

**FARELERDE PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN  
AKUT BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE 5-HT<sub>7</sub>  
AGONİST VE ANTAGONİSTLERİNİN  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Aşlı ÖZBEK BİLGİN**

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Zekai HALICI**

**Doktora Tezi – 2015**

**T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARELERDE PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT  
BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE 5-HT<sub>7</sub> AGONİST VE  
ANTAGONİSTLERİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Ash ÖZBEK BİLGİN**

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı  
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Zekai HALICI**

**ERZURUM  
2015**

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

**FARELERDE PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT BÖBREK  
TOKSİSİTESİ ÜZERİNE 5-HT<sub>7</sub> AGONİST VE  
ANTAGONİSTLERİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Aslı ÖZBEK BİLGİN

**Tez Savunma Tarihi** : 02.03.2015

**Tez Danışmanı** : Prof. Dr. Zekai HALICI (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Doç. Dr. İsmail MALKOÇ (Atatürk Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ (Bülent Ecevit Üniversitesi)

**Jüri Üyesi** : Yrd. Doç. Dr. Fatih İLKAYA (19 Mayıs Üniversitesi)

**Onay**

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

  
**Prof. Dr. Yayuz Selim SAĞLAM**  
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi**  
**ERZURUM – 2015**

# İÇİNDEKİLER

|   |           |
|---|-----------|
| <b>TEŞEKKÜR</b> .....                                       | <b>IV</b> |
| <b>ÖZET</b> .....   | <b>V</b>  |
| <b>ABSTRACT</b> .....                                       | <b>VI</b> |
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....                 | <b>VI</b> |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....                                | <b>IX</b> |
| <b>TABLolar DİZİNİ</b> .....                                | <b>XI</b> |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....                                       | <b>1</b>  |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....                              | <b>4</b>  |
| 2.1. Zehirlenmeler .....                                    | 4         |
| 2.2. Parasetamol .....                                      | 6         |
| 2.2.1. Parasetamolün Farmakolojik Özellikleri .....         | 6         |
| 2.2.2. Parasetamolün Farmakokinetiği ve Metabolizması ..... | 8         |
| 2.2.3. Parasetamolün Toksik Etkileri .....                  | 8         |
| 2.2.4. Parasetamol Toksisitesinde Teşhis .....              | 10        |
| 2.2.5. Parasetamol Toksisitesinde Klinik.....               | 10        |
| 2.2.6. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi.....               | 11        |
| 2.3. Böbrek.....  | 14        |
| 2.3.1. Böbreğin Anatomisi .....                             | 15        |
| 2.3.2. Böbreğin Fizyolojisi .....                           | 17        |
| 2.3.3. Böbrek Fonksiyon Testleri.....                       | 19        |
| 2.3.4. Parasetamole Bağlı Nefrotoksisite.....               | 21        |
| 2.3.5. Antioksidanlar.....                                  | 24        |
| 2.3.5.1. Süper Oksid Dismutaz .....                         | 26        |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.3.5.2. Glutasyon .....  | 26        |
| 2.3.5.3. Malondialdehit .....   | 27        |
| 2.3.6. Sitokinler.....  | 27        |
| 2.3.6.1. Tümör Büyüme Faktörleri (Transforming Growth Factor, TGF)..... | 28        |
| 2.3.6.2. Tümör Nekroz Faktör Alfa .....                                 | 28        |
| 2.4. Serotonin.....   | 29        |
| 2.4.1. Serotonin Reseptörleri .....                                     | 31        |
| 2.4.2. 5-HT <sub>7</sub> Reseptörü .....                                | 32        |
| 2.4.3. 5-HT <sub>7</sub> R Agonist ve Antagonistleri .....              | 33        |
| <b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>  | <b>35</b> |
| 3.1. Materyal .....   | 35        |
| 3.1.1. Deney Hayvanları .....   | 35        |
| 3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve İlaçların Hazırlanışı.....                 | 35        |
| 3.1.2.1. Kullanılan İlaçlar .....                                       | 35        |
| 3.1.2.2. İlaçların Hazırlanışı.....                                     | 35        |
| 3.2. Metot.....   | 36        |
| 3.2.1. Deney Planı.....   | 36        |
| 3.2.2. Biyokimyasal Çalışmalar .....                                    | 38        |
| 3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar .....                                | 43        |
| 3.2.3. Moleküler Çalışmalar .....                                       | 43        |
| 3.2.3.1. Real Time PCR .....  | 44        |
| 3.2.4. Histopatolojik İncelemeler.....                                  | 46        |
| 3.2.4.1. Işık Mikroskopik İşlemler.....                                 | 46        |
| 3.2.5. İmmunohistokimyasal İncelemeler.....                             | 48        |
| 3.3. İstatistiksel Analiz.....  | 49        |

|   |            |
|---|------------|
| <b>4. BULGULAR.....</b>                   | <b>50</b>  |
| 4.1. Biyokimyasal Bulgular .....          | 50         |
| 4.1.1. BUN ve Kreatinin Değerleri .....   | 50         |
| 4.1.2. SOD, GSH ve MDA Analizleri .....   | 53         |
| 4.2. Moleküler Bulgular.....              | 56         |
| 4.3. Histopatolojik Bulgular.....         | 59         |
| 4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular.....    | 64         |
| <b>5. TARTIŞMA.....</b>                   | <b>73</b>  |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>          | <b>81</b>  |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                    | <b>83</b>  |
| <b>EKLER .....</b>                        | <b>104</b> |
| <b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ .....</b>               | <b>104</b> |
| <b>EK-2. ETİK KURULU ONAY FORMU .....</b> | <b>105</b> |

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bana yol gösteren, tez konumun seçilmesinde ve çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübeleri ile beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Zekai HALICI'ya saygılarımı sunuyorum.

Doktora eğitimime katkıda bulunan başta Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU ve akabinde tüm değerli hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarında ve tez yazımında her türlü desteklerinden dolayı Doç. Dr. Elif ÇADIRCI'ya, Doç. Dr. Emre KARAKUŞ'a, Doç. Dr. Yasin BAYIR'a, Doç. Dr. Abdülmecit ALBAYRAK'a, Yrd. Doç. Dr. Erol AKPINAR'a ve Yrd. Doç. Dr. Beyzagül POLAT'a ve Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda görev yapmakta olan, birlikte çalışmaktan onur duyduğum asistan arkadaşlarıma özellikle teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışmayı 112S627 TÜBİTAK proje numarası ile destekleyen Tübitak Proje Koordinatörlüğüne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca emeklerini ödeyemeyeceğim rahmetli babama, aileme, eşime ve çocuklarıma göstermiş oldukları sabırdan dolayı sonsuz teşekkür ederim.

**Aslı ÖZBEK BİLGİN**

## ÖZET

### Farelerde Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine 5-HT<sub>7</sub> Agonist ve Antagonistlerinin Etkilerinin Araştırılması

**Amaç:** Parasetamol doz aşımı, hepatik hasarın yanında böbrek hasarına da sebep olmaktadır. Böbrek hasarını aydınlatan fazla araştırma olmamakla beraber farklı mekanizmaların rolü düşünülmektedir. Serotonin, santral sinir sisteminde ve kardiyovasküler sistemde önemli rolleri olan bir monoamindir ve etkilerini reseptörleri üzerinden göstermektedir. 5-HT<sub>7</sub> reseptörünün, periferde immun sistem hücrelerinin aktivasyonunda rol alabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, parasetamole bağlı oluşan nefrotoksisitede serotonin 5-HT<sub>7</sub> reseptörünün rolü, agonist ve antagonist uygulamasının tedaviye etkisinin incelenmesi amaçlandı.

**Materyal ve Metot:** Çalışmamızda her grupta 10 adet dişi fare olacak şekilde 8 grup oluşturuldu. **Grup I:** Sağlıklı **II:** Parasetamol, **III:** Parasetamol+NAC 100 mg/kg, **IV:** Parasetamol+Agonist 5 mg/kg, **V:** Parasetamol+ Agonist 10 mg/kg, **VI:** Parasetamol+Antagonist 10 mg/kg, **VII:** Parasetamol+Antagonist 20 mg/kg, **VIII:** Parasetamol+Agonist 10 mg/kg+Antagonist 20 mg/kg.

**Bulgular:** Yapılan ölçümlerde, serum BUN ve kreatinin seviyeleri parasetamol grubunda artarken, agonist verilen gruplarda bu parametreler düzelme eğilimindeydi. Parasetamol grubunda, böbrek dokusunda ölçülen SOD aktivitesi ve GSH miktarları azalırken, agonist kullanımı bu parametreleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düzeltti. Aynı zamanda böbrek dokusunda MDA miktarları parasetamol grubunda yükselirken, agonist uygulanan gruplarda artmış olan MDA miktarları istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı. Böbrekte ekspresyonlarına bakılan TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ <sub>1</sub> parasetamol grubunda artış gösterirken agonist gruplarında azalma eğilimindeydi. Histopatolojik incelemede, parasetamol böbrekte hasar oluştururken, agonist ve NAC uygulamaları bu etkiyi azalttı. Çalışmamız parasetamole bağlı nefrotoksisitede, böbrekte 5-HT<sub>7</sub> reseptör ekspresyonunun arttığını ilk kez gösterdi. İmmunohistokimyasal boyamalarda bunu destekler nitelikteydi.

**Sonuç:** Tüm bu sonuçlar; 5-HT<sub>7</sub> agonistlerinin özellikle 5 mg/kg dozunda parasetamolle indüklenen nefrotoksisite üzerine koruyucu etkilerini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** 5-HT, 5-HT<sub>7</sub>, böbrek, nefrotoksisite, parasetamol



## ABSTRACT

### **The Investigation of 5-HT<sub>7</sub> Agonist and Antagonists on Paracetamol Induced Acute Kidney Toxicity in mice**

**Aim:** Paracetamol overdose also causes renal damage. There may be different mechanisms although there are not any researchs enlightening renal damage. Serotonin indicates its effects over receptors, being a monoamin having significant roles in CNS and CVS. It's thought that 5-HT<sub>7</sub> receptor may play part in activation of peripheral immune system cells. We, aimed to investigate effects on treatment due to agonist and antagonist application, and the role of serotonin 5-HT<sub>7</sub> receptor in paracetamol induced nephrotoxicity.

**Material and Method:** 8 groups, each have 10 female mice, formed. **Group I:** Healthy, **II:** Paracetamol, **III:** Paracetamol+NAC 100 mg/kg, **IV:** Paracetamol+Agonist 5 mg/kg, **V:** Paracetamol+ Agonist 10 mg/kg, **VI:** Paracetamol+Antagonist 10 mg/kg, **VII:** Paracetamol+Antagonist 20 mg/kg, **VIII:** Paracetamol+Agonist 10 mg/kg+Antagonist 20 mg/kg.

**Results:** While levels of serum BUN and creatinine increased in paracetamol group, these parameters had improvement tendency in agonist groups. In paracetamol group, while SOD activity and amounts of GSH measured in renal tissue indicated reduction, agonist application corrected these parameters statistically. Also, while amounts of MDA in renal tissue increased in paracetamol group, agonist treatment reduced this statistically significant. While TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta_1$  expressions were examined in kidney indicated increasing in paracetamol group, they were reducing tendency in agonist groups. In histopathological findings, while paracetamol causes kidney damage, agonist and NAC applications prevented this effect. Our study first indicated, kidney 5-HT<sub>7</sub> receptor expression increased in paracetamol induced nephrotoxicity. Immunohistochemical stainings supported this.

**Conclusion:** These conclusions indicated potective effects of 5-HT<sub>7</sub> agonists on paracetamol induced nephrotoxicity particularly 5 mg/kg dose.

**Key Words:** 5-HT, 5-HT<sub>7</sub>, kidney, nephrotoxicity, paracetamol

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| <b>5-HİAA</b>                     | : 5-hidroksi-indol-asetik asit               |
| <b>5-HT</b>                       | : Serotonin                                  |
| <b>5-HTR</b>                      | : 5-HT reseptörleri                          |
| <b>ABD</b>                        | : Amerika Birleşik Devletleri                |
| <b>ADH</b>                        | : Antidiüretik Hormon                        |
| <b>APAP</b>                       | : N-asetil-Paraaminofenol                    |
| <b>A</b>                          | : Arteria                                    |
| <b>ATP</b>                        | : Adenozin-trifosfat                         |
| <b>BUN</b>                        | : Kan üre azotu                              |
| <b>BF</b>                         | : Büyüme faktörü                             |
| <b>CSF</b>                        | : Koloni stimule edici faktörler             |
| <b>Ca<sup>+2</sup></b>            | : Kalsiyum                                   |
| <b>CAT</b>                        | : Katalaz                                    |
| <b>CMC</b>                        | : Karboksi Metil Selüloz                     |
| <b>COX</b>                        | : Siklooksijenaz enzimi                      |
| <b>CYP</b>                        | : Sitokrom P450 enzim ailesi                 |
| <b>DNA</b>                        | : Deoksiribo nükleik asit                    |
| <b>GGT</b>                        | : Gama glutamil transferaz                   |
| <b>GSH</b>                        | : Glutasyon                                  |
| <b>GSH-Px</b>                     | : Glutasyon peroksidaz                       |
| <b>GFR</b>                        | : Glomerüler Filtrasyon Hızı                 |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen peroksit                          |
| <b>IL</b>                         | : İnterlökin                                 |
| <b>İV</b>                         | : İntravenöz                                 |
| <b>KOAH</b>                       | : Kronik obstrüktif akciğer hastalığı        |
| <b>LOOH</b>                       | : Lipid peroksitler                          |
| <b>MDA</b>                        | : Malondialdehid                             |
| <b>M</b>                          | : musculus                                   |
| <b>Na<sup>+</sup></b>             | : Sodyum                                     |
| <b>NAC</b>                        | : N-asetilsistein                            |
| <b>NADPH</b>                      | : İndirgenmiş Nikotinamid adenin dinükleotit |
| <b>NAPQI</b>                      | : N-asetil-p-benzokinonimin                  |

|                                |                                       |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| <b>NO</b>                      | : Nitrik oksit                        |
| <b>PBS</b>                     | : Phosphate buffer saline             |
| <b>PGES</b>                    | : Prostaglandin endoperoksit sentetaz |
| <b>REM</b>                     | : Rapid eye movement                  |
| <b>RNA</b>                     | : Ribo nükleik asit                   |
| <b>SDBY</b>                    | : Son dönem böbrek yetmezliği         |
| <b>SOD</b>                     | : Süperoksit dismutaz                 |
| <b>SSS</b>                     | : Santral Sinir Sistemi               |
| <b>TGF-<math>\beta</math></b>  | : Transforming growth faktör-beta     |
| <b>TNF-<math>\alpha</math></b> | : Tümör nekroz faktör-alfa            |
| <b>TPH</b>                     | : Triptofan hidroksilaz               |
| <b>V</b>                       | : Vena                                |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil No</u>  | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| Şekil 2.1. Parasetamolün yapısı.....   | 6               |
| Şekil 2.2. Böbreğin Anatomisi .....  | 17              |
| Şekil 2.3. Serotonin metabolizması .....   | 30              |
| Şekil 4.1. Fare serumlarında ölçülen BUN düzeyinin grafikte gösterilmesi .....   | 51              |
| Şekil 4.2. Fare serumlarında ölçülen Kreatinin düzeyinin grafikte gösterilmesi .....   | 52              |
| Şekil 4.3. Fare dokusunda ölçülen SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi .....  | 54              |
| Şekil 4.4. Fare böbrek dokusunda ölçülen GSH miktarlarının grafikte gösterilmesi.....  | 55              |
| Şekil 4.5. Fare böbrek dokusunda ölçülen MDA miktarlarının grafikte gösterilmesi ...   | 56              |
| Şekil 4.6. Farelerden parasetamol uygulamasından 12 saat sonra alınan böbrek örneklerindeki 5-HT <sub>7</sub> mRNA seviyeleri .....  | 57              |
| Şekil 4.7. Farelerden parasetamol uygulamasından 12 saat sonra alınan böbrek örneklerindeki TGF-β1 mRNA seviyeleri .....   | 58              |
| Şekil 4.8. Farelerden parasetamol uygulamasından 12 saat sonra alınan böbrek örneklerindeki TNF-α mRNA seviyeleri .....  | 59              |
| Şekil 4.9. Farelerden alınan böbrek örneklerindeki ışık mikroskopik kesitler. A- B:Sağlıklı Grup, C-D: Parasetamol Grubu .....   | 60              |
| Şekil 4.10. Farelerden alınan böbrek örneklerindeki ışık mikroskopik kesitler A- B:Para+NAC Grubu,C-D:Para+Ago 5 mg Grubu,E-F:Para+Ago10mg Grubu .....                               | 61              |
| Şekil 4.11. Farelerden alınan böbrek örneklerindeki ışık mikroskopik kesitler A-B: Para +Anta 10 mg Grubu, C-D: Para +Anta 20 mg Grubu, E-F: Para +Ago 10mg + Anta 20 mg Grubu ..... | 63              |

|   |    |
|---|----|
| <b>Şekil 4.12.</b> Sağlıklı grup böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği.....                             | 65 |
| <b>Şekil 4.13.</b> Parasetamol grubu böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği.....                         | 66 |
| <b>Şekil 4.14.</b> PARA+NAC grubu böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği.....                            | 67 |
| <b>Şekil 4.15.</b> PARA+AGO 5 mg/kg grubu böbrek dokusunda HTR7<br>immunopozitifliği .....                | 68 |
| <b>Şekil 4.16.</b> PARA+AGO 10 mg/kg grubu böbrek dokusunda HTR7<br>immunopozitifliği .....               | 69 |
| <b>Şekil 4.17.</b> PARA+ANTA 10 mg/kg grubu böbrek dokusunda HTR7<br>immunopozitifliği .....              | 70 |
| <b>Şekil 4.18.</b> PARA+ANTA 20 mg/kg grubu böbrek dokusunda HTR7<br>immunopozitifliği .....              | 71 |
| <b>Şekil 4.19.</b> PARA+AGO 10 mg/kg+ANTA 20 mg/kg grubu böbrek dokusunda<br>HTR7 immunopozitifliği ..... | 72 |

