitede Zingiber zerumbet

ekstresinin rolünü araştırmışlar ve oluşan oksidatif hasarı SOD, GSH dzeyelerinin düşüşüyle değerlendirmişlerdir. Biz de çalışmamızda oksidatif hasarı değerlendirmede kullandığımız SOD aktivitesi ve GSH dzeyelerini karşılaştırdığımızda Parasetamol grubunda sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir dş gözlemledik. Tedavi grubumuz olan PARA+Amlodipin 5 ve 10 mg/kg gruplarının parasetamol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme gösterdiğini görmekteyiz. Antioksidan parametrelerimizi gözönüne alarak amlodipin uygulamasının özellikle 10 mg/kg dozunda oksidatif hasarı anlamlı azalttığını söyleyebiliriz.

Amlodipin ve diğer dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri güçlü antioksidan etkileri ile bilinirler.¹⁷⁶ Bizim çalışmamızla alakalı olarak amlodipinin daha önceki alışmalardada böbrek dokusunda indirgenmiş glutasyon miktarını artırdığı ve superoksid dismutaz ve glutasyon transferaz enzimlerinin aktivitesini yükselttiği gösterilmiştir.¹⁷³ Başka bir çalışmada doksurobisin ile indüklenen böbrek hasarı üzerinde amlodipin, nifedipin ve nitrendipinin koruyucu etkileri incelenmiş ve sadece amlodipin etkili bulunmuştur. Çalışmada 5 mk/kg dozda verilen Amlodipin BUN ve kreatin dzeyelerini düzeltmesinin yanısıra GSH, SOD ve GST değerlerini de anlamlı Şekilde yükseltmiştir.¹⁷⁷ Bu alışmalar ve bizim bulgularımız beraber değerlendirildiğinde amlodipinin böbrek hasarını engellemesinde SOD ve GSH gibi antioksidan parametreleri yükseltmesinin katkısı olabileceği açıkça görülmektedir.

Süperoksit radikali ve hidroksil radikali sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. MDA kanda ve idrarda bulunup, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir.¹⁷⁸ Bu nedenle deneysel çalışmalarda kullanılır. Aycan ve ark.¹⁷⁹ yaptıkları bir çalışmada parasetamolle oluşan nefrotoksisitede timokinonun etkisini araştırmışlardır. Ölçülen MDA değerleri

sonucunda tedavi grubunda lipid peroksidasyonunun azaldığını gözlemlemiştirlerdir. Biz de çalışmamız sonucunda parasetamol grubunda MDA değerlerinin sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığını gözlemledik. PARA+AMLODİPİN 5 ve 10 mg/kg gruplarında, MDA düzeyinin sağlıklı grubun değerleri ile yakın düzeyde olduğunu. PARA+AMLO 10 mg/kg grubunda da MDA düzeyleri göz önüne alınarak lipid peroksidasyonunu azalttığını ve neredeyse sağlıklı düzeye geriletmediğini söyleyebiliriz.

Li ve ark.¹⁷³ tarafından sıçanlarda gentamisinle indüklenen böbrek hasarı modelinde amlodipinin etkilerinin araştırıldığı çalışmada da amlodipinin renal tubular hasarı önlemede böbrek dokusunda MDA miktarını azaltmasının katkısı gösterilmiştir. Yine doksuobisinle indüklenen böbrek toksitesinde amlodipin uygulamasının böbrek MDA seviyelerini düşürmüş olması amlodipinin antioksidan etkisini ve bu etkinin böbrekler üzerinde koruyucu etkiye katkısını desteklemektedir.¹⁷⁷

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada amlodipinin parasetamole bağı böbrek hasarını azalttığını ve bu azalmada oksidatif stresi azaltıp antioksidan sistemleri desteklemesinin aracılık ettiğini söyleyebiliriz.