## TABLolar DİZİNİ

| <b><u>Tablo No</u></b>  | <b><u>Sayfa No</u></b> |
|---|------------------------|
| <b>Tablo 4.1.</b> Fare serumunda ölçülen BUN ve Kreatinin sonuçları .....                               | 50                     |
| <b>Tablo 4.2.</b> Fare böbrek dokusunda ölçülen SOD, GSH ve MDA sonuçları .....                         | 53                     |
| <b>Tablo 4.3.</b> Böbrek kesitlerinde HTR7 immunohistokimyasal testine ait semikantitatif skorlama..... | 64                     |

# 1. GİRİŞ

Zehirlenmeler; mesleki maruziyet, çevresel faktörler, eğlence amaçlı veya tıbbi nedenler sonucunda alınan maddelerin, herhangi bir sistemin işleyişini olumsuz yönde etkilemesi ile meydana gelir. Ülkemizde ve dünyada acil servislere başvuran zehirlenme olgularında en sık etken olarak, ilaçlar karşımıza çıkmaktadır. 2008 yılı Ulusal Zehir Danışma Merkezi Çalışma Raporunda en çok zehirlenme sebebi olan etkin maddeler incelenmiş ve ilk sırada parasetamol (asetaminofen) etkin maddesini içeren ilaçların olduğu (%6.78) tespit edilmiştir.<sup>1</sup>

Parasetamol, tüm yaş gruplarında orta düzeyde ağrının ve ateşin tedavisinde etkin, güvenli ve ucuz olduğundan dünyada en çok kullanılan ilaçlar arasındadır. Terapötik doz aralığında yan etki insidansı düşük olan parasetamolün yüksek dozlarda kullanımına bağlı ciddi toksisiteler oluşabilmekte hatta bunların bir kısmı da ölümlerle sonuçlanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda özellikle Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve İskandinav ülkeleri gibi sanayileşmiş ülkelerde parasetamol, akut karaciğer yetmezliğinin ağırlıklı sebebi olarak bulunmuştur.<sup>2,3</sup> Parasetamol doz aşımı, hepatotoksisite dışında ekstrahepatik dokularda (özellikle böbrekte) da hasar oluşturmaktadır. Parasetamole bağlı karaciğer nekrozu klinikte sık görüldüğü için yoğun olarak çalışılmıştır. Karaciğer dışı dokularda olan hasarlarla ilgili çalışmalara ise literatürde daha az rastlanmaktadır.

Parasetamol doz aşımı, böbrek toksisitesine de neden olur.<sup>4, 5</sup> Parasetamol doz aşımına maruz kalan hastaların yaklaşık %1-2'sinde böbrek yetmezliği geliştiği tespit edilmiştir.<sup>6</sup> Nefrotoksisite nadiren tek başına olabileceği gibi sıklıkla hepatotoksisite ile birlikte görülür.<sup>7</sup>

Parasetamol zehirlenmesine bağlı oluşan nefrotoksisitenin patofizyolojisinde, karaciğerde olduğu gibi böbrekte de bulunan, oksidasyon enzimleri, prostaglandin

sentetaz ve deasetilaz gibi sitokrom P-450 (CYP-450) izoenzimleri ile oluşan N-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI) suçlanmaktadır.<sup>8</sup> Glutasyon (GSH), parasetamol ve konjugatlarının detoksifikasyonunda önemlidir ve parasetamol-sistein konjugatlarının da renal toksisiteyi ağırlaştırıcı etkisi düşünülmektedir.<sup>9</sup> Pek çok çalışma yüksek doz parasetamolün sonuçta oksidatif stresi arttırdığı, nekroz ve apoptotik yollardan tübüler hücre ölümüne sebep olduğunu göstermiştir.<sup>10-12</sup> Parasetamol zehirlenmesinde N-asetilsistein (NAC), metionin gibi ilaçlar kullanılmaktadır.

NAC, parasetamole bağılı karaciğer nekrozunu önlemede önemli role sahiptir, ancak nefropatiyi önlemede karaciğerdeki kadar etki göstermediği düşünülmektedir.<sup>5</sup> Bu durum araştırmacıları, parasetamole bağılı nefrotoksisitede farklı tedavi yöntemleri denemeye yönlendirmiştir. Hiperbarik oksijen tedavisi,<sup>13</sup> ozon terapisi,<sup>10</sup> bazı bitki ekstraktlarının etkileri araştırılmıştır.<sup>14-16</sup> Özellikle antioksidan etkileri bulunan ve oksidatif stresteki hasarı azalttığı düşünülen tedavi yöntemleri denenmektedir.

Bu çalışmada, daha önce inflamasyon modellerinde etkileri çalışılan serotonin reseptör 7 agonist ve antagonistlerinin nefrotoksisiteyi önlemedeki yeri araştırıldı. Serotonin (5-HT), fizyolojik ve patolojik birçok olayda çeşitli fonksiyonları olan biyogenik bir monoamindir.<sup>17</sup> Özellikle santral sinir sisteminde (SSS) serotonerjik nöronlarda ve mide-barsak sisteminde bulunur. Bunlar dışında kalan serotoninin büyük kısmı dolaşımda trombositler içerisinde bulunmaktadır ve vücuda bu şekilde dağıldığı düşünülmektedir.<sup>18</sup> Serotonin çeşitli etkilerini, farklı dokularda dağılım gösteren 7 tip reseptörü ve bunların alt tipleri üzerinden göstermektedir. 5-HT<sub>1</sub> ve 5-HT<sub>2</sub> reseptörleri en çok araştırılan gruplardır. Serotoninin köpeklerdeki renal vazodilatör etkisinde 5-HT<sub>2</sub> reseptör agonistlerinden birinin rol aldığı yapılan çalışmalarda sunulmuştur.<sup>19</sup> Yine renal mezansimal hücre kültürlerinde, serotoninin tip 4 kollajen oluşumunu arttırdığı ve bu etkinin 5HT<sub>2A</sub> reseptör antagonistleri tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir.<sup>20</sup> Aynı



çalışmada serotoninin aktif ve total tümör büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ) biyoaktivitesini de arttırdığı gözlenmiştir. Bununla beraber serotonin reseptör antagonistlerinin renal yetmezlikte fosfat atılımını düzenlemede faydalı olabileceği öngörülmüştür.<sup>21</sup>

Serotonin reseptörlerinden en son keşfedileni, 5-HT<sub>7</sub> reseptörüdür. Bu reseptör, beyinde farklı bölgelerde,<sup>22</sup> ayrıca kardiyovasküler sistemde özellikle koroner arterlerde,<sup>23</sup> pulmoner arterlerde ve aortada gösterilmiştir.<sup>24</sup> Buna ilaveten sıçan immun dokularında da bu reseptör tipinin varlığı gösterilmiştir.<sup>25</sup> İmmun cevabın rol oynadığı, sepsise bağlı akciğer hasarında ve pençe ödemindeki inflamasyonda 5-HT<sub>7</sub> reseptör agonist (AS-19) ve antagonistlerinin (SB269970) rolleri araştırılmış, 5-HT<sub>7</sub> reseptörünün inflamasyondaki etkisine dikkat çekilmiştir.<sup>26, 27</sup> Yine yapılan başka bir çalışmada parasetamolle oluşturulan hepatotoksisite modelinde 5-HT<sub>7</sub> reseptör agonistlerinin (AS-19) etkili olabileceği gösterilmiştir.<sup>28</sup>

Çalışmamızda, 5-HT<sub>7</sub> reseptör agonist ve antagonistlerinin, çalışmalar ışığında parasetamole bağlı gelişen nefrotoksisitedeki olası etkilerini; biyokimyasal, moleküler ve histopatolojik yöntemler kullanarak incelemeyi amaç edindik.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Zehirlenmeler

Tarihte insanlar birçok sebeple zehirlere maruz kalmıştır. Mısır Papirusları (m.ö.1552) tıpla ilgili en eski kaynak olmakla beraber pek çok zehirden bahsetmektedir. Eski Roma ve Yunanda taht kavgalarında, politik amaçlarla, miras anlaşmazlıklarında, intihar amaçlı, hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlarla veya besinlerle oluşan zehirlenmelerin sık görülmesi sonucu hekimleri, zehirleri sınıflandırmaya ve panzehir araştırmaya sevk etmiştir. Hippocrates (m.ö.460-315) mineral yataklarında çalışan işçilerde kurşun zehirlenmesini bildirmiş ve meslek hastalıklarından bahsetmiştir. Doğunun ünlü Türk hekimi İbn-i Sina (980-1037) Avicenna adlı kitabında zehirler ve antidotlarından bahsetmiştir. Ortaçağda zehirlenme olayları çok yaygınlaşmıştır. Hatta aileler bunu bir sanat gibi geliştirip, geçim kayanğı haline getirmiştir. Paracelsus (1493-1541) zehiri "Her madde zehirdir. Zehir olmayan madde yoktur; zehir ile ilacı ayıran dozdur" şeklinde tanımlamış ve bugünkü toksikolojinin temellerini atmıştır.

Zehirlenme, herhangi bir maddenin vücuda zarar verebilme potansiyelidir. Akut zehirlenme, kimyasal maddenin toksik dozuna bir kez veya kısa zaman içinde birçok kez maruz kalma sonucu görülürken, kronik zehirlenme ise uzun süreli düşük dozlarda kimyasal maruziyeti sonucu oluşmaktadır.<sup>29</sup>

Sanayileşme ve ilaç erişim ile kullanımının hızla artması zehirlenmeleri ve tedavisini önemli bir hale getirmiştir. Zehirlenme vakalarına dünyada oldukça sık rastlanmaktadır. ABD’de 2008 yılında zehir kontrol merkezlerine yaklaşık 2.5 milyon toksik vaka bildirimi yapılmıştır. Bunlardan toksin ve ilaçla ölüm sayısı 1315’tir ve %58’i 12 yaş altındaki çocukları kapsamaktadır.<sup>30</sup> Türkiye’de yapılan araştırma verilerine dayanılarak Acil servislere ve Zehir Danışma Merkezlerine başvuran akut zehirlenmelerin çoğunun ilaçlarla oluştuğı söylenilebilir.<sup>1</sup> 2013 yılında yapılan bir

çalışmada, ilaçlarla zehirlenmeler içinde en sık (n=101, %33,0) parasetamol alımları tespit edilmiştir.<sup>31</sup> Sağlık Bakanlığı, Türkiye’de en sık görülen akut zehirlenme etkenlerini sınıflamıştır.<sup>32</sup> Buna göre birinci sırada analjezikler, antidepresanlar, antihistaminikler, antihipertansifler, antiepileptikler gibi ilaçlar yer alırken, tarım ilaçları ve böcek öldürücüler ikinci sırada, ev içi kimyasallar, zehirli gazlar, diğer kimyasallar, bitki, besinler ve zehirli hayvan ısırma ve sokmaları ise bunları sırası ile takip etmektedir.

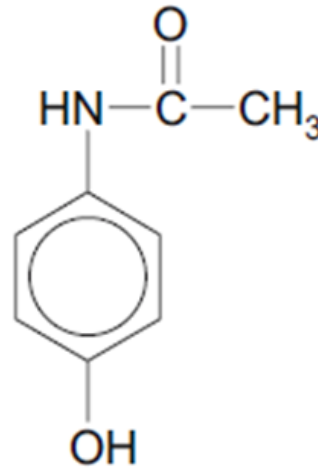
Ülkemizde ilaçlara ulaşımın kolay olması, zehirlenme vakalarında ilaçların ilk sırayı almasına neden olmaktadır. İntihar amaçlı olarak genelde evlerde stok halinde bulunan analjezikler, antidepresanlar gibi ilaçlar veya kırsalda böcek öldürücüler kullanılmaktadır. Çocuklarda görülen en sık zehirlenmeler etrafta bırakılan ilaçlar veya temizlik amaçlı kullanılan kimyasallarla meydana gelmektedir. Zehirlenmelerin sıklığı ve özellikleri toplumların sosyal, kültürel ve ekonomik özelliklerine göre değişmektedir.

Acil servislerde zehirlenmelerin ayırıcı tanısında öykü ve fizik muayene oldukça önemlidir. Hasta ve yakınlarından alınan bilgilerle zehir tespit edilip, varsa antidotu ile tedaviye erken başlanması hayat kurtarıcı olmaktadır. Zehirlenmede toksik maddenin organizmaya girişi, mide-bağırsak kanalı, solunum, deri, mukozalar, göz ve intravenöz (iv) yollardan olabilir. Bu toksik maddeler genellikle karaciğerden metabolize olup, böbrekler ya da safrayolu ile atılırlar. Bu esnada dokulara zarar vererek yaşamı tehdit edebilirler. Hastanın klinik durumu alınan toksik maddenin miktarına, etkinliğine, biyoaktivitesine, enzim indüksiyonu ya da inhibisyonu yapmasına, hastanın sağlık durumuna, yaşına, böbrek fonksiyonlarına, tedavinin başlama süresine bağlı olarak değişebilmektedir.

## 2.2. Parasetamol

1878'te ilk defa Harmon Northrop Morse tarafından p-nitrofenolün asetik asitle indirgenmesiyle sentezlenen parasetamol, Von Mering tarafından bir süre klinikte kullanılmıştır.<sup>33,34</sup> Toksisitesi nedeni ile kullanımına ara verilen parasetamol, 1948'de Brodie ve Axelrod'un asetalinid gibi toksik etkilere sahip olmadığını bildirmesi ile tekrar çalışılmaya başlanmıştır.<sup>35</sup> 1955'te ABD'de 'Tylenol' adı altında piyasaya sürülmüştür. 1956'da İngiltere'de 'Panadol' ve 1958'de çocuklar için 'Panadol elixir' şeklinde kullanıma sunulmuştur.

Parasetamol (Asetaminofen, N-asetil-p-aminofenol, APAP)'ün kimyasal formülü  $C_8H_9NO_2$  olup, fenasetinin aktif metabolitidir. Molekül ağırlığı 151.17 g/mol, yoğunluğu 1.263 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 169°C'dir.<sup>36</sup> Yapısal olarak beyaz, kokusuz ve hafif acı tada sahip kristal toz şeklindedir.



Şekil 2.1. Parasetamolün yapısı<sup>37</sup>

### 2.2.1. Parasetamolün Farmakolojik Özellikleri

Parasetamol sentetik, narkotik olmayan bir para-aminofenol derivativesidir. Tek başına veya antiinflamatuvar ilaçların etkisini arttırmak için kombine halde hazırlanan flakon, suppozituar, tablet, kapsül veya şurup halinde kullanıma sunulmuştur. Soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlar başta olmak üzere, baş ağrısı, migren, diş ağrıları,

dismenore, cerrahi operasyonlardan sonra oluşan ağrılarda ve daha pek çok endikasyonda kullanılmaktadır. Özellikle şurup formu çocukluk çağında ağrılı, ateşli hastalıklarda ve aşı sonrası sık reçete edilmektedir. Gebelikte de güvenle kullanılan analjezik ve antipiretik ilaçtır. Erişkinlerde 500-1000 mg ağızdan gerekirse 4-6 kez tekrarlanarak verilir. Günlük maksimum dozu 4 gram olarak belirtilmiştir, fakat farklı kaynaklarda 2.6 ve 3 gr olarak geçmektedir. İnfantlarda bir kerelik doz 60-120 mg ve 1-5 yaş arası ise 120-250 mg olup günde 3-4 kez tekrarlanabilir. Parasetamolün terapötik etki gösterdiği serum konsantrasyonu yaklaşık 10-20 µg/mL'dir. Yemeklerle alındığında biyoyararlanımı azalır. Böbrek yetmezliğinde, alkoliklerde, izoniazid kullanımında doz ayarlanmalıdır.