Bu bulgu özellikle parasetamolle indüklenen böbrek toksisitesinin acil tedavisinde amlodipin kullanımını mevcut tedavilere ek bir alternatif olarak düşündürmektedir. Ancak mevcut etki mekanizmasının belirlenmesi için daha detaylı deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

1. Lewis RK, Paloucek FP. Assessment and treatment of acetaminophen overdose. *Clinical pharmacy*, 1991, 10: 765-774.
2. Spooner JB, Harvey JG. The history and usage of paracetamol. *The Journal of international medical research*, 1976, 4: 1-6.
3. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 10th Baskı. New York, McGraw Hill Companies, 2007: 591-592.
4. Davidson DG, Eastham WN. Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. *Br Med J*, 1966, 2: 497-499.
5. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Crit Rev Toxicol*, 2001, 31: 55-138.
6. Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Mol Pharmacol*, 1980, 18: 536-542.
7. Kayaalp O. *Akılci Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 13 Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2012: 868-883.
8. Schrier RW, Arnold PE, Van Putten VJ, Burke TJ. Cellular calcium in ischemic acute renal failure: role of calcium entry blockers. *Kidney Int*, 1987, 32: 313-321.
9. Suleyman H, Halici Z, Hacimuftuoglu A, Gocer F. Role of adrenal gland hormones in antiinflammatory effect of calcium channel blockers. *Pharmacol Rep*, 2006, 58: 692-699.
10. Albayrak A, Bayir Y, Halici Z, Karakus E, Oral A, Keles MS, Colak S, Zipak T, Dorman E, Uludag K, Yayla N, Gulcan E. The biochemical and histopathological

investigation of amlodipine in ethylene glycol-induced urolithiasis rat model. *Ren Fail*, 2013, 35: 126-131.

11. Coskun AK, Gunal A, Halici Z, Oral A, Seyrek M, Bayir Y, Kilic C, Yigit T, Ozer T, Uzar AI. The effects of amlodipine on the biochemical and histopathological changes in the rabbit ileum subjected to ischemia-reperfusion. *Eurasian J Med*, 2011, 43: 33-38.

12. Halici Z, Karaca M, Keles ON, Borekci B, Odabasoglu F, Suleyman H, Cadirci E, Bayir Y, Unal B. Protective effects of amlodipine on ischemia-reperfusion injury of rat ovary: biochemical and histopathologic evaluation. *Fertil Steril*, 2008, 90: 2408-2415.

13. Esener ZK. *Klinik Anestezi Genişletilmiş*. 3. Baskı. İstanbul-Türkiye, Logos Yayıncılık, 2004.

14. Miller RD. *Anesthesia*. Second Baskı. Churchill Livingstone, 1986.

15. Barash, GP, Bruce FC, Stoelding R. *Klinik Anestezi El Kitabı*. 3. Baskı. İstanbul-Türkiye, Logos Yayıncılık, 1989: 129-134.

16. Morgan G, Mikhail M, Murray M, Larson C. *Clinical Anesthesiology*. 3rd Baskı. Lange, 2001.

17. Mazze RI. The Safety of Sevoflurane in Humans. *Anesthesiology*, 1992, 77: 1062-1063.

18. Kandel L, Laster MJ, Eger EI, Kerschmann RL, Martin J. Nephrotoxicity in Rats Undergoing a One-Hour Exposure to Compound-A. *Anesthesia and Analgesia*, 1995, 81: 559-563.

19. Morgan G, Mikhail, MS., Murray, MJ., Larson, CP. *Clinical Anesthesiology*. 3rd Baskı. Lange, 2001.

20. Kayaalp S.O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2. Cilt.* 8. Baskı. Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., 1998: 1040-1042.
21. Guyton AC., Hall JE. *Textbook of medical physiology.* Baskı. 1996: 883-886.
22. Blantz RC. Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function. *Am J Kidney Dis*, 1996, 28: S3-6.
23. Bray GP, Harrison PM, O'Grady JG, Tredger JM, Williams R. Long-term anticonvulsant therapy worsens outcome in paracetamol-induced fulminant hepatic failure. *Hum Exp Toxicol*, 1992, 11: 265-270.
24. Hu JJ, Lee MJ, Vapiwala M, Reuhl K, Thomas PE, Yang CS. Sex-related differences in mouse renal metabolism and toxicity of acetaminophen. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1993, 122: 16-26.
25. Mugford CA, Tarloff JB. The contribution of oxidation and deacetylation to acetaminophen nephrotoxicity in female Sprague-Dawley rats. *Toxicol Lett*, 1997, 93: 15-22.
26. Bjorck S, Svalander CT, Aurell M. Acute renal failure after analgesic drugs including paracetamol (acetaminophen). *Nephron*, 1988, 49: 45-53.
27. Cobden I, Record CO, Ward MK, Kerr DN. Paracetamol-induced acute renal failure in the absence of fulminant liver damage. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1982, 284: 21-22.
28. von Mach MA, Hermanns-Clausen M, Koch I, Hengstler JG, Lauterbach M, Kaes J, Weilemann LS. Experiences of a poison center network with renal insufficiency in acetaminophen overdose: an analysis of 17 cases. *Clin Toxicol (Phila)*, 2005, 43: 31-37.
29. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem*, 1990, 36: 1440-1443.

30. Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev*, 2000, 80: 1107-1213.
31. Set T, Şahin EM. Birinci Basamak Hekimi İçin Böbrek Fonksiyon Testleri. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi (STED)*, 2003 12: 344.
32. Burke A, Smyth EM, Fitzgerald GA. Analgesic-antipyretic agents: pharmacotherapy of gout. İçinde: Brunton LL, Lazo JS, Parker K (editörler). *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Baskı. New York, McGraw-Hill, 2006: 671-716.
33. 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.
34. HN.Ber M. Ueber eine neue Darstellungsmethode der Acetylamidophenole. . *Deutsche Chemische Gesellschaft*, 1878, 11: 232-233.
35. 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.
36. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1948, 94: 29-38.
37. Verschueren K. *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*. 3rd Baskı. New York, Van Nostrand Reinhold Co, 1996: 1444.
38. Lide DR. *Handbook of Chemistry and Physics*. 78th Baskı. Boca, Raton, CRC Press, 1997: 3-4.
39. Fairbrother JE. Acetaminophen. İçinde: Florey K (editör). *Analytical Profiles of Drug Substances*, New York and London, Academic Press, 1974: 1-109.
40. Clissold SP. Paracetamol and phenacetin. *Drugs*, 1986, 32 Suppl 4: 46-59.

41. 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.
42. 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.
43. 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.
44. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 12. Baskı. Ankara.
45. Ouellet M, Percival MD. Mechanism of acetaminophen inhibition of cyclooxygenase isoforms. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2001, 387: 273-280.
46. 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.
47. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, Vyas SN, FitzGerald GA. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *The New England Journal of Medicine*, 2001, 345: 1809-1817.
48. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB Journal*, 2004, 18: 790-804.

49. Kayaalp O. Non Steroidal antiinflamatuvar ilaçlar: para-aminofenol türevleri ;Parasetamol. İçinde:*Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 12. Baskı. Baskı. 849-850.
50. Katzung:.. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout: . İçinde:Bertram G. Katzung SBM, Anthony J. Trevor (editör). *Basic & Clinical Pharmacology*, 11 edition Baskı. McGraw-Hill Medical, 2009.
51. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinical Liver Disease*, 2007, 11: 525-548, vi.
52. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187: 211-217.
53. 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*, 1984, 81: 1327-1331.
54. Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II. Role of covalent binding in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187: 195-202.
55. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology*, 2001, 31: 55-138.
56. 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.

57. 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.
58. Barile AF. *Clinical Toxicology Principles and Mechanisms*. Baskı. Boca Raton, Florida, CRC Press LLC, 2004.
59. Gillman G. Analgesic-antipyretic agents; pharmacotherapy of gout. İçinde: Anne Burke ES, and Garret A. FitzGerald (editör). *Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Baskı. 2006.
60. Goldfrank R. Toxicologic Emergencies. İçinde: 4th International Edition Baskı. East Norwalk, Appleton and Lange, 1990: 183-185: 251-257.
61. Burcham PC, Harman AW. Acetaminophen toxicity results in site-specific mitochondrial damage in isolated mouse hepatocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266: 5049-5054.
62. Scherlock S DJ. *Disease of the Liver and Biliary System*. 10th Baskı. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1997.
63. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*, 1989, 97: 439-445.
64. 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.
65. 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 Surgery*, 1999, 5: 29-34.

66. Polson J, Lee WM. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology*, 2005, 41: 1179-1197.
67. Fontana RJ. Acute liver failure including acetaminophen overdose. *Medical Clinics of North America*, 2008, 92: 761-794, viii.
68. Korman JD, Volenberg I, Balko J, Webster J, Schiodt FV, Squires RH, Jr., Fontana RJ, Lee WM, Schilsky ML. Screening for Wilson disease in acute liver failure: a comparison of currently available diagnostic tests. *Hepatology*, 2008, 48: 1167-1174.
69. Castro MA, Fassett MJ, Reynolds TB, Shaw KJ, Goodwin TM. Reversible peripartum liver failure: a new perspective on the diagnosis, treatment, and cause of acute fatty liver of pregnancy, based on 28 consecutive cases. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1999, 181: 389-395.
70. Makin AJ, Williams R. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: predisposing factors and treatments. *Advances in Internal Medicine*, 1997, 42: 453-483.
71. Ring-Larsen H, Palazzo U. Renal failure in fulminant hepatic failure and terminal cirrhosis: a comparison between incidence, types, and prognosis. *Gut*, 1981, 22: 585-591.
72. Black M. Acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology*, 1980, 78: 382-392.
73. Fontana RJ. Acute liver failure. İçinde: Feldman M, Friedman LS (editörler). *Sleisenger and Fortran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, and management.*, 8. Baskı. Philadelphia: Saunders, 2006.
74. Blantz RC. Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function. *American Journal of Kidney Diseases*, 1996, 28: S3-6.
75. 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.

76. Hu JJ, Lee MJ, Vapiwala M, Reuhl K, Thomas PE, Yang CS. Sex-related differences in mouse renal metabolism and toxicity of acetaminophen. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1993, 122: 16-26.
77. Mugford CA, Tarloff JB. The contribution of oxidation and deacetylation to acetaminophen nephrotoxicity in female Sprague-Dawley rats. *Toxicology Letters*, 1997, 93: 15-22.
78. Cobden I, Record CO, Ward MK, Kerr DN. Paracetamol-induced acute renal failure in the absence of fulminant liver damage. *British Medical Journal*, 1982, 284: 21-22.
79. von Mach MA, Hermanns-Clausen M, Koch I, Hengstler JG, Lauterbach M, Kaes J, Weilemann LS. Experiences of a poison center network with renal insufficiency in acetaminophen overdose: an analysis of 17 cases. *Clinical Toxicology (Phila)*, 2005, 43: 31-37.
80. Laskin DL, Gardner CR, Price VF, Jollow DJ. Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*, 1995, 21: 1045-1050.
81. Salgia AD, Kosnik SD. When acetaminophen use becomes toxic. Treating acute accidental and intentional overdose. *Postgraduate Medical Journal*, 1999, 105: 81-84, 87, 90.
82. Schilling A, Corey R, Leonard M, Eghtesad B. Acetaminophen: old drug, new warnings. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 2010, 77: 19-27.
83. Chun LJ, Tong MJ, Busuttill RW, Hiatt JR. Acetaminophen hepatotoxicity and acute liver failure. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2009, 43: 342-349.
84. Heard KJ. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. *The New England Journal of Medicine*, 2008, 359: 285-292.

85. Jones AF, Harvey JM, Vale JA. Hypophosphataemia and phosphaturia in paracetamol poisoning. *Lancet*, 1989, 2: 608-609.
86. Rumack BH, Matthew H. Acetaminophen poisoning and toxicity. *Pediatrics*, 1975, 55: 871-876.
87. Brok J, Buckley N, Gluud C. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2006: CD003328.
88. 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.
89. Hung O, Nelson LS. Acetaminophen. . İçinde:Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski S (editörler). *Emergency Medicine A Comprehensive Study Guide*, 4. Baskı. ABD, Mc Graw Hill 2000: 1125-1136.
90. Oliver L. Acetaminophen İçinde:Judith E, Tintinalli JE, Gabor D, Kelen J, Stapczynski S (editörler). *Emergency Medicine : a comprehensive study guide.* , 6. Baskı. McGraw-Hill, 2004: 1088-1094
91. Cimetidine as adjunctive treatment for acetaminophen overdose. *Human & Experimental Toxicology*, Mar.
92. Prescott LF, Park J, Ballantyne A, Adriaenssens P, Proudfoot AT. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet*, 1977, 2: 432-434.
93. Prescott LF MH. Cysteamine for paracetamol overdosage. *Lancet*, 1974, 1: 998.
94. Flanagan RJ, Meredith TJ. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *American Journal of Medicine*, 1991, 91: 131S-139S.
95. Rolband GC, Marcuard SP. Cimetidine in the treatment of acetaminophen overdose. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 1991, 13: 79-82.