Analjezik ve antipiretik etkisi yüksek, antienflamatuar etkinliği ise düşük bir ilaçtır.<sup>38</sup> Solunum, kardiyovasküler sistem ve asit-baz dengesi üzerine belirgin etkisi yoktur. Midede irritasyon ve kanama yapmaz. Antitombositik etkinliği zayıftır. Protrombin sentezini etkilemez, kanama süresini değiştirmez. Oral antikoagülanlarla ve ürikozürük ilaçlarla etkileşmez. Plazma proteinlerine fazla bağlanmaz.<sup>39</sup>

50 yılı aşkın süredir klinikte kullanılan parasetamolün analjezik etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Siklooksijenaz izoenziminin inhibisyonu, endojen opioid yolağı ile etkileşim, serotoninerjik bulboşpinal yolağın aktivasyonu, nitrit oksit yolağıyla ilişkisi ve kannabinoid vanilloid tonusu artırması araştırılmıştır.<sup>36, 40-44</sup> Sonuç olarak analjezik etkilerden sorumlu mekanizmaların santral kaynaklı olduğu görüşü hâkimdir. Özellikle beyinde siklooksijenaz-1 (COX-1) ve COX-2 dışındaki siklooksijenazları (COX-3) inhibe etmesinin santral analjezik etkisinde rol oynadığı kabul edilmiştir. Antipiretik etkinin ise beyinde prostaglandin sentez ve salıverilmesini inhibe etmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

### **2.2.2. Parasetamolün Farmakokinetiği ve Metabolizması**

Oral alımı takiben parasetamol gastrointestinal sistemden hızlıca emilir. Plazma konsantrasyonu 30 dakika ile 1 saat arasında maximum değerine ulaşır. Yarılanma ömrü yaklaşık 2 saattir. Analjezik etkisi ilk dozdan itibaren 3-4 saat kadar sürer. Besinlerle birlikte alınınca emilimi azalır ve etkisinin başlama süresi gecikir. Plazma proteinlerine diğer nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlara göre daha az bağlanır. Hemen hemen tüm vücut sıvılarına dağılım gösterir. Yaklaşık %2-3'ü idrarla direkt atılırken, %90-95'i karaciğerde hepatositlerin düz endoplazmik retikulumlarında metabolize edilir. Karaciğerde konjugasyona uğrayarak glukronik asit (~%60), sülfürik asit (~%35), sistein (~%3) ve küçük miktarda hidroksilli ve deasetilli metabolitlerine dönüşür ve idrarla atılır.<sup>45</sup> Çocukların parasetamolu glukuronidasyon kapasitesi erişkinlere göre daha azdır. Parasetamolün küçük bir kısmı ise sitokrom-p aracılı N- hidroksilasyonla n-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI)'a dönüşür. NAPQI reaktif bir ara üründür, hepatik glutatyon tarafından böbrekten elimine edilir ve toksik olmayan asetaminofen-merkapturat bileşiğine detoksifiye olur.

### **2.2.3. Parasetamolün Toksik Etkileri**

Parasetamol aşırı doz alımında glukuronidasyon ve sulfasyon reaksiyonları ile hepatik metabolizma doygun hale gelir. Bu nedenle parasetamolün büyük kısmı sitokrom p-450 tarafından NAPQI'ye metabolize edilir ve NAPQI toksik olmayan metabolite dönüştürülür. Bu reaksiyonla intraselüler glutatyon azalır. Hepatik glutatyon depoları normalden %30'un altına inince NAPQI, glutamin sentaz, glutamat dehidrogenaz, aldehit dehidrogenaz, N-10 tetrahidrofolat dehidrogenaz gibi hepatik makromoleküllere bağlanır.<sup>46, 47</sup> Bunun sonucunda ise hepatik nekroz meydana gelir.<sup>48</sup>

Bazı görüşler toksisitede diğer etken olarak dozun büyük kısmının başlangıçta hızlı bir şekilde absorbe edilmesinin, kalan kısmının absorpsiyonunun ise yavaş ve uzamış olmasının önemli rolü olduğunu belirtmiştir.<sup>47, 49-51</sup>

Yapılan deneysel çalışmalarda toksik dozda verilen parasetamolün metabolize olması sonucu oluşan NAPQI'nın hücrede ilk mitokondriye bağlandığı ve mitokondriyal solunumu inhibe ettiği gözlenmiştir.<sup>52</sup> Yine hücre içi kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) konsantrasyonunu düzenleyen proteinlerin yüksek doz parasetamole bağlı bozulması sonucu hücre içinde  $Ca^{+2}$  'un aşırı birikmesi ve katabolik enzimlerin artmasıyla hücre ölümü olduğu gözlenmiştir.<sup>53-56</sup>

Parasetamol hem böbrek hem de karaciğerde metabolize olurken, nefrotoksisitenin böbrekteki glutatyon metabolitlerine bağlı olarak geliştiği, hepatotoksisiteden bağımsız olabileceğini bildiren çalışmalar vardır.<sup>57, 58</sup>

Gözleme dayalı çalışmalar; erişkinlerde tek bir seferde 10 gram veya 200 mg/kg'dan fazla, 24 saat içinde 10 gram veya 200 mg/kg'dan fazla, ya da en az 2 ardışık gün boyunca 24 saat içinde 6 gram veya 150 mg/kg'dan fazla parasetamol alımında toksik bir maruziyet düşülmesi gerektiğini göstermiştir.<sup>59</sup> 0-6 yaş grubundaki çocuklar parasetamolün hepatotoksik etkisine dayanıklıdır. Kan parasetamol düzeyine ve ilacın alımından sonra geçen süreye bakılarak hazırlanmış olan Rumack-Matthew nomogramı bize olası toksisite hakkında bilgi verir. Bu nomogram retrospektif toksisite incelemelerine dayanılarak hazırlanmıştır. Buna göre ilaç alımından sonraki 4. saatteki parasetamol düzeyi 200 µg/ml üzerinde olan hastaların hepatotoksisite riski %60, böbrek yetmezliği riski %1, mortalite riski %5 olarak hesaplanmıştır.<sup>59</sup> İlaç alımından sonra 4. saatte parasetamol düzeyi 150 µg/ml altında olan ve antidot tedavi almayan hastalarda bu değer güvenlik değeri olarak kabul edilir. 4. Saatte 150 µg/ml altında

serum parasetamol düzeyine sahip hastalarda ise hepatotoksisite riski %1 olup tüm hastaların komplikasyonsuz iyileşmesi beklenir.

Parasetamolün uzun süre kullanımının, analjezik nefropatisi riskini arttırdığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olgularının % 8-10'unun kronik parasetamol kullanımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.<sup>60</sup> Parasetamol seyrek de olsa ciltte ürtiker ve diğer alerjik döküntülere yol açabilir. Nadiren larenks ödemi ve bronkospazm yapabilir. Methemoglobinemi ve hemolitik anemi oluşturabilir.

#### **2.2.4. Parasetamol Toksisitesinde Teşhis**

Acil servislerde başvuran zehirlenme vakalarında alınan ilacın adı, miktarı ve geçen süre her zaman tam olarak bilinmemektedir. Bu durumda kolay erişilebilen bir ilaç olması nedeni ile sık karşılaşılan parasetamol toksisitesini doğrulamak için serum parasetamol düzeyi bakılabilir. Diğer zehirlenme türlerinden farklı olarak, ilk klinik bulgular spesifik değildir. Akut zehirlenmelerde oluşabilecek komplikasyonların ciddiyeti düşünülerek tanı doğrulanıp hemen tedaviye geçilmelidir. Ölçülen parasetamol düzeyi ilaç alımı sonrası geçen sürede göz önüne alınarak yine Rumack-Matthew nomogramında değerlendirilmelidir.<sup>59</sup>

#### **2.2.5. Parasetamol Toksisitesinde Klinik**

İnsanlarda parasetamol toksisitesinin klinik görünümü zamana bağlı olarak 4 evreye ayrılır.

Evre 1: Maruziyet sonrası ilk 24 saatlik evredir. Klinik olarak hastada iştahsızlık, mide bulantısı, kusma, kırgınlık gibi nonspesifik belirtiler mevcuttur. Hipokalemi de görülebilir ve ilk 4 saatteki yüksek asetaminofen düzeyi ile orantılıdır. Fakat mekanizması tam aydınlatılamamıştır.



Evre 2: Maruziyet sonrası 2-3. günlerdir. İştahsızlık, bulantı ve kusma düzelme gösterir. Yükselmiş serum transaminazları (aspartat aminotransferaz ve alanin amino transferaz) ile birlikte sağ üst kadran ağrısı ve hassasiyeti vardır. Hepatotoksisitenin klinik belirtileri oluşabilir. Tedavi edilmese dahi hafif-orta dereceli hepatotoksisiteli hastaların çoğu sekelsiz iyileşir.

Evre 3: Maruziyet sonrası 3 ila 4. günler arasındadır. Metabolik asidoz, koagülopati, böbrek yetmezliği, ensefalopati, tekrar başlayan gastrointestinal belirtiler (bulantı, kusma) mevcuttur. Şiddetli hepatotoksisite gelişmiş olan hastaların % 25'inde ve akut karaciğer yetmezliği olanların %50'sinden fazlasında akut tübüler nekroz ve dehidratasyona bağlı akut böbrek yetmezliği görülebilir. Bazı hastalar fulminan karaciğer yetmezliğine girer.

Evre 4: Maruziyet sonrası 5. günden itibaren olan dönemdir. Hastalarda tam düzelme olabileceği gibi çoklu organ yetmezliğine bağlı mortalite gelişebilir. İyileşme görülen hastalarda 1-3 ay sonunda karaciğer fonksiyon bozukluğu tamamen normale döner.

Alkolikler, kazanılmış immun yetmezliği olanlar gibi yetersiz glutatyon deposu olan kişiler ve indüklenmiş sitokrom P-450 enzim aktivitesine sahip hastalar (eş zamanlı antitüberküloz ve antikonvülzan ilaç alanlar) aşırı doz sonrasında parasetamole bağlı hepatotoksisite riski yüksek olan hastalardır. Çocuklarda ise parasetamol metabolizmasında hepatik sulfasyon yolu aktif olduğu için hepatotoksisite potansiyeli erişkinlerle kıyaslandığında daha düşüktür.<sup>61</sup>

### **2.2.6. Parasetamol Toksisitesinde Tedavi**

Genel zehirlenme vakalarında olduğu gibi parasetamol toksisitesinde de öncelikle hasta stabil hale getirilir. Genel resusitasyonda olduğu gibi uygun havayolu açıklığı, solunum kontrolü yapılır, dolaşım sağlanır.

Parasetamol toksisitesinin tedavisi gastrointestinal dekontaminasyon, antidotu olan asetilsisteinin (NAC) zamanında kullanımı ve destekleyici bakımdan ibarettir. Hastaya en kısa zamanda asetilsistein tedavisi başlanması hayat kurtarıcı olmaktadır. Serum parasetamol düzeyi bakılan hastalarda 10 µg/ml altında ise asetilsistein tedavisinin hemen başlanması önerilmez, hasta takip edilir.

Gastrointestinal dekontaminasyon, erken dönemde oral veya nasogastrik tüpten aktif kömür verilmesi ile olmaktadır. Kusturma için kullanılan ipeka şurubu antidot verilmesini geciktirdiği için önerilmemektedir. Mide lavajı ve tüm bağırsak irrigasyonu parasetamolün emilimi hızlı olduğu için önerilmez. Fakat trisiklik antidepresan veya sürekli salınlı kalsiyum kanal blokleri alımı gibi ek ilaç kullanımı varsa önerilir. Oral asetilsistein aktif kömür tarafından absorbe edilmesine rağmen, çoğu durumda aktif kömürün asetilsisteinin klinik etkinliğini azalttığına dair kanıt mevcut değildir.<sup>62</sup>

Parasetamol toksisitesinin engellenmesi ve tedavisinde temel nokta asetilsistein tedavisidir.<sup>59</sup> NAC; L-sisteinin amino grubuna asetil eklenmesiyle oluşan bir amino asit türevidir. Sülfidril grubu içerir. Çözünürlüğünün iyi olması nedeniyle klinikte sıklıkla bronşitli ve kistik fibrozisli hastalarda, pnömoni, sinüzit tedavisi, kronik obstrüktif akciğer hastalığında (KOA), mukolitik ilaç olarak ve çeşitli ilaçların oluşturduğu hepatotoksistede antidot olarak kullanılmaktadır.

Erken zehirlenmede (ilk 8 saat) asetilsistein, NAPQI'nın hepatik makromoleküllere bağlanmasını engelleyerek toksisiteyi engeller. Asetilsistein bu etkiyi glutasyon ve sülfat öncülü olarak işlev görerek veya NAPQI'ı parasetamole indirgeyerek oluşturur. Parasetamol alımından itibaren 24 saatten fazla zaman geçti ise asetilsistein, antioksidan etki yaparak, nötrofil infiltrasyonunu azaltarak, mikrodolaşımdaki kan akımını arttırarak veya dokulara oksijen sunumunu çoğaltarak hepatik nekrozu azaltmaktadır. Eğer parasetamol alımını takiben 8 saatten az sürede

asetilsistein tedavisine başlanırsa, hepatoselüler hasar oluşumu %100'e yakın oranda azalmaktadır. Tedaviye ne kadar geç başlanırsa hepatotoksisite riskinin o kadar arttığı görülmüştür. Parasetamol alımı sonrası 24 saat sonunda dahi asetilsistein tedavisine başlamanın, kontrollerle karşılaştırıldığında hepatotoksisite riskini düşürdüğü gözlenmiştir.<sup>6</sup> ABD'de kullanılan standart 72 saatlik oral asetilsistein rejimi 140 mg/kg yükleme dozunu takiben 4 saatte bir toplam 17 kez 70 mg/kg idame dozundan ibarettir.

Oral asetilsistein tedavisinin yan etkisi kokusuna ve tadına bağlı bulantı, kusmalardır. Bunu önlemek için meyve suyu ile sulandırılarak içilmesi veya antiemetik verilmesi önerilmektedir. Bazı durumlar için geliştirilen iv asetilsistein preparatları da vardır. Ancak bunlarında anaflaksi oluşturma potansiyelleri açısından kullanımları sınırlandırılmıştır. Anaflaksi riski iv kullanımdan sonra %4-17 arasında değişmektedir. Özellikle fulminan karaciğer hasarı gelişmiş hastalarda kullanımı oral asetilsisteine göre daha kolaydır. 20 saatlik bir tedavi protokolü vardır. Yükleme dozu iv olarak 150 mg/kg; 15 dakika-1 saat içinde verilirken idamede ilk 4 saatte 50 mg/kg infüzyon, sonraki 16 saatte 100 mg/kg 1000 ml %5'lik dextroz çözeltisi içinde verilir.

Parasetamol zehirlenmesinde NAC haricinde kullanılan ve araştırılan ilaçlar da mevcuttur. Metionin de bu ilaçlardan birisidir.<sup>63-67</sup> Metionin transsülfürasyon yolağının öncül molekülüdür ve bu yolağın son ürünü glutatyondur. Hücre içinde GSH'ın yenilenmesi ile etkili olur. Oral yoldan kullanılır. Oral aktif kömür kullanımında veya kusma GSH'ın etkinliğini azaltır. NAC gibi diğer hücre koruyucu mekanizmalarda rol oynar. NAC tedavisindeki gibi metionin tedavisinde de parasetamol alımından sonraki süre önemlidir.

Simetidin de parasetamol intoksikasyonlarında etkilidir. Özellikle NAC ile birlikte kullanımında hepatotoksisiteyi korumada aditif etkili olduğu saptanmasına

rağmen birçok ilaçla istenmeyen farmakokinetik etkisi nedeni ile artık pek kullanılmamaktadır.<sup>68</sup>

Metirapon 300 mg/kg dozunda farelerde denenmiştir. Parasetamolün hepatotoksik etkisini ortadan kaldırmıştır. Fakat kortizol üretimini azalttığı için kullanılmamaktadır.

Araştırılan maddelerden bir diğeri de fruktozdur. Sıçan, fare, hamster karaciğer kesitlerinde, izole hepatositlerde, doku kültürlerinde, mitokondri ve mikrozomda yapılan çalışmalar früktozun glikolitik adenozin-trifosfat (ATP) sağlmasına bağlı olarak parasetamolün oluşturduğu karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğunu ortaya koymuştur.

Yine hücre içi  $Ca^{+2}$  dengesindeki değişimlerin hasar oluşturmada temel mekanizma olduğuna dayanılarak  $Ca^{+2}$  kanal blokerleri parasetamolün oluşturacağı karaciğer hasarını önlemek amacı ile araştırılmaktadır.