96. Bernard GR. N-acetylcysteine in experimental and clinical acute lung injury. *American Journal of Medicine*, 1991, 91: 54S-59S.
97. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *American Journal of Medicine*, 1991, 91: 31S-38S.
98. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current Opinion in Pharmacology*, 2007, 7: 355-359.
99. De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Balansky RM, Noonan D, Albini A. Multiple points of intervention in the prevention of cancer and other mutation-related diseases. *Mutation Research*, 2001, 480-481: 9-22.
100. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Alfieri O, Pardini A, Marzollo P, Visioli O. Oxygen free radicals and myocardial damage: protective role of thiol-containing agents. *American Journal of Medicine*, 1991, 91: 95S-105S.
101. 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.
102. Marzullo L. An update of N-acetylcysteine treatment for acute acetaminophen toxicity in children. *Current Opinion in Pediatrics*, 2005, 17: 239-245.
103. Hendrickson RG. Acetaminophen İçinde: Flomenbaum NE, Goldfrank LR, Hoffman RS (editörler). *Toxicological Emergency* 8th Baskı. New York, McGraw-Hill, 2006: 656-659
104. Prescott LF. Treatment of severe acetaminophen poisoning with intravenous acetylcysteine. *Archives of Internal Medicine*, 1981, 141: 386-389.
105. Prescott LF, Illingworth RN, Critchley JA, Stewart MJ, Adam RD, Proudfoot AT. Intravenous N-acetylcysteine: the treatment of choice for paracetamol poisoning. *British Medical Journal*, 1979, 2: 1097-1100.

106. Kanter MZ. Comparison of oral and i.v. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2006, 63: 1821-1827.
107. Utah Poison Control Center,. Acetylcysteine For Acetaminophen Overdose, Baski, 2005.
108. Brok J, Buckley N, Glud C. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006: CD003328.
109. O'Grady JG. Paracetamol-induced acute liver failure: prevention and management. *Journal of Hepatology*, 1997, 26 Suppl 1: 41-46.
110. Borgstrom L, Kagedal B, Paulsen O. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 1986, 31: 217-222.
111. 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.
112. Dargan PI, Jones AL. Management of paracetamol poisoning. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2003, 24: 154-157.
113. 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.
114. Spiller HA, Krenzelok EP, Grande GA, Safir EF, Diamond JJ. A prospective evaluation of the effect of activated charcoal before oral N-acetylcysteine in acetaminophen overdose. *Annals of Emergency Medicine*, 1994, 23: 519-523.
115. Spiller HA, Sawyer TS. Impact of activated charcoal after acute acetaminophen overdoses treated with N-acetylcysteine. *Journal of Emergency Medicine*, 2007, 33: 141-144.

116. 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.
117. Peterson FJ, Knodell RG, Lindemann NJ, Steele NM. Prevention of acetaminophen and cocaine hepatotoxicity in mice by cimetidine treatment. *Gastroenterology*, 1983, 85: 122-129.
118. Al-Mustafa ZH, Al-Ali AK, Qaw FS, Abdul-Cader Z. Cimetidine enhances the hepatoprotective action of N-acetylcysteine in mice treated with toxic doses of paracetamol. *Toxicology*, 1997, 121: 223-228.
119. Stramentinoli G, Pezzoli C, Galli-Kienle M. Protective role of S-adenosyl-L-methionine against acetaminophen induced mortality and hepatotoxicity in mice. *Biochemical Pharmacology*, 1979, 28: 3567-3571.
120. Bray GP, Tredger JM, Williams R. S-adenosylmethionine protects against acetaminophen hepatotoxicity in two mouse models. *Hepatology*, 1992, 15: 297-301.
121. Carrasco R, Perez-Mateo M, Gutierrez A, Esteban A, Mayol MJ, Caturra J, Ortiz P. Effect of different doses of S-adenosyl-L-methionine on paracetamol hepatotoxicity in a mouse model. *Methods & Findings in Experimental & Clinical Pharmacology*, 2000, 22: 737-740.
122. Abernethy DR, Schwartz JB. Calcium-antagonist drugs. *N Engl J Med*, 1999, 341: 1447-1457.
123. Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, Berl T, Pohl MA, Lewis JB, Ritz E, Atkins RC, Rohde R, Raz I, Collaborative Study G. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 2001, 345: 851-860.