Karaciğer transplantasyonu akut karaciğer hasarı gelişmiş hastalarda uygun şartlar sağlandığında mortalitenin önüne geçmek için yapılmaktadır.

### **2.3. Böbrek**

Böbrekler, karın arka duvarının en üst kısmında, diaphragmanın altında ve columna vertebralisin her iki yanında bulunurlar. Erişkinlerde vücut ağırlığının %0.4'ünü oluşturur. Buna karşılık böbreklerden, kalp debisinin %22'si kadar veya dakikada yaklaşık 1100 ml gibi bir kan akımı geçer. Bu fazla kan akımının sonucunda, vücut sıvı hacimleri ve madde yoğunluklarını düzenlemede gereken glomerüler filtrasyon hızı için yeterli plazma sağlanmaktadır. Böbreklerin en önemli görevleri plazmayı filtre ederek, oluşan filtrattan vücudun ihtiyacına göre maddeleri değişik hızda uzaklaştırmaktır. Vücut için gerekli maddeler kana geri emilirken, istenmeyen maddeler idrarla atılarak kandan uzaklaştırılır. Fonksiyonları arasında; kimyasal maddelerin ve

metabolik yıkım ürünlerinin, ilaçların ve hormon metabolitlerinin atılması, su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi, arteryel basıncın düzenlenmesi, asit-baz dengesinin düzenlenmesi, eritrosit yapımının düzenlenmesi, 1.25 dihidroksi vitamin D3 yapımının düzenlenmesi ve glikoz sentezi yer alır. <sup>69</sup>

### **2.3.1. Böbreğin Anatomisi**

Böbrekler retroperitoneal organlar olup, torakal 12. vertebra düzeyinden lomber 3. vertebra düzeyine kadar uzanırlar. Karaciğerin pozisyonu nedeni ile sağ böbrek sola göre biraz daha aşağıdadır. Böbreğin yetişkinlerdeki boyutları kişinin vücut yüzey alanıyla değişmekle birlikte yaklaşık olarak uzunluğu 12-13 cm, eni 6-7 cm ve kalınlığı 3 cm'dir. Ortalama ağırlığı 115-170 g'dır. <sup>70</sup> Sağ böbreğin ön yüzü yukarıda sağ böbrek üstü bezi, karaciğerin sağ lobu ile altta ise flexura coli dextra, duodenum ikinci bölümü ve ince bağırsak kıvrımları ile komşuluk yapar. Sol böbreğin ön yüzü sol böbrek üstü bezi, dalak, mide, pankreas, flexura coli sinistra, ince bağırsak kıvrımları ile komşuluk yapar. Her iki böbreğin arka yüzleri diaphragma, musculus (m.) psoas major, m. quadratus lumborum ve m. transversus abdominis ile komşudur.

Böbreği saran kılıflar dıştan içe doğru fascia renalis, capsula adiposa (perirenal yağ tabakası), capsula fibrosa adını alır. Bunlardan fascia renalis böbreği pozisyonunda tutan en önemli oluşumdur.

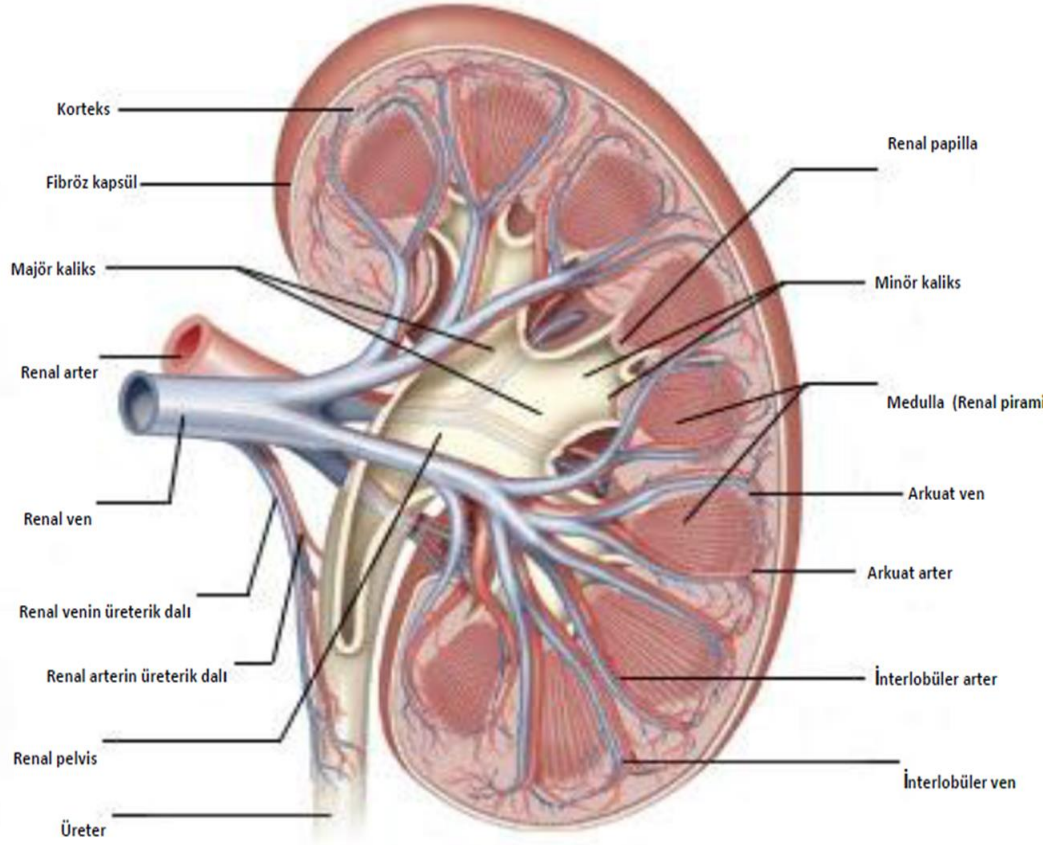
Böbrekler yapısal olarak cortex renalis, medulla renalis ve sinüs renalis bölümleri altında incelenir.

Medulla renalis 8-10 adet pyramis renalis (malpighi piramitleri) denilen yapıdan oluşur. Pyramis renalisler, basis pyramidis ve papilla renalis'ten oluşur, birbirine değmeyecek şekilde sinüs renalis etrafında dizilmişlerdir. Aralarında ise columna renalis (Bertini sütunları) bulunur. Papilla renalislerin 1-3'ü birleşerek calix renalis

minor'u, 2-3 calix minor birleşerek calix renalis major'u, bunlarda kendi aralarında birleşerek pelvis renalis'i oluşturur.

Cortex renalis ise papillalar hariç pyramis renalislerin her tarafını saran böbrek dokusudur. Burada corpusculum renale (malpighi cisimcikleri) ve idrar kanallarının bir bölümü bulunur. Sinüs renaliste ise pelvis renalisin üst bölümü, calix renalisler, böbrek damarları ve bunlar arasında yağ dokusu bulunur.

Arteria (a.) renalis, aorta abdominalis'ten ayrılarak böbreğe hilum bölgesinden girer. Önce a.segmentalis, a.interlobaris, a.arcuata, a.interlobularis ve sonunda afferent arteriyollere ayrılır. Afferent arteriyoller, plazma proteinleri dışında, çok miktarda su ve maddenin filtre edilerek idrar yapımının başladığı glomerüler kapillerleri meydana getirir. Her glomerül kapillerinin distal ucu biraraya gelerek, böbrek tübüllerini saran peritübüler kapiller denilen ikinci kapiller ağı oluşturan efferent arteriyolu yaparlar. Peritübüler kapillerler arteriyol damarlarına paralel seyreden venöz sistemin damarlarına boşalır. Sırası ile vena (v.) interlobularis, v.arcuata, v.interlobaris ve v.renalis oluşur.<sup>69</sup> Vena renalis de vena cava inferior'a dökülür.



Şekil 2.2. Böbreğin Anatomisi<sup>71</sup>

### 2.3.2. Böbreğin Fizyolojisi

Böbreğe gelen kanın filtre edilmesinde ve idrar oluşumunda görevli işlevsel birim nefronudur. İnsanda her böbrek bir milyon kadar nefrondan oluşur. Nefronlar yenilenemez bu nedenle böbrek hasarı, hastalık ve normal olarak yaşlanmada böbreklerdeki nefron sayısı azalma eğilimi gösterir.

Her nefron kandan büyük miktarda sıvının filtre olduğu glomerül adı verilen kapiller yumağı ve filtre edilen sıvının idrara dönüştüğü farklı bölümlerden oluşan uzun bir tübül sistemini içerir. Nefronların böbrekte yerleşimleri farklıdır. Kortekste bulunanlar korteks nefronları (henle kıvrımları kısadır), korteksin derininde medullaya yakın bölgede olanlar ise jukstamedullar nefronlar (henle kıvrımları uzundur) olarak adlandırılır. Jukstamedullar nefronların damar yapıları korteks nefronlarınıninkinden

farklıdır. Korteks nefronlarının bütün tübül sistemi yoğun bir peritübüler kapiller aç ile çevrenmiştir. Jukstamedullar nefronların glomerllerinden ayrılan uzun efferent arteriyoller dış medullaya kadar uzanır ve henle kıvrımı ile yanyana seyreden vasa recta denilen özel bir peritübüler kapiller aç oluşturur

Glomerül, diğer kapiller ağlar ile karşılaştırıldığında yüksek hidrostatik basınca sahip, dallanan ve anastomoz yapan kapiller bir ağdan oluşmuştur. Glomerül kapillerleri, epitel hücreleri ile örtülüdür ve tüm glomerül Bowmann kapsülü ile sarılmıştır. İdrar oluşumu glomerül kapillerlerinden fazla miktarda sıvının Bowmann kapsülüne filtrasyonu ile başlar. Glomerül kapillerlerinden proteinler geçemez bu nedenle glomerül filtratı eritrosit ve protein dâhil hücrenel elemanlar içermez. Tuzlar ve organik moleküller dâhil, plazmanın yapısındaki diğer maddelerin konsantrasyonu plazma ve glomerül filtratında benzerdir. Filtrat sonra böbrek korteksinde yer alan proximal tübül içine akar.

Proximal tübülde normalde filtre olan su ve sodyumun yaklaşık %65'i ile klorürün biraz daha az kısmı filtrat Henle kıvrımına ulaşmadan önce emilir. Proximal tübül yüksek bir aktif ve pasif geriemiлим kapasitesine sahiptir. Glikoz, aminoasitler, bikarbonat gibi bazı maddelerde hızlıca emilir. Ayrıca safra tuzları, oksalat, rat, katekolaminler gibi organik asit ve bazların da proximal tübül içine sekresyonları vardır. Oluşan filtrat proximal tübülden böbrek medullasının derinliklerine doğru inen Henle kıvrımına akar.

Henle kıvrımının bir inen kolu birde çıkan kolu vardır ve bu kısımların alt uçlarının duvarları çok incedir. Bu nedenle Henle kıvrımının inen ince kısmı olarak isimlendirilir ve duvarından maddelerin basit difüzyonla geçmesine olanak sağlar. Filtre olan suyun yaklaşık %20'si inen ince kısımdan geri emilir. Üre ve sodyum dâhil çözünmüş maddelerin çoğuna da orta derecede geçirgendir. Henle kıvrımının inen kolu



kortekse doğru dönüş yapar ve çıkan ince kol olarak devam eder burası suya geçirgen değildir ancak bir miktar sodyum klorür geri emilimi olur. Henle kıvrımının çıkan ince kolunun duvarı kalınlaşarak çıkan kalın kol olarak devam eder. Burası suya geçirgen değildir, buraya ulaşan filtrattan sodyum, potasyum, klorür, kalsiyum geri emilir. Çıkan kalın kolun sonunda duvarı özelleşmiş epitel hücrelerinden oluşan bir plak içeren makula densa denen kısım vardır. Makula densa, nefron fonksiyonunun kontrolünde önemlidir. Buradan sonra sıvı kortekste bulunan distal tübüle ulaşır. Distal tübül asit baz ve total su-sodyum dengelerinin korunmasında önemlidir. Distal tübülün başlangıç kısmında da çözülmüş maddeler geri emilime uğrarken su tübülde kalır. Distal tübülü, birleştirici tübül ve korteksin toplayıcı tübülü ile korteksin toplayıcı kanalı izler. Distal tübülün son kısmında ve kortekste toplayıcı tübüllerde su ADH (Antidiüretik Hormon) düzeyine göre geri emilime uğrar. Buradan sonra 8-10 adet korteks toplayıcı kanalının başlangıç kısımları birleşerek medullada bulunan medullanın toplayıcı kanallarını oluştururlar. Toplayıcı kanallar birleşerek ve genişleyerek böbrek papillasının tepesi aracılığıyla renal pelvise boşalırlar. Renal pelvise gelen filtrat idrar halinde atılmak üzere üriner sisteme aktarılır.<sup>69</sup>

İki böbrek dakikada 125 ml filtrat üretir bunun 124 ml'si geri emilirken sadece 1 ml'lik kısmı idrar olarak kalikslere aktarılır. 24 saatte ortalama 1500 ml idrar üretimi gerçekleşir. İdrarla vücuttan uzaklaştırılan maddelerin, böbrekten atılma hızı glomerül filtrasyonu, maddenin böbrek tübülünden kana geri emilimi ve kandan maddelerin böbrek tübüllerine sekresyonu ile belirlenir. Bu işlemler ise vücudun gereksinimlerine göre düzenlenir.

### **2.3.3. Böbrek Fonksiyon Testleri**

Böbrek fonksiyonları glomerüller ve tübüler fonksiyonlar değerlendirilerek tespit edilir. Tübüler testler ile böbreklerin konsantre ve dilüe etme yetenekleri ölçülür ve

varsa renal fonksiyon bozukluğu erken dönemde tespit edilebilir. Rutin idrar analizi, idrarda  $\alpha$ 1-mikroglobulin, retinol bağlayıcı protein, gama glutamil transferaz (GGT),  $\beta$ 2-mikroglobulin, sodyum ( $\text{Na}^+$ ) düzeylerinin ölçümü gibi testler tübüler fonksiyon bozukluklarının incelenmesinde kullanılan yöntemlerdendir.<sup>72</sup>

GFR (Glomerüler Filtrasyon Hızı) tüm böbrek fonksiyonları içinde en önemlisidir. GFR'nin normal referans aralığı 70-145 mL/dak'dır. GFR ölçümü, glomerüllerde harabiyet olup olmadığının, varsa harabiyetinin derecesinin belirlenmesinde faydalıdır. Total GFR, fonksiyon gören bütün nefronların filtrasyon hızlarının toplamına eşittir. GFR hesaplanırken klirens formülleri kullanılır. Renal klirens, bir maddenin böbrekler tarafından belirli bir zamanda temizlendiği plazma hacmi olarak bilinir. Klirens ölçümünde çeşitli endojen ve ekzojen belirteçlerden faydalanılmaktadır. Endojen belirteçlere örnek olarak, kreatinin, üre ve düşük moleköl ağırlıklı proteinler; ekzojen belirteçlere ise inülin klirensi ve ioheksol klirensi örnek verilebilir.

GFR ölçülmesinde en sık kullanılan yöntem kreatinin klirensidir. Kreatinin daha çok iskelet kasındaki kreatin ve fosfokreatinden oluşur. Kreatin böbrekler, karaciğer ve pankreasta enzim aracılığıyla iki reaksiyon halinde sentezlenir. Kreatin, sentezlendikten sonra fosfokreatine dönüştürölmek üzere kan yoluyla kaslara ve beyine gider. Fosfokreatin ve kreatinin birbirlerine dönüşümü, kas kasılmasıyla ilgili metabolik olayların sonucunda oluşur. Kastaki serbest kreatin ve fosfokreatin toplamının belli bir oranı (% 1-2'si) spontan ve geri dönüşümsüz olarak anhidrit formu olan kreatinine dönüşür. Böylece her gün oluşun kreatinin, kas kitlesine orantılı olup günden güne fazla bir değişiklik göstermez. Serbest kreatinin, kreatin metabolizmasının atık bir ürünüdür, tüm vücut sıvılarında, sekresyonlarda bulunur ve serbest olarak glomerüler filtrasyona uğrar. Kreatinin, endojen olması ve vücut sıvılarında sabit bir hızla salınması nedeniyle

plazma düzeyleri dar sınırlar içindedir ve renal klirensi GFR'nin bir göstergesi olarak görülmektedir. Ölçümünde ise kan ve idrar örneği kullanılır.

Kandaki üre, kan üre azotu (BUN) olarak tanımlanır. Karaciğerde metabolize edilen amino asit miktarı artınca üre oluşumu ve BUN düzeyleri artmaktadır. Normalde oluşan fazla BUN ve ürenin böbreklerden atılması beklenir. Renal hasar geliştiğinde ise böbrekler bu fonksiyonunu yapamaz ve kanda düzeyleri yükselir. 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.<sup>73, 74</sup>

#### **2.3.4. Parasetamole Bağlı Nefrotoksisite**

Böbrekler, yüksek kan akımı, medüller interstisyumda toksinleri konsantre edebilme ve tübüler epitelde spesifik taşıyıcıların olması nedeniyle toksik zedelenmeye hassastır. Nefrotoksik metabolitler, renal perfüzyonu azaltıp, hücrelere oksijen taşınmasına engel olarak, hücresel oksijen ve ATP kullanımını artırarak ve direk mitokondrilerdeki enerji üretimini bozarak etki ederler.<sup>75</sup> Yine glutatyon tükenmesi ve lipid peroksidasyonunun bulunduğu oksidatif stres, kimyasallara bağlı nefrotoksisite nedeni olarak öne sürülmüştür.<sup>76</sup> Böbreklerden glomerüler filtrasyon ve aktif tübüler transportla atılan ilaçlar ise toksik etkilerini önce hücresel hasar oluşturarak ardından böbrek fonksiyonlarında bozulma yaparak gösterirler.<sup>77</sup> Parasetamol toksisitesi de ilacın karaciğerde ve ekstrahepatik dokularda metabolize edilmesi sonucu oluşmaktadır.<sup>78</sup>

Parasetamolün yüksek dozda kullanımının nefrotoksisiteye neden olduğu<sup>4</sup> ve akut tubuler nekrozla birlikteliği tespit edilmiştir.<sup>79-81</sup> Hastalardan alınan böbrek

biyopsilerinde toksinlerin proximal ve distal tübül epitel hücrelerinde nekroza sebep olduğu görülmüştür.<sup>82</sup>

Yetişkinlerde parasetamol terapötik dozlarda alındığında %63 glukuronidasyon, %34 oranında ise sulfasyonla metabolize edilir. Bu reaksiyonlar primer olarak karaciğerde gerçekleşirken, suda çözünen metabolitleri böbreklerden atılmaktadır. Terapötik dozlarda parasetamolün %5'ten az kısmı mikrozomal P-450 sistemi tarafından NAPQI'a okside edilir. NAPQI ise glutatyonla merkaptürik asite dönüşerek detoksifiye edilir. Yüksek doz parasetamol alımı durumunda glukuronidasyon ve sulfasyon reaksiyonlarının doyması sonucu mikrozomal P-450 sistemi devreye girer. Oluşan NAPQI'ın hepsi detoksifiye edilemez ve bu elektrofil ara ürün hücresel proteinlerdeki sülfidril ve glutatyon parçaları ile farklı maddeler oluşturur.<sup>8</sup> Bu süreç kaspasların ve lizozomal enzimlerin aktivasyonuna yol açar, apoptozisi veya programlı hücre ölümünü başlatır sonuç olarak da hemostaz bozulur. Bu durum hayvan modellerinde, böbrek ve karaciğer dokularında gösterilmiştir. Hücre ölümü sonuçta doku nekrozuna ve organ disfonksiyonuna neden olmaktadır.<sup>83, 84</sup> Parasetamol toksisitesi mekanizması karaciğerde iyi bir şekilde açıklanmıştır. Buna karşın böbrekteki mekanizma net değildir. Farklı çalışmalardaki verilere dayanılarak farklı potansiyel mekanizmalar üzerinde durulmaktadır. Bunlar arasında prostaglandin sentetaz ve N- deasetilaz enzimlerinin olduğu sitokrom P-450 sistemi bulunur.<sup>85</sup>

Prostaglandin endoperoksit sentetaz (PGES), böbrekte bulunur ve parasetamolü NAPQI gibi toksik metabolitlerine etkinleştirir. Bu işlem daha çok böbrek medullasında olur. Sitokrom P-450 sistemi ise kortekste önemli role sahiptir. Böbrekte biyotransformasyonda CYP2E1 izoenzimi görevlidir. Bu iki enzim sistemi toksisitede metabolitlerinin selüler proteinlere kovalent bağlanması, hücre ölümü ve doku nekrozu ile sonlanır.<sup>5</sup>

N-deasetilaz, parasetamole bağlı renal hasardan sorumlu tutulmaktadır. Bu enzim parasetamol veya NAPQI üzerine etki eder, substratını p-aminofenole deasetiller ve toksik olan bu metabolit selüler proteinlere bağlanarak toksik etki oluşturur. Bu işlem CYP-450 enzim sistemleri ile etkileşim halinde oluşabilir.<sup>86</sup>

Glutasyon, parasetamol ve metabolitlerinin detoksifikasyonunda önemli role sahiptir. Glutasyon konjugatları nefrotoksik bileşikler olarak düşünölmektedir.<sup>9</sup> Hayvan modelleri, parasetamolle indüklenen nefrotoksisitenin, bu konjugatların transportunun sağlanması veya metabolizmalarının inhibe edilmesi ile azaltılabileceğini göstermektedir. Fakat renal hasarın direkt ya NAPQI-glutasyon konjugatlarına ya da metabolitlerinden birine karşı gelişip gelişmediği tam olarak belirlenememiştir. Başka bir olasılık ise bu metabolitlerin glutasyon tükenmesi yapabileceğidir. Parasetamol-Sistein konjugasyonlarının da parasetamole bağlı renal toksisiteyi ağırlaştırdığı belirlenmiştir.<sup>9, 87</sup> Sonuç olarak oluşan konjugatların veya glutasyon tükenmesinin, radikal birikimine neden olarak oksidatif hasarı arttırdığı ileri sürölmüştür ve antioksidanların etkisi üzerinde durulmuştur.

NAC, parasetamole bağlı hepatotoksisitede etkin bir ilaç olarak kullanılmaktadır, nefrotoksisite tedavisinde de kullanmasına rağmen net etkisi tartışmalıdır. Parasetamole bağlı nefrotoksisitede birçok mekanizmanın olması, NAC tedavisine alternatif olarak farklı tedavilerin denenmesini mümkün kılmaktadır.

Çermik ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada, parasetamole bağlı nefrotoksisitede hiperbarik oksijen ve NAC tedavisinin biyokimyasal ve inflamatuvar sitokinler üzerindeki etkisinden yola çıkarak, sadece NAC verilen gruba oranla daha iyi düzelme gösterdiğini gözlemlemişlerdir.<sup>13</sup>

Uçar ve arkadaşları yaptıkları başka bir çalışmada ise ratlarda NAC ve ozon terapisi uygulamasının sadece NAC terapisine kıyasla daha iyi sonuç verdiğini gözlemlemişlerdir.<sup>10</sup>

Zhau ve arkadaşları, parasetamole bağlı hepatotoksisite ve nefrotoksisitede serbest radikallerle gelişen oksidatif stresin oluşturduğu hasarda *Rheum officinale* bitkisinden elde edilen rhein molekülünü denemişler ve hasarı sınırlayabildiğini gözlemlemişlerdir.<sup>88</sup>

Antioksidan etkileri olan Timokinon da, ratlarda parasetamolün neden olduğu nefrotoksisitede Aycan ve ark. tarafından etkili olabileceği öngörülen bir moleküldür.<sup>89</sup>

### **2.3.5. Antioksidanlar**

Antioksidan savunma mekanizmaları, aerobik hücre metabolizması sonucu sürekli oluşan serbest radikallerin dengede tutulmasını sağlayarak, hücrenin yapısı ile fonksiyonlarını korurlar. En önemli serbest radikaller oksijenden oluşur. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) gibi radikal olmayan ancak etkileri sebebiyle kimyasal aktiviteleri yüksek reaktif oksijen bileşikleri de vardır.<sup>90</sup> Başlıca reaktif oksijen bileşikleri; süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijendir. Ayrıca normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı, sigara dumanı, yaşlanma, iyonizan radyasyon, nitrojen dioksit, ozon, azot protoksit, güneş ışığı, ısı şoku ve glutatyon oksitleyen maddeler gibi eksojen faktörler serbest oksijen oluşumunu artırır. Parasetamol ve karbon tetraklorür gibi bazı ilaçların oksidasyonu sırasında veya redoks döngüsü yapan doksorubisin, alloksan ve paraquat gibi maddelerin yıkımı sırasında da bu radikaller oluşur.<sup>91</sup> Oluşan bu radikaller, hücrelerin protein, lipid, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi önemli bileşiklerini etkilerler.

Lipidler, serbest radikallerin etkilerine karşı hassas biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle

tepkimeye girer böylece peroksidasyon ürünleri oluşturur. Özellikle süperoksit radikali ve hidroksil radikali sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonuna yol açar, bu da membran permeabilitesinin artmasına neden olur. Oluşan lipid peroksitler (LOOH), iltihap hücrelerine karşı kemotaktik oldukları için bu hücreleri dokuya çekerek inflamatuvar reaksiyon oluştururlar.

Proteinler, serbest radikallerin etkisine poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastır. Doymamış bağ ve kükürt bulunduran triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlerin bulunduğu proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenir ve tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremez hale gelirler. İyonizan radyasyonla oluşan serbest radikallerin ise DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ile ölüme neden olduğu bilinmektedir ve bunun en ciddi hasar tipi olduğu düşünülmektedir.<sup>92</sup>

Serbest radikallerin, canlıda yapımı ve ortadan kaldırılması bir denge halindedir. Patolojik olaylar sırasında hücrede aşırı miktarda reaktif oksijen radikali oluşup bu dengenin bozulması 'oksidatif stres' olarak adlandırılır ve doku hasarına sebep olur. Antioksidan savunma mekanizmalarının başlıcaları; radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidan maddeler, radikalleri daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri ve radikallerin oluşmasını önleyen, oluşumu halinde yayılımını engelleyen sistemlerdir.

### **Antioksidan Maddeler**

Vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları şeklinde sınıflandırılabilirler. Vitamin E ( $\alpha$ - tokoferol), askorbik asit (vitamin C),  $\beta$ -karoten ve folik asit (folat) vitamin olan antioksidanlardır. Ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, vitamin E analogları, rekombinant süperoksit dismutaz, endojen antioksidan aktiviteyi arttıranlar,

nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar, demir redoks döngüsü inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, tümör nekroz faktör ve interlökin gibi sitokinler , barbitüratlar ve demir şelatörleri ise ilaç olarak kullanılan antioksidanlardır. Mukus, albümin, taurin ve ürik asit gibi farklı antioksidanlar da vardır.

### **Serbest Radikal Oluşmasını ve Yayılmasını Önleyen Sistemler**

Hidrojen peroksit ve süperoksit anyonundan hidroksil radikali oluşmasını sağlayan reaksiyonu katalize eden demir ve bakır iyonunu hücre ve plazmada bağlayan seruloplazmin, transferrin, ferritin, laktoferrin, ile mitokondrilerde fizyolojik olarak oluşan radikalleri suya indirgeyen mitokondriyel sitokrom oksidaz, reaktif oksijen radikallerinin oluşmasını ve oluşanın yayılmasını engelleyen sistemler arasındadır.

### **Antioksidan Enzim Sistemleri**

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon redoks siklus enzimlerinden, glutatyon peroksitaz (GSH-Px), GSH redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleridir.

#### **2.3.5.1. Süper Oksit Dismutaz**

Süperoksit radikallerinin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eder. Meydana gelen  $H_2O_2$ , az miktarda ise indirgenmiş GSH-Px tarafından suya ve Oksijene dönüştürülerek, eğer fazla miktarda ise katalaz enzimi devreye girerek aynı şekilde yok edilir. Eğer yok edilemezse vücutteki demir ve bakır iyonları tarafından hidroksil radikale dönüştürülür.

#### **2.3.5.2. Glutatyon**

İndirgenmiş glutatyon, hücrelerde (özellikle karaciğerde) sistein, glisin, glutamik asitten sentezlenen bir tripeptit olup reaktif oksijen radikallerini ya doğrudan ya da enzimatik olarak yakalar. Enzimatik ve enzim dışı antioksidan mekanizmalar genellikle



tek başlarına değil birbirleri ile etkileşim halinde çalışır ve dokuları oksidatif hasardan korumaya çalışır.

Hepatik hasar, renal hasar, kardiyak hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, pulmoner hastalıklar ve kanser gibi hastalıklardan serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır.<sup>93, 94</sup> GSH ve SOD'un dokulardaki aktivitelerinin ölçümleri, deneysel çalışmalarda serbest oksijen radikallerine bağlı oluşan oksidatif stresin yaptığı hasarı ve tedaviye verilen yanıtı değerlendirmede belirteç olarak kullanılmaktadır.<sup>95, 96</sup>

### **2.3.5.3. Malondialdehit**

Süperoksit radikali ve hidroksil radikali mitokondri, nükleus, sitoplazma ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Bu da membran permeabilitesinin artmasına neden olur. Oluşan LOOH, iltihap hücrelerine karşı kemotaktik oldukları için bu hücreleri dokuya çekerek inflamatuvar reaksiyon oluştururlar. LOOH'ın yıkılmasına bağlı çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu ile malondialdehit (MDA) oluşur. MDA kanda ve idrarda bulunup, lipid peroksidasyonunun seviyesiyle korelasyon gösterir. Bu nedenle MDA düzeyi lipid peroksit seviyelerinin göstergesi olarak kullanılır.<sup>97, 98</sup>

### **2.3.6. Sitokinler**

Sitokinler, immun sistem hücreleri tarafından inflamasyon olayı sırasında sentez edilip, çevrelerine salınan lokal etkili özel peptid veya protein yapılı inflamasyon mediyatörleridir. Lokal etki ile salgılandıkları hücreleri (otokrin etki) ve/veya yakın çevrelerindeki diğer hücreleri etkilerler (parakrin etki). Sitokinler hedef hücreleri, yüzeylerindeki kendilerine özgü reseptörleri uyararak etkilerler. Bu reseptörler kinazla ilişkili reseptör tipindedir ve aktivasyonları ile hedef hücrelerde belirli genlerin ekspresyonunu arttırarak inflamasyon olayında diğer sitokinlerle sinerjistik, bazende

antagonistik etkileşim yaparlar. Sitokinler yapı özelliklerine ve işlevlerine göre sınıflara ayrılırlar: İnterlökinler, kemokinler, interferonlar, koloni stimule edici faktörler (KSF/CSF), büyüme (BF/GF) ve tümör nekroz faktörleri.

### **2.3.6.1. Tümör Büyüme Faktörleri (Transforming Growth Factor, TGF)**

TGF $\alpha$  ve TGF $\beta$  olarak 2 grupta incelenir. TGF $\alpha$  makrofajlarda, beyin hücrelerinde ve keratinositlerde üretilir, bazı kanserlerde yükseldiği gözlenmiştir. TGF $\beta$  ise TGF $\beta_1$ , TGF $\beta_2$  ve TGF $\beta_3$  olarak üçe ayrılır. Antiproliferatif,<sup>99</sup> proapoptotik,<sup>100</sup> anti-inflamatuvar<sup>101</sup> etkileri olduğu bilinmektedir. Bunlardan TGF $\beta_1$  immun sistem kontrolünde önemli role sahiptir ve immun sistem hücrelerinin bazılarında (lökosit gibi) salınır.<sup>102</sup> Bazı T hücreleri, diğer T hücrelerinin etkilerinin inhibe etmesi için TGF $\beta_1$  salgılar. Ayrıca TGF $\beta_1$  farklı interlokinlerin, interferon- $\gamma$  içeren sitokinlerin ve TNF- $\alpha$ 'nın salınmasını ve etkilerini inhibe edebilir. Serotoninin sıçan mezengiyal hücrelerinde TGF- $\beta_1$  mRNA ekspresyonunu ve fibrozisi arttırdığı düşünülmektedir.<sup>103</sup>