124. Beresford AP, McGibney D, Humphrey MJ, Macrae PV, Stopher DA. Metabolism and kinetics of amlodipine in man. *Xenobiotica*, 1988, 18: 245-254.
125. Wang JG. A combined role of calcium channel blockers and angiotensin receptor blockers in stroke prevention. *Vasc Health Risk Manag*, 2009, 5: 593-605.
126. Chrysant SG, Melino M, Karki S, Lee J, Heyrman R. The combination of olmesartan medoxomil and amlodipine besylate in controlling high blood pressure: COACH, a randomized, double-blind, placebo-controlled, 8-week factorial efficacy and safety study. *Clin Ther*, 2008, 30: 587-604.
127. Bekerecioğlu M, Uğras S, Dilek ON, Tercan M, Ozyazgan I. Serbest Radikaller. *Sendrom*, 1998, 10: 85-94.
128. Murray RK GD, Mayes PA, Rodwell VM. *Harper's Biochemistry*. Baskı. USA, McGraw-Hill Press, 2000.
129. Elliott JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, 1999, 53: 46-48.
130. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *American Journal of Surgery*, 1991, 161: 488-503.
131. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science*, 1978, 201: 875-880.
132. Akkus I. *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Baskı. Konya, Mimoza yayınları, 1995: 3-95.
133. 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.

134. Davies KJ, Goldberg AL. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262: 8220-8226.
135. Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2005, 38: 995-1014.
136. Nair V, Cooper CS, Vietti DE, Turner GA. The chemistry of lipid peroxidation metabolites: crosslinking reactions of malondialdehyde. *Lipids*, 1986, 21: 6-10.
137. Marnett LJ. Chemistry and biology of DNA damage by malondialdehyde. *IARC Scientific Publications*, 1999: 17-27.
138. Lykkesfeldt J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clinica Chimica Acta*, 2007, 380: 50-58.
139. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal* 1996, 313 (Pt 1): 17-29.
140. 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.
141. Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Cital M. Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2007, 59: 121-128.
142. 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*, 2006, 44: 393-397.

143. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica (APMIS)*, 2007, 115: 81-103.
144. 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.
145. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002, 181-182: 219-222.
146. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal*, 2003, 17: 1195-1214.
147. N-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review*, 2000, 5: 467-471.
148. Akkus I. *Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri*. Baskı. Konya, Mimoza, 1995: 723.
149. Mao GD, Thomas PD, Lopaschuk GD, Poznansky MJ. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268: 416-420.
150. 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 Radical Biology & Medicine*, 2006, 41: 1338-1350.
151. Sandstrom J, Nilsson P, Karlsson K, Marklund SL. 10-fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269: 19163-19166.
152. Marklund S. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. *Acta Physiol Scand Supplement*, 1980, 492: 19-23.

153. 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. *Journal of Biological Chemistry*, 1970, 245: 1374-1377.
154. 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.
155. Tsai AC. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in the liver of cholesterol-fed rats. *Journal of Nutrition*, 1975, 105: 946-951.
156. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radical Biology & Medicine*, 1999, 27: 951-965.
157. Pickett CB, Lu AY. Glutathione S-transferases: gene structure, regulation, and biological function. *Annual Review of Biochemistry*, 1989, 58: 743-764.
158. Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, 81: 4343-4347.
159. Haddad JJ, Olver RE, Land SC. Antioxidant/pro-oxidant equilibrium regulates HIF-1 α and NF-kappa B redox sensitivity. Evidence for inhibition by glutathione oxidation in alveolar epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275: 21130-21139.
160. Haddad JJ, Harb HL. L-gamma-Glutamyl-L-cysteinyl-glycine (glutathione; GSH) and GSH-related enzymes in the regulation of pro- and anti-inflammatory cytokines: a signaling transcriptional scenario for redox(y) immunologic sensor(s)? *Molecular Immunology*, 2005, 42: 987-1014.
161. Tariq M. Gastric anti-ulcer and cytoprotective effect of vitamin E in rats. *Research Communications in Chemical Pathology & Pharmacology*, 1988, 60: 87-96.

162. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *Journal of the American Dietetic Association*, 1996, 96: 693-702; quiz 703-694.
163. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: part II. *J Ethnopharmacol*, 2003, 89: 217-219.
164. 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. *J Toxicol Environ Health A*, 1998, 53: 223-229.
165. Bruton LL. *Goodman Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli*. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitebevlere, 2006.
166. Ozkaya O, Genc G, Bek K, Sullu Y. A case of acetaminophen (paracetamol) causing renal failure without liver damage in a child and review of literature. *Ren Fail*, 2010, 32: 1125-1127.
167. Prescott LF. Paracetamol overdose. Pharmacological considerations and clinical management. *Drugs*, 1983, 25: 290-314.
168. Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *J Med Toxicol*, 2008, 4: 2-6.
169. Em ES, Ar AA, Am M, Aa EA. Thymol and Carvacrol Prevent Cisplatin-Induced Nephrotoxicity by Abrogation of Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis in Rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 2014.
170. Somchit MN, Sanat F, Hui GE, Wahab SI, Ahmad Z. Mefenamic Acid induced nephrotoxicity: an animal model. *Adv Pharm Bull*, 2014, 4: 401-404.
171. Naguib YM, Azmy RM, Samaka RM, Salem MF. *Pleurotus ostreatus* opposes mitochondrial dysfunction and oxidative stress in acetaminophen-induced hepato-renal injury. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14: 494.

172. Das J, Ghosh J, Manna P, Sil PC. Taurine protects acetaminophen-induced oxidative damage in mice kidney through APAP urinary excretion and CYP2E1 inactivation. *Toxicology*, 2010, 269: 24-34.
173. Tan H, Gepdiremen A, Halici Z. Effect of Lithium and Valproic Acid on Kainate-Induced Neurotoxicity in Cerebral Cortical Cell. *Asian Journal of Chemistry*, 2009, 21: 1769-1774.
174. Li J, Tie CR, Li QX, Zheng F. Amlodipine prevents adriamycin-induced toxicity in cultured rat mesangial cells by up-regulation of Smad6, Smad7 expression. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 38: 251-256.
175. Abdul Hamid Z, Budin SB, Wen Jie N, Hamid A, Husain K, Mohamed J. Nephroprotective effects of Zingiber zerumbet Smith ethyl acetate extract against paracetamol-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2012, 13: 176-185.
176. Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Pastorino AM, Davoli A, Nava C, Campagnola M, Rossato P, Lo Cascio V. Antioxidant activity of different dihydropyridines. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 302: 679-684.
177. Liu LL, Li QX, Xia L, Li J, Shao L. Differential effects of dihydropyridine calcium antagonists on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Toxicology*, 2007, 231: 81-90.
178. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*, 1997, 43: 1209-1214.
179. Aycan IO, Tokgoz O, Tufek A, Alabalik U, Evliyaoglu O, Turgut H, Celik F, Guzel A. The use of thymoquinone in nephrotoxicity related to acetaminophen. *Int J Surg*, 2014, 13C: 33-37.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
<p>Adı Soyadı: Erdoğan KARATAŞ Doğum tarihi: 01.05.1983 Doğum yeri: Erzurum Medeni hali: Evli Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi ECZACILIK Fakültesi, BİYOKİMYA Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM Tel: 0505 427 98 53 Faks: Metin girmek için burayı tıklatın. E-mail: sari2525@hotmail.com</p>
Eğitim
<p>Lise: Mehmet Akif Ersoy Lisesi (2000) Lisans: ATATÜRK Üniversitesi ECZACILIK Fakültesi (2002-2006) Yüksek lisans: ATATÜRK Üniversitesi ECZACILIK Fakültesi, BİYOKİMYA Anabilim Dalı (2011-2016) Doktora:Üniversitesi Fakültesi, Anabilim Dalı (2009-2012)</p>
Yabancı Dil Bilgisi
<p>İngilizce: YDS: 42 Almanca: Rusça:</p>
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
<p>.....</p>
İlgi Alanları ve Hobiler
<p>.....</p>

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



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

Sayı : 36643897-36

Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

04.06.2013
ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 22.05.2013 tarih ve 93722986.03/360 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Elif ÇADIRCI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji ve Biyokimya Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Sıçanlarda Parasetamol İle İndüklenen Akut Böbrek Toksikitesi Üzerine Amlodipinin 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 29 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 : 29- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Elif ÇADIRCI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji ve Biyokimya Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Sıçanlarda Parasetamol İle İndüklenen Akut Böbrek Toksikitesi Üzerine Amlodipinin Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 22.05.2013 tarih ve 93722986.03/360 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; (Yönergenin 5/f maddesi gereğince, Doç.Dr.Elif ÇADIRCI oylamaya katılmadı), 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