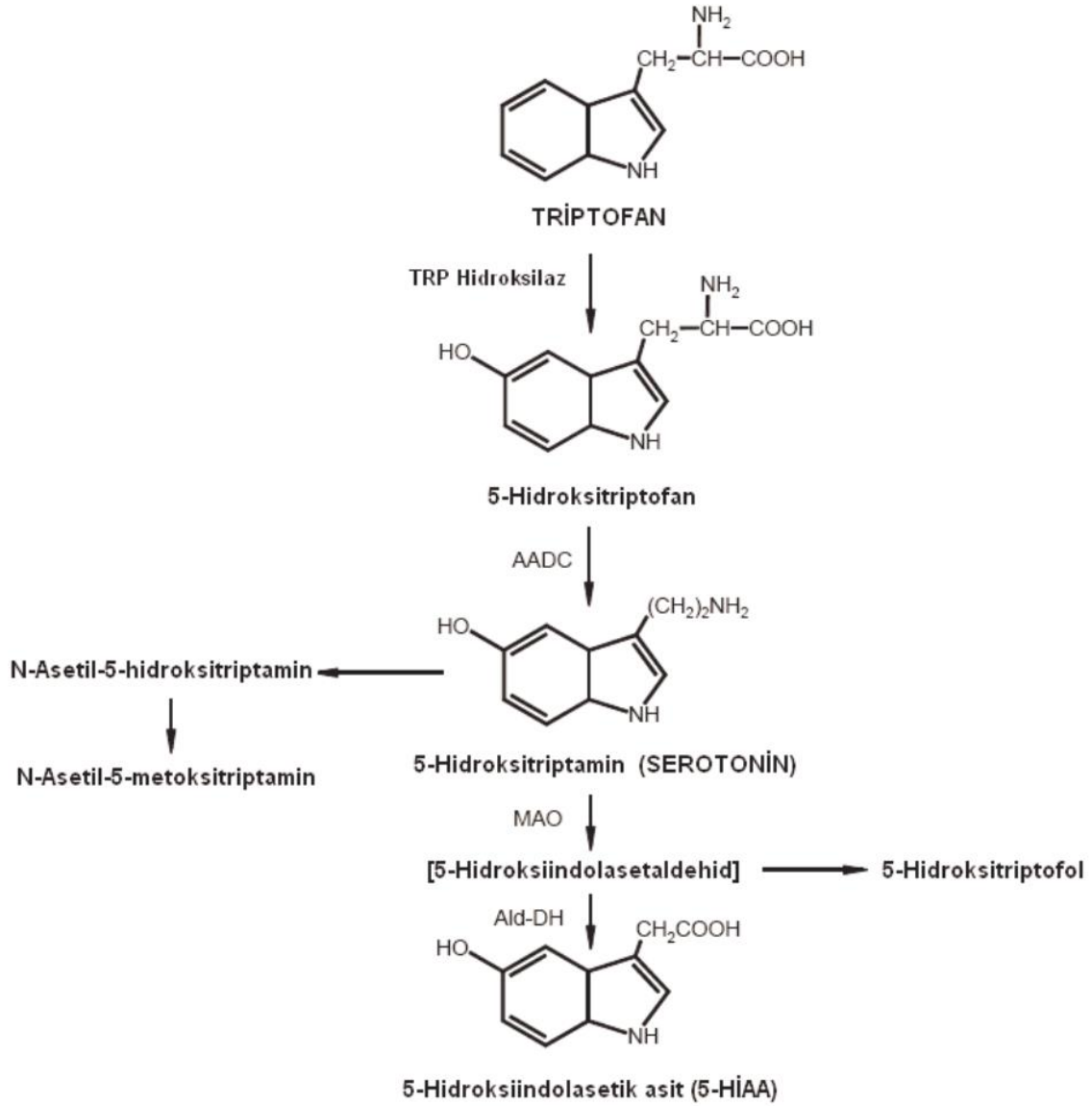
### **2.3.6.2. Tümör Nekroz Faktör Alfa**

TNF- $\alpha$  aktive olmuş monositler ve makrofajlardan salgılanan proinflamatuvar bir sitokindir. Kaşektin olarak da bilinir. İnflamatuvar yanıtta çeşitli hücrelerden salınımının arttığı, interlökin-1 ile birlikte ya da ayrı ayrı sistemik inflamasyonu tetikleyerek ateş gibi belirtilerin ortaya çıkmasına neden olduğu bilinmektedir. Nötrofil ve monositler için kemotaktik etkiye sahiptir. Karaciğerde akut faz yanıtını uyardığı ve C-reaktif proteinin artmasına neden olduğu gösterilmiştir. İnflamatuvar yanıtta etkili olan bu sitokinler deneysel modellerde belirteç olarak kullanılabilir.

Yakın zamanda cisplatinle yapılan bir nefrotoksisite çalışmasında renal hasarın erken ve geç dönemde yükselen farklı belirteçleri karşılaştırılmıştır. Bunlardan TNF $\alpha$  düzeyinin renal hasarın erken döneminde yükseldiği, TGF $\beta$  düzeyinin ise geç renal hasarda yükseldiği gözlenmiştir.<sup>104</sup>

## 2.4. Serotonin

Serotonin ilk olarak 1937'de Erspamer ve ekibi tarafından enterokromaffin hücrelerde bulunup, enteramine adı ile hayatımıza girmiştir.<sup>105</sup> Birkaç yıl sonra serumda tespit edilen (sero) ve vasokonstriktör (tonin) etkisi de bulunan bu madde serotonin olarak adlandırılmıştır.<sup>106, 107</sup> İlerleyen süreçte beyinde de tespit edilen 5-hidroksitriptamin ve serotoninin (5-HT) aynı madde olduğu anlaşılmıştır.<sup>108, 109</sup> Serotonin, diğer adıyla 5-hidroksitriptaminin, kimyasal formülü  $C_{10}H_{12}N_2O$ 'dur. Sentezi esansiyel bir aminoasit olan triptofanın besinlerle alınması ile başlar. Bunun yaklaşık %10 kadarı 5-HT sentezinde kullanılırken kalan kısmı kinureinlerin sentezi için gereklidir. Triptofan 5 numaralı karbonundan Triptofan hidroksilaz (TPH) enzimi ile hidroksillenerek 5-hidroksitriptofan oluşur bu da aromatik L-amino asid dekarboksilaz (dopa dekarboksilaz) ile katalizlenerek iki basamakta 5-HT meydana gelir. Monoaminoksidaz enzimi tarafından 5-hidroksi-indol-asetik aside (5-HIAA) dönüştürülerek metabolize edilir (Şekil 2.4).



**Şekil 2.3.** Serotonin metabolizması<sup>110</sup>

İnsan vücudunda toplam 10 mg kadar 5-HT bulunduğu bunun %95'inin mide ve barsak mukozası enterokromafin hücrelerinde, daha az oranda ise oradaki enterik mast hücrelerinde ve serotonerjik nöronlarda olduğu tespit edilmiştir. Yine mide-barsak çeperindeki enterik sinir sistemini oluşturan myenterik plexus ve submukozal plexustaki nöronların bir kısmı serotonerjik nöronlardır. Mide-barsak dışında kalan 5-HT'nin büyük kısmı ise kanda trombositler içinde ve SSS'de bulunur.<sup>111</sup>

Serotonin depresyon, anksiyete, sosyal fobi, şizofreni, obsesif kompulsif bozukluk, panik bozukluk, migren, hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon, yeme

bozuklukları, kusma, irritabl barsak sendromu gibi hastalıklardan sorumlu tutulmuştur.<sup>112</sup> Ayrıca kardiyovasküler regülasyonda, termoregülasyonda, uyku-uyanma sirkülasyonunda, beslenme, saldırganlık, seksüel tavır, öğrenme gibi durumlarda etkileri araştırılmaktadır.<sup>113</sup> Serotonin ilaç olarak kullanılmaz. Etkileri, reseptörlerinin agonist ve antagonistleri aracılığı ile oluşturulur.

#### **2.4.1. Serotonin Reseptörleri**

Serotonin reseptörleri 1957'de guine pig ileumunun morfin ve dibenziline verdiği fonksiyonel cevaba göre sınıflandırılarak M ve D olarak 2 gruba ayrılmıştır.<sup>114</sup> Farmakolojik, elektrofizyolojik, DNA klonlaması, radyoligand bağlama gibi yeni deneysel yöntemlerin denenmesi ile serotonin reseptörlerinin günümüzde 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub> ve 5-HT<sub>7</sub> olmak üzere 7 tip ve bazı grupların alttipleri tanımlanmıştır.<sup>115, 116</sup> Bu hali ile en geniş nörotransmitter reseptör ailelerindedir. Dolayısıyla birçok fizyolojik ve patolojik olayda suçlanmaktadır.

5-HT beyinde ve periferde etkilerini, membrana bağlı bu reseptörlerin aktivasyonu ile gelişen hücre içi olaylar sonucu gösterir. 5-HT reseptörleri (5-HTR) 5-HT<sub>3</sub> reseptörü hariç genelde bir G proteinine kenetli heptahelikal reseptörlerdir. 5-HT<sub>3</sub> reseptörü ise bir iyon kanalı aracılığı ile çalışır.

5-HT<sub>1</sub> reseptörlerinin 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub> ve 5-HT<sub>1F</sub> olmak üzere 5 alttipi vardır. 5-HT<sub>1C</sub> reseptörü ise 5-HT<sub>2C</sub> ile beraber sınıflandırılmış olup en çok çalışma yapılan ve en iyi tanımlanan gruptur. 5-HT<sub>1A</sub> reseptörleri genellikle SSS'de bulunurlar, kardiyovasküler sistemde etkilerine rastlanmamıştır.<sup>117</sup> 5-HT<sub>1B</sub> reseptörü SSS'de serotonerjik nöronların uçlarında bulunur ve serotonin salınımının otoregülasyonunda görevlidir. Duygudurum, motor fonksiyonlar ve bilinç durumu ile ilişkilendirilmiştir.<sup>118, 119</sup> Ayrıca insan koroner arterlerinin,<sup>23</sup> pulmoner arterlerin,<sup>120</sup> serebral arterlerin,<sup>121</sup> diğer kan damarlarının ve farklı türlerin<sup>122</sup> kan damarlarının düz

kas tabakasında bulunarak serotoninle uyarılan vasokonstriksiyona aracılık ettiği gösterilmiştir. Endotelial hücrelerde bulunan 5-HT<sub>1B</sub> reseptörünün stimülasyonu ile ise nitrik oksit (NO) bağımlı vasodilatasyon oluştuğu düşünülmektedir.<sup>115</sup>

5-HT<sub>2</sub> reseptörleri 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> ve 5-HT<sub>2C</sub> olarak 3 farklı alttipten oluşur. Bir çalışmada insan pulmoner arteri ve aortun düz kas hücrelerinde 5-HT<sub>2A</sub> reseptörü mRNA'sı bulunmuştur.<sup>24</sup> 5-HT<sub>2A</sub> reseptörünün, serotoninin vasokonstriktör cevabına aracılık ettiği ve platelet agregasyonunda rol aldığı tespit edilmiştir.

5-HT<sub>3</sub> reseptör antagonistlerinin myokard enfarktüsündeki ağrıda klinik potansiyeli olabileceği düşünülmektedir.<sup>123</sup> Erişkin kalp atriyumlarında serotonin, 5-HT<sub>4</sub> reseptörlerinin stimülasyonu ile pozitif kronotropik ve inotropik etkiler oluştuğu gözlenmiştir.<sup>124</sup>

SSS ve kardiyovasküler sistemde etkileri fazlası ile çalışılan ve araştırılan serotonin ve reseptörleri daha farklı çalışma alanlarında da karşımıza çıkmaktadır. Osteoblast proliferasyonunda,<sup>125-127</sup> karaciğer rejenerasyonunda,<sup>128-130</sup> alyuvar proliferasyonunda,<sup>131, 132</sup> insülin salınımında<sup>133</sup> ve immün yanıtta<sup>134</sup> çalışmalar mevcuttur.

#### **2.4.2. 5-HT<sub>7</sub> Reseptörü**

5-HT<sub>7</sub> reseptörü serotonin reseptörlerinden en son keşfedilenidir. 1993'te farklı laboratuvarlarda fare,<sup>135</sup> sıçan,<sup>136-139</sup> guinea pig<sup>140</sup> ve insan<sup>141</sup> gibi 50'den fazla canlıda klonlanmıştır. İnsan 5-HT<sub>7</sub> reseptörü 445 aminoasitten oluşan bir proteindir. 39-53 % oranında 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, and 5-HT<sub>6</sub> reseptörleri ile homoloji gösterir. 5-HT<sub>7R</sub> geni 10.kromozomda q21–q2 bölgesinde lokalizedir.<sup>142</sup> Sıçanda 5-HT<sub>7(a), (b), (c), (e)R</sub> ve insanda 5-HT<sub>7(a), (b),(d)R</sub> gibi splice varyantları tanımlanmıştır.<sup>143</sup> 5-HT<sub>7</sub> reseptörü Gs-proteinler aracılığıyla adenilat siklaz üzerinden etkisini gösterir.<sup>138</sup> Santral sinir sistemi ve periferel dokulardan eksprese edilir. Santral sinir sisteminde talamus, hipotalamus

(suprakiazmatik nükleus dâhil), serebral korteks (piramidal ve GABAerjik nöronlarda), amigdala ve dorsal raphede bulunduğu gösterilmiştir.<sup>144, 145</sup> Serebellumda özellikle purkinje nöronlarında lokalizedir.<sup>146</sup> Periferde kan damarlarının özellikle pulmoner, koroner ve aort gibi<sup>23, 24</sup> düz kas hücrelerinde bulunurken, gastrointestinal sistemde peristaltizmle ilgili oldukları bulunmuştur.<sup>147</sup> 5-HT<sub>7</sub>'nin düz kas gevşemesindeki rolü göz önüne alınarak, irritabl barsak sendromu ve anjina gibi hastalıklarda kalıtımla ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür.<sup>148</sup> İnsan ve sıçan timus, dalak, periferik lenfositler ve mitojenle aktive dalak hücreleri gibi immun dokularında 5-HT<sub>7</sub> reseptör mRNA'sı gösterilmiştir. 5-HT<sub>7</sub> reseptör stimülasyonunun, 5-HT aracılığı ile T hücrelerinin aktivasyonuna ve fonksiyonlarına katkıda bulunabileceği yapılan çalışmalar arasındadır.<sup>149</sup> Bu çalışmalardan yola çıkarak bizde parasetamolle oluşturulan nefrotoksistide 5-HT<sub>7</sub> reseptörünün, immun cevapta rolü olabileceğini düşündük.

#### **2.4.3. 5-HT<sub>7</sub>R Agonist ve Antagonistleri**

Spesifik agonist, antagonist ve geni silinmiş farelerin kullanımı ile 5-HT<sub>7</sub>R'nin patolojik olaylardaki rolleri tanımlanmıştır.<sup>150</sup> Reseptör dağılım çalışmaları ve farmakolojik çalışmalar 5-HT<sub>7</sub>R'nin termoregülasyon ve sirkadiyen ritmin kontrolünde rolü olabileceğini göstermiştir.<sup>151-153</sup> 5-HT<sub>7</sub>R<sup>-/-</sup> fare ile yapılan çalışmalar 5-HT<sub>7</sub>R'nin öğrenme ve hafızada rolü olduğunu göstermiştir.<sup>145, 154, 155</sup> Pavlov'un öğrenme testi aracılığı ile hafızada 5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonistleri çalışılmıştır.<sup>156</sup> 5-HT<sub>7</sub>R agonistlerinin de yaşa bağlı hafıza azalması ve Alzheimer Hastalığında potansiyel kullanıma sahip olabileceği de belirtilmiştir.<sup>157</sup> Fakat sonradan yapılan çalışmalarda bu görüş değişmiştir.<sup>158</sup> Yapılan çalışmalarda 5-HT<sub>7</sub>R'nün depresyonda ve suprakiazmatik çekirdek nöronlarının modülasyonu ile uyğunun REM (rapid eye movement) döneminin aktivasyonuna etkisi gösterilmiştir.<sup>159, 160</sup> Selektif 5-HT<sub>7</sub>R ligandlarının ağrı, migren,

şizofreni, anksiyete, öğrenme bozuklukları ve inflamasyonda potansiyel terapötik etkilerini göstermiştir.<sup>145</sup>

Kim ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada 5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonistlerinin kolitte ve buna bağlı oluşan immun cevapta rollerini çalışarak, inflamatuvar barsak hastalığı gibi hastalıklarda etkileri olabileceğini öne sürmüşlerdir.<sup>161</sup>

Çadircı ve arkadaşları, sepsis çalışması ile inflamasyonda 5-HT<sub>7</sub> reseptör agonist (AS-19) ve antagonistlerinin (SB269970) etkilerini araştırmışlar, agonist kullanımının inflamatuvar cevabı azaltabileceğini göstermişlerdir.<sup>27</sup>

Albayrak ve arkadaşları, sıçanlarda karageninle oluşturulan pençe ödeminde indometazin, 5-HT<sub>7</sub> reseptör agonist (AS-19) ve antagonistlerinin (SB269970) etkilerini çalışmışlardır. Özellikle agonist verilen gruplarda antiinflamatuvar ve antioksidan etkiler olabileceğini gözlemlemişler ve inflamasyonda 5-HT<sub>7</sub> reseptörlerinin etkilerine dikkat çekmişlerdir.<sup>26</sup> Başka bir çalışmada ise parasetamolle indüklenen hepatotoksitede 5-HT<sub>7</sub> reseptörlerinin, agonistler (AS-19) ile uyarılması sonucu karaciğer hasarını azaltabileceğini göstermişlerdir.



### 3. MATERYAL VE METOT

Tez çalışması, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji Laboratuvarı, Kırıkkale Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı İmmünohistokimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda LEMALI hayvancılıktan temin edilen 20-30 gram ağırlığında 80 adet dişi fare kullanıldı. Deney süresince, farelere yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Standart Fare Yemi) verildi. Hayvanlar deneyden önce gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22 C<sup>0</sup>) barındırıldı ve beslendi. Çalışmalarımızın tüm aşamalarının Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 31.07.2014 tarih ve 36643897-130 sayılı yazısı ile etik kurallara uygun olduğu onaylanmıştır.

##### 3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve İlaçların Hazırlanışı

###### 3.1.2.1. Kullanılan İlaçlar

| Kullanılan İlaç                       | Firma          |
|---------------------------------------|----------------|
| Parasetamol                           | Sigma          |
| N-Asetilsistein                       | Bilim          |
| 5-HT <sub>7</sub> reseptör agonisti   | LP44 Sigma     |
| 5-HT <sub>7</sub> reseptörantagonisti | SB269970 Sigma |
| Tiyopental                            | İE ULAGAY      |

###### 3.1.2.2. İlaçların Hazırlanışı

Parasetamol: Çalışmada, 40 ml 1X'lik PBS (phosphate buffer saline) içinde %1'lik CMC (Karboksi Metil Selüloz) ile 800 mg parasetamol çözülerek, hafif

sıcaklıkta karıştırılarak hazırlandı. 400 mg/kg dozda olacak şekilde 0.5 ml oral yoldan gavaj yardımıyla verildi.

N-Asetil Sistein (NAC): 600 mg tek effervesan tablet NAC, 120 ml %0.9'luk NaCl çözeltisinde çözülerek 0.5 ml'sinde 2.5 mg NAC içeren çözelti hazırlandı. 25 gram hayvana 0.5 ml çözelti oral yoldan gavaj yardımıyla verildi. Böylece 100 mg/kg NAC verilmiş oldu.

5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti: LP44 için çözücü olarak distile su kullanıldı. 0.1 ml'sinde 0.1 mg madde olacak şekilde hazırlanıp, intraperitoneal olarak farenin ağırlığına ve grubuna göre hesaplanarak verildi (Örneğin 25 gram fare için 10 mg agonist grubunda 25 dizeyem). Bu maddenin daha önceki çalışmalarda kullanılan en yüksek dozu 10 mg/kg olduğu için agonist dozu 5 ve 10 mg/kg olarak seçildi.

5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti: SB269970 için DMSO kullanıldı. 0.1 ml'sinde 0.1 mg madde olacak şekilde hazırlanıp, intraperitoneal olarak farenin ağırlığına ve grubuna göre hesaplanarak verildi (Örneğin 25 gram fare için 10 mg antagonist grubunda 25 dizeyem). Bu maddenin daha önceki çalışmalarda kullanılan en yüksek dozu 20 mg/kg olduğu için antagonist dozu 10 ve 20 mg/kg olarak seçildi.<sup>162</sup>

Tiyopental: 50mg/kg dozda verildi

## **3.2. Metot**

### **3.2.1. Deney Planı**

Çalışmamızda bir sağlıklı grubu ve 7 deney grubu oluşturuldu. Her grupta 10 adet olmak üzere toplam 80 adet dişi fare kullanıldı. Deney öncesi tüm gruplar 16 saat aç bırakıldı. Deneye başlamadan önce tüm hayvanlar tartılarak aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine alındı.

Grup I Sağlıklı: 0.5 ml 1X PBS (% 1'lik CMC içeren), gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup II Parasetamol: 400 mg/kg dozda parasetamol 0.5 ml gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup III Parasetamol+NAC: 400 mg/kg dozda parasetamol 0.5 ml gavaj ile oral yoldan verildikten 1 saat sonra N-Asetil Sistein (NAC efervesan formu) 100 mg/kg dozda, gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup IV Parasetamol+Agonist 5 mg/kg: 400 mg/kg dozda parasetamol 0.5 ml gavaj ile oral yoldan verildikten 1 saat sonra agonist (5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti LP44) 5 mg/kg dozda intraperitoneal olarak verildi.

Grup V Parasetamol+ Agonist 10 mg/kg: 400 mg/kg dozda parasetamol 0.5 ml gavaj ile oral yoldan verildikten 1 saat sonra agonist (5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti LP44) 10 mg/kg dozda intraperitoneal olarak verildi.

Grup VI Parasetamol+Antagonist 10 mg/kg: 400 mg/kg dozda parasetamol verildikten 1 saat sonra antagonist (5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti SB269970) 10 mg/kg dozda intraperitoneal olarak verildi.

Grup VII Parasetamol+Antagonist 20 mg/kg: 400 mg/kg dozda parasetamol 0.5 ml gavaj ile oral yoldan verildikten 1 saat sonra antagonist (5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti SB269970) 20 mg/kg dozda intraperitoneal olarak verildi.

Grup VIII Parasetamol+Agonist 10 mg/kg+Antagonist 20 mg/kg: 400 mg/kg dozda 0.5 ml parasetamol gavaj ile oral yoldan verildikten 1 saat sonra agonist (5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti LP44) 10 mg/kg dozda, antagonist (5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti SB269970) 20 mg/kg dozda intraperitoneal olarak verildi.

Hayvanlar parasetamol verildikten 12 saat sonra tiyopental anestezisi altında öldürülerek böbrek ve kan örnekleri alındı. Herbir farenin böbreklerinden bir tanesi histopatolojik çalışma için % 10'luk nötral formaldehit çözeltisine konularak tespit

edildi. Diğer böbrekleri ise biyokimyasal analiz için ayrıldı ve fosfat tamponuna konularak -80° dondurucuda muhafaza edildi.

### **3.2.2. Biyokimyasal alışmalar**

Deney sonrası farelerden alınan kan örnekleri jelli biyokimyasal tüplere alınarak, +5°C'de soğutmalı santrifüjde santrifüjlenerek serum örnekleri elde edilip hemen alikoatlanarak -80°C'de saklandı. Kan alınmasını takiben, farelerden dokular hızlı bir şekilde alınıp sıvı azot altında hemen dondurularak, analizler yapılana kadar -80°C'de saklandı.

Antikoaglansız 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. Üre ve kreatinin düzeyleri cihaz tarafından otomatik olarak hesaplandı.

Her farenin 100 mg böbrek dokusu spesifik homojenat tamponunda, buz üzerinde Tissue Lyser ile homojenize edildi. Daha sonra kitteki direktiflere göre santrifüj edildi. Biyokimyasal alışmalar için her süpernatanttan SOD, MDA seviyeleri ve GSH seviyeleri manuel ölçüm metodlarıyla 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).

#### **Manuel SOD Enzim Aktivitesinin llmesi:**

Homojenat Tamponu: Fosfat Tamponu (50 mM pH 7.8 + 10 mM EDTA) veya PBS lm karışımı: Xantine (0.3 mM, 40 ml), EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) (0.6 mM, 20 ml), NTB (Nitro blue tetrazolium) (150 µM 0.00015 M, 20 ml),

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.4M,12ml), BSA(Bovine Serum Albumine)(1.2g/L)

XO(Xanthine oksidaz)(167 U/L)

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(Amonyum Sülfat) (2M, 2 ml)

SOD Standartları.

Deneyin prensibi: Bu metotta, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikalleri Tetrazolium'u indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamda meydana gelen indirgenme mavi-mor renk oluşturmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise Tetrazolium indirgenmesi tam olmayıp enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmakta, buradan aktivite hesabı yapılabilmektedir.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı,
2. 0.1 gram doku 1ml homojenat tamponu ile karıştırıldı,
3. 10 µl Triton x-100 ilave ederek homojenizatörde 1 dakika boyunca homojenize edildi,
4. 12000 rpm' de 15 dakika 4° C de santrifüjlendi,
5. Süpernatant (üstte kalan berrak kısım) enzim çözeltisi olarak kullanıldı.

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanıldı,
2. Her kuyuya ölçüm karışımından 200'er µl eklendi,
3. Standartlar hazırlanarak 50 µl standartlar sırasına eklendi,
4. Numune çözeltilerinden uygun kuyucuklara 50'şer µl eklendi,
5. Kör kuyusuna 50 µl homojenat tamponu eklendi,
6. Oda sıcaklığında herbir kuyucuğa 5'er µl XO eklendi,

7. İlk kuyucuğa XO eklendikten 20 dakika geçtikten sonra 560nm dalga boyunda absorbands ölçümü yapıldı.<sup>163</sup>

SOD aktivitesinin hesaplanması: Oluşan mavi-mor rengindeki formazon boyasındaki azalmanın absorbands miktarları 560 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan SOD stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin SOD aktivitesi, U/mg protein olarak tarif edildi. Her bir fareye ait doku 2 kez tekrar edilerek çalışıldı.

#### **Manuel Olarak Total GSH Tayini:**

Homojenat Tamponu: Tris-HCl (Tris-Hidroklorikasıit) (50 mM, pH 7.4) veya PBS

Ölçüm Tamponu: Tris-HCl (200 mM pH 8.2 + 0.2 mM EDTA)

DTNB (Ditiyobis Nitrobenzoik Asit) (10 mM)

GSH Standartları

GSH miktarının ölçülmesi ve prensibi: Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirildi. Ölçüm ortamındaki DTNB 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) disülfid bir kromojendir ve sülfhidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilir.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı,
2. 0.1 g doku üzerine 4.5 ml homojenat tamponu ilave edilerek homojenize edildi,

3. Homojenatlar, 12000 g 4 °C'de 10 dakika santrifüj edilir ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı.

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanıldı,
2. Ölçüm tamponundan her kuyuya 150'şer µl eklendi,
3. DTNB'den her kuyuya 10'ar µl eklendi,
4. Numunelerden 50'şer µl uygun kuyulara eklendi ve kısaca vortekslendi,
5. Standartlar uygun kuyulara 50'şer µl eklendi,
6. Kör kuyusuna 50 µl homojenat tamponu eklendi,
7. 30 dakika 37° C de inkübasyona bırakıldı ve
8. 412 nm dalga boyunda absorbans okundu.<sup>164</sup>

GSH miktarının hesaplanması: Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 96'luk well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir fareye ait doku 2 kez tekrar edilerek çalışıldı.

#### **Manuel Olarak MDA Tayini:**

Homojenat Tamponu: % 10'luk KCl (potasyum klorür) veya PBS

Ölçüm Tamponu:

% 8 SDS (Sodium dodesyl sulphate)

% 0.08 TBA (tiobarbütirikasit)

% 20 Asetik asit

Saf su

MDA Standartları 1.1.3.3-Tetraethoxypropane

MDA miktarının ölçülmesi ve prensibi: Asidik ortamdaki tiyobarbitürik asit ile 90-95 °C'de reaksiyona giren MDA, pembe renkli kromojen meydana getirir. 15 dakika kaynatıldıktan sonra hızla soğutulan numunelerin absorbansları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu.

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular sıvı azot altında homojenize edilmeden önce PBS ile yıkandı,
2. Sıvı azotla parçalanmış numuneler 100 mg tartıldı,
3. 0.1 g doku üzerine 1 ml homojenat tamponu ilave edilerek tissue lyser'da homojenize edildi,

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanıldı,
2. Tüm kuyulara 10µl SDS, 75 µl asetik asit, 75 µl TBA ve 20 µl saf su eklendi,
3. Numune kuyularına 20'şer µl uygun numunelerden eklendi,
4. Kör kuyusuna 20 µl homojenat tamponu eklendi,
5. Standartlar uygun kuyulara 20'şer µl eklendi,
6. Pipetlemeler yapıldıktan sonra plate, 105° C de bir buçuk saat inkübe edildi,
7. İnkübasyon sonunda plate,4000 rpm de, 4° C de, 15 dakika santrifüjlendi,
8. Süpernatant (üstte kalan berrak kısım) MDA çözeltisi olarak kullanıldı,
9. 532 nm dalga boyunda absorbans okundu.<sup>165</sup>

MDA miktarının hesaplanması: Oluşan pembe renk miktarları 532 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin MDA miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir fareye ait doku 2 kez tekrar edilerek çalışıldı.



### 3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

| <b>Cihazlar</b>           | <b>Modeli ve Firması</b>                        |
|---------------------------|---|
| 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               | KA- MS 3 basic, USA                             |
| Buzdolabı (-86 0C)        | Nuaire NU-9483E, USA                            |
| Derin Dondurucu           | Vestel BZP-XL3402W, Türkiye                     |
| Otomatik Multikanal Pipet | Eppendorf Research Pro (20-300µ)                |
| Pipet Seti                | Eppendorf Research Plus                         |
| Işık Mikroskobu           | Olympus BX-51                                   |
| RNA izolasyon cihazı      | Qiagen  |

### 3.2.3. Moleküler Çalışmalar

Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler:

-80°C’de saklanan dokular çıkarıldı. Her grubun böbrek dokusu sıvı azot ile öğütülerek -80°C’de saklandı. Havuz oluşturulan böbrek doku karışımlarından 20 mg tartıldı ve spesifik homojenat tamponunda, buz üzerinde Tissue Lyser ile homojenize edildi. Daha sonra santrifüj edildi. Süpernatantlar toplanarak mRNA izolasyonu işlemine tabi tutuldu. Saflaştırılan mRNA lardan cDNA sentezi yapıldı ve moleküler incelemeler için RT-PCR analizi yapıldı. Moleküler çalışmalar için RT-PCR analizinde

TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  ve 5-HT<sub>7</sub> ekspresyon analizi yapıldı. Bütün datalar her ng cDNA için ort  $\pm$  standart sapma olarak gösterildi.

### 3.2.3.1. Real Time PCR

#### RNA İzolasyonu:

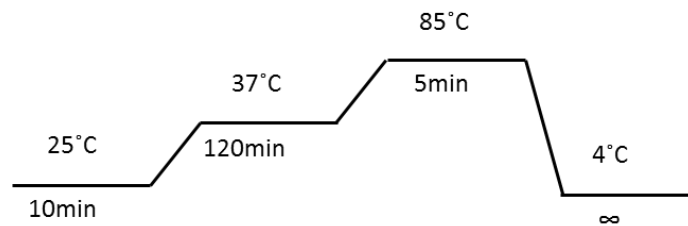
Doku örnekleri teker teker tartılarak RNeasy Mini Kit (Qiagen) kullanılarak Qiaquebe RNA izolasyon cihazında (Qiagen) total RNA izolasyonu aşamaları üreticinin tavsiye ettiği şekilde sürdürüldü. Total RNA izolasyonunu takiben mRNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) ile belirlendi.

#### Revers Transkriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi:

High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit enzimi kullanımı ile total RNA'dan cDNA sentezlendi. Her reaksiyon 10 $\mu$ l RNA ile gerçekleştirilerek cDNA sentezi aşağıdaki ısı değerlerine göre Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) ile sağlandı. cDNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) ile ölçüm belirlendi ve -20°C'de saklandı.

cDNA sentez reaksiyonu:

|                                   |             |
|-----------------------------------|-------------|
| total RNA                         | 10 $\mu$ l  |
| 10 X RT Buffer                    | 2 $\mu$ l   |
| 25 X dNTPs mix                    | 0,8 $\mu$ l |
| 10 X RT Random Primers            | 2 $\mu$ l   |
| MultiScribe Reverse Transcriptase | 1 $\mu$ l   |
| DEPC-H <sub>2</sub> O             | 4.2 $\mu$   |

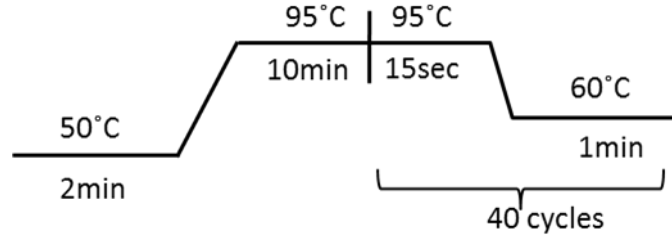


## **Real Time PCR ile 5-HT7 Reseptör mRNA Ekspresyonunun Kantitatif Olarak Belirlenmesi**

Rölatif Tnf- $\alpha$ , Tgf- $\beta$  ve 5-HT7 reseptör mRNA ekspresyonları fare böbrek dokularında StepOne Plus Real Time PCR System technology (Applied Biosystem) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. TaqMan bazlı ilgili genlerin primer problemleri Primer Design Ltd. firmasında dizayn ettirilip temin edildi (Southampton, UK). Tnf- $\alpha$  için sekans dizilimi f:AGC CAG GAG GGA GAA CAG A r:CAG TGA GTG AAA GGG ACA GAA C, Tgf- $\beta$  için f:TGG ACA CAC AGT ACA GCA AG r:GTA GTA GAC GAT GGG CAG TG, 5-HT7 reseptör için f:GACGCTCATCACGCTGCT r:CCA GGG ACA CAA TCA GGT AGT T,  $\beta$ -actin için f:TGGTGGGTATGGGTC AGA AG r:GACAATGCCGTGTTC AATGG'dir. Sonuçlar kontrol grubuna göre rölatif-kat olarak değerlendirildi. Endojen kontrol gen olarak  $\beta$ -actin kullanıldı ve her bir cDNA örneği için üç tekrar uygulandı. Real Time PCR reaksiyonu 96 kuyucuklu plaklarda 9  $\mu$ l cDNA (100 ng), 1  $\mu$ l Primer Perfect Probe miksi ve 10  $\mu$ l QuantiTect Probe PCR Master miksi (Qiagen, Hilden, Germany) olacak şekilde toplam reaksiyon volümü her bir kuyucukta 20  $\mu$ l'ye tamamlandı. -qPCR Hazırlanan reaksiyon plağı 2 dk 50°C, 10 dk 95 °C'de bir siklus ve 15 sn 94 °C, 60 sn 60 °C'de 40 siklus olacak şekilde yürütüldü. Tüm veriler kontrol grubuyla karşılaştırmalı şekilde  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  metoduna göre hesaplandı.<sup>166</sup>

|                   |            |
|-------------------|------------|
| cDNA (100ng)      | X $\mu$ l  |
| TaqMan Master Mix | 10 $\mu$ l |
| Assay             | 1 $\mu$ l  |

RNase free H<sub>2</sub>O ile 20  $\mu$ l'e tamamlandı.



### 3.2.4. Histopatolojik İncelemeler

#### 3.2.4.1. Işık Mikroskopik İşlemler

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında konvansiyonel ışık mikroskobu işlemleri gerçekleştirildi.

Tarifi yapılan gruplardaki farelerden alınan böbrek dokuları, kod numaraları verilerek, % 4'lük formaldehit içeren şişelere bırakıldı. 72 saat sonra aşağıda anlatılan sıra ile doku takip işlemlerine tabi tutuldu.

#### Doku Takip İşlemleri

- Akarsuda yıkama (4 saat)
- Artan derecelerde alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi yapılması

1. – %70'lik Alkolde (Merck)<sup>®</sup> 1 gece,
2. – %80'lik Alkolde 1 saat,
3. – %96'lık Alkolde 1 saat,
4. – %96'lık Alkolde 1 saat,
5. – %100'lük Alkolde 1 saat,
6. – %100'lük Alkolde 1 saat bekletildi.

- Ksilin serilerinden geçirilerek şeffaflaştırma işlemi yapılması

7. Ksilinde (Merck)<sup>®</sup> 10 dakika,
8. Ksilinde 10 dakika bekletildi.

- Parafin serilerinden geçirilerek infiltrasyon işlemi yapılması

9. Ksilen + boncuk parafin (Merck)® karışımında 60°C'lik etüvde 1 saat,

10. Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 1 saat,

11. Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 2 saat bekletildi.

○ Dokuların parafin bloklara gömülme işlemi

12. Dokular parafin bloklara gömüldü ve kesit alınması işlemlerine hazır hale getirildi.

○ Blokların kesilmesi

13. Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT) ile aynı hücreyi içerecek 5 µm'lik seri kesitler alındı.

Tüm doku blokundan 50 mikron aralıkla alınan 8 seri kesit elde edildi. Elde edilen bu seri kesitler H&E, histokimyasal boyaları ile boyanarak aynı kesit yüzeyine düşen aynı hücrenin karakteri belirlenmiş oldu. Tüm boyamaların mikroskopik fotoğrafları, grupların değerlendirmelerinin objektif olması için, aynı ışık ayarlarında çekildi.

### **Hematoksilen ve Eosin (H&E) Boyanma İşlemi**

1. Deparafinizasyon işlemi yapıldıktan sonra
2. Ksilolde (20 dak.) bekletme
3. Ksilolde (10 dak.) bekletme
4. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (5 dak.) bekletme
5. %80'lik Alkol (10 dak.) bekletme ve boyamadan önce akan suda yıkama
6. Hematoksilen boyasında (1 dak.) bekletme
7. Asit-Alkol karışımına batırılıp çıkarma
8. Eozin solüsyonunda (1 dak.) bekletme
9. Suda (1 dak.) yıkama
10. %80'lik Alkolde (10 dak.) bekletme

11. İki ayrı %96'lık Alkol serisinde (10 dak.) bekletme
12. Ksilol serilerinde (20 dak.) bekletme
13. Entellan ile kapatma işlemi yapıldı.
  - o Kesitlerden görüntü elde edilmesi

Gruplara ait kesitlerin fotoğraflar Olympus BH 40 marka kamera ataçmanlı ışık mikroskobu altında analiz edilerek çekildi.

### **3.2.5. İmmunohistokimyasal İncelemeler**

Kesitler bir gece 37°C'de kurutulduktan sonra 10'ar dakika iki kez ksilolde parafinden uzaklaştırıldı, %100'lük alkolden başlayarak distile suya kadar sırasıyla 10'ar dakika % 95 ve %70 alkollerde rehidrasyon yapıldı. Bütün aşamalar oda ısısında ve nemli ortamda yapıldı. Yıkamalarda ikişer kez Tris Tampon (pH 7.4) kullanıldı. Endojenez peroksidaz distile suda %3'lük hidrojen peroksit ile 5 dakika boyunca engellendi. Kesitler antijen retrieval solusyonu (Dako) ile 40 dakika boyunca kaynatıldı ve protein bloking solusyonu (Labvision; ultravision detection system) ile 5 dakika bloke edildi. Kesitler 50 dakika süresince Serotonin Reseptör 7 (HTR7) antikoru (Santa Cruz, SR-7, H-81) ile inkübe edildi, anti-mouse biotinlenmiş polivalent sekonder antikorla (Labvision; ultravision detection system,) 10 dakika ve sonra streptavidinperoksidaz enzimi (Labvision; ultravision detection system) ile 10 dakika inkübe edildi. Renk reaksiyonu için DAB kromojen kullanıldı. Distile suyla yıkadıktan sonra kesitler Mayer's hematoksilen ile 1-2 dakika karşıt boyama yapıldı. Distile suyla yıkadıktan sonra su bazlı yapıştırıcı ile kesitler kapatıldı. Kesitler Olympus BX-51 marka ışık mikroskobu altında DP25 kamera ataçmanı ile değerlendirildi. Skorumla, boyanma yoğunluğuna göre (- ) boyanma yok, (+ ) az, (++) normal, (+++) yoğun ve (++++) çok yoğun olmak üzere tubul epiteli, intersitisyel alan ve glomeruluslar için ayrı ayrı yapıldı.

### **3.3. İstatistiksel Analiz**

Deneylemlerden elde edilen sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. Her bir farklı harf diğer gruptan istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir. Aynı harfler anlamsız olduğunu göstermektedir. IBM SPSS Statistics kullanılarak veriler hesaplanmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyokimyasal Bulgular

#### 4.1.1. BUN ve Kreatinin Değerleri

**Tablo 4.1.** Fare serumunda ölçülen BUN ve Kreatinin sonuçları

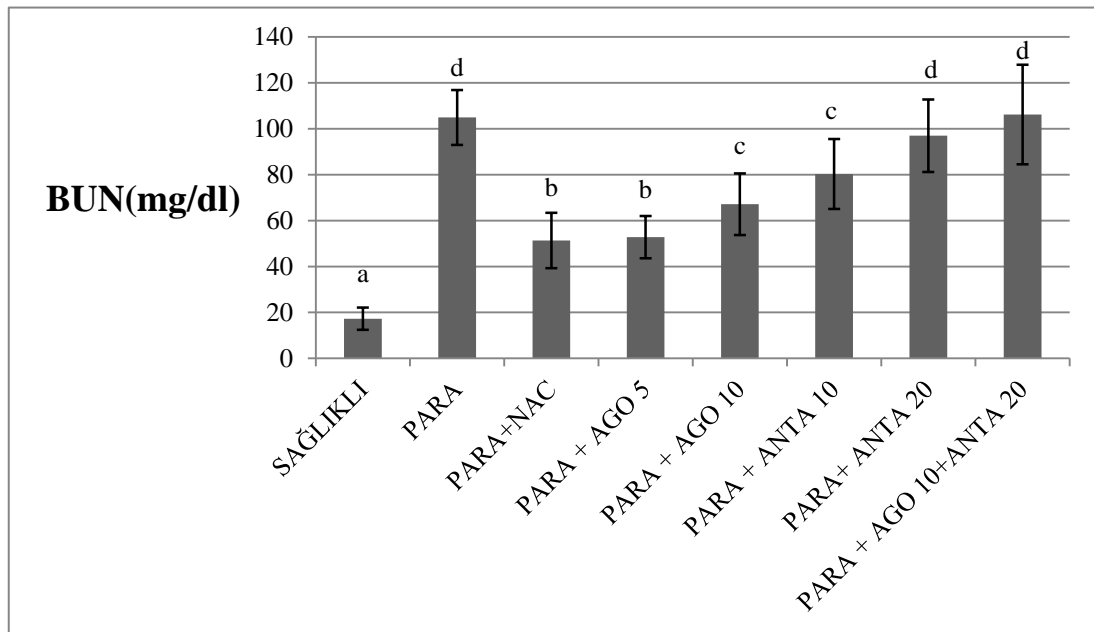
| GRUPLAR                          | BUN<br>(mg/dl)              | KREATİNİN<br>(mg/dl)       |
|----------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Sağlıklı                         | 17.25±4.85 <sup>a</sup>     | 0.44± 0.13 <sup>a</sup>    |
| Parasetamol                      | 104.93 ± 11.96 <sup>d</sup> | 1.08 ± 0.27 <sup>c</sup>   |
| PARA+NAC                         | 51.33 ± 12.08 <sup>b</sup>  | 0.71 ± 0.16 <sup>a,b</sup> |
| PARA+AGO 5mg/kg                  | 52.80 ± 9.22 <sup>b</sup>   | 0.67 ± 0.19 <sup>a,b</sup> |
| PARA+AGO 10mg/kg                 | 67.14 ± 13.43 <sup>c</sup>  | 0.76± 0.24 <sup>b</sup>    |
| PARA+ANTA 10mg/kg                | 80.31 ± 15.23 <sup>c</sup>  | 1.06± 0.34 <sup>c</sup>    |
| PARA+ANTA 20mg/kg                | 97.00 ± 15.79 <sup>d</sup>  | 1.24 ± 0.34 <sup>c</sup>   |
| PARA+AGO10mg/kg<br>+ANTA 20mg/kg | 106.20 ± 21.67 <sup>d</sup> | 1.11 ± 0.18 <sup>c</sup>   |

PARA: Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA: 5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti. Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre yapıldı. p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: Ortalama ± Standart Sapma) Aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur(p<0.05).

Deney gruplarında BUN sonuçları; Sağlıklı grupta 17.25 mg/dl, Parasetamol grubunda 104.93 mg/dl, PARA+NAC grubunda 51.33 mg/dl, PARA+AGO 5 mg/kg grubunda 52.8 mg/dl, PARA+AGO 10mg/kg grubunda 67.14 mg/dl, PARA+ANTA 10 mg/kg grubunda 80.31 mg/dl, PARA+ANTA 20mg/kg grubunda 97.00 mg/dl, PARA+AGO 10mg/kg +ANTA 20mg/kg grubunda 106.20 mg/dl olarak ölçüldü (Tablo 4.1). Gruplar arasında böbrek fonksiyonları bakımından serum BUN düzeyi Parasetamol grubunda, Sağlıklı gruba göre yükselmiş olarak gözlemlendi ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi. PARA+NAC grubu ile PARA+AGO 5 mg/kg



grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Parasetamol grubuna göre bu iki grubun BUN değerlerinde azalma vardır ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır. Yine bu iki grubun değerleri sağlıklı grubun değerlerine yakınlaşmıştır. PARA+AGO 10 mg/kg ve PARA+ANTA 10 mg/kg grubunun değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. PARA+ANTA 20mg/kg ve PARA+ AGO 10 mg/kg+ ANTA 20 mg/kg gruplarının sonuçları ise Parasetamol grubunun değerlerine yakın düzeydedir (Şekil 4.1).

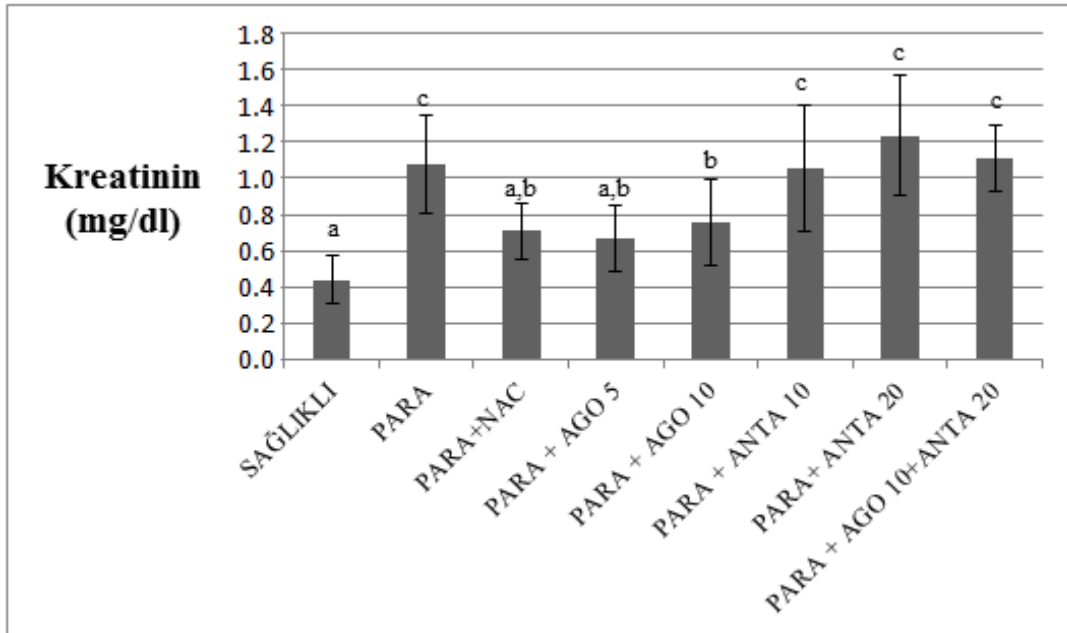


**Şekil 4.1.** Fare serumlarında ölçülen BUN düzeyinin grafikte gösterilmesi

PARA: Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur(p<0.05).

Deney gruplarında kreatinin sonuçları, Sağlıklı grupta 0.44 mg/dl, Parasetamol grubunda 1.08 mg/dl, PARA+NAC grubunda 0.71 mg/dl, PARA+AGO 5 mg/kg grubunda 0.67 mg/dl, PARA+AGO 10 mg/kg grubunda 0.76 mg/dl, PARA+ANTA 10 mg/kg grubunda 1.06 mg/dl, PARA+ANTA 20mg/kg grubunda 1.24 mg/dl, PARA+AGO 10mg/kg +ANTA 20mg/kg grubunda ise 1.11 mg/dl olarak ölçülmüştür. (Tablo 4.1) Bulgularımız sonucunda Parasetamol grubunun kreatinin düzeyleri, Sağlıklı

grubun değerlerine göre yükselmiştir ve anlamlı bir fark göstermektedir. PARA+NAC ve PARA+AGO 5 mg/kg grubunun bulguları benzer olup, Parasetamol grubunun değerlerine göre azalmıştır ve değerler sağlıklı gruba yakınlaşmıştır. PARA+AGO 10 mg/kg grubunun değerleri PARA+NAC ve PARA+AGO 5 mg/kg gruplarına yakın olup, Parasetamol grubuna göre anlamlı bir fark göstermiştir. PARA+ANTA 10mg/kg, PARA+ANTA 20mg/kg ve PARA+AGO 10mg/kg+ANTA 20mg/kg gruplarının kreatinin değerleride Parasetamol grubu ile yakın değerde olup, Sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş göstermiştir( $p<0.05$ ). (Şekil 4.2)



**Şekil 4.2.** Fare serumlarında ölçülen Kreatinin düzeyinin grafikte gösterilmesi  
 PARA:Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. ( $p<0.05$ )

Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede kullandığımız BUN ve kreatinin değerlerini kısaca yorumlarsak, Parasetamol verdiğimiz grupta toksisite modelimizin Sağlıklı gruba kıyaslama yaparsak oturduğunu söyleyebiliriz. Tedavi olarak kullandığımız ve ilaçlarımızın etkisini BUN ve kreatinin üzerinden karşılaştırdığımız NAC uygulamasının böbrek fonksiyonlarını bu iki değer üzerinden iyileştirdiğini

görmekteyiz. Agonist uygulamasının özellikle 5 mg/kg dozunda NAC tedavisine eşdeğer etki gösterdiğini, 10 mg/kg dozunda da yine etkili olduğunu görmekteyiz.

#### 4.1.2. SOD, GSH ve MDA Analizleri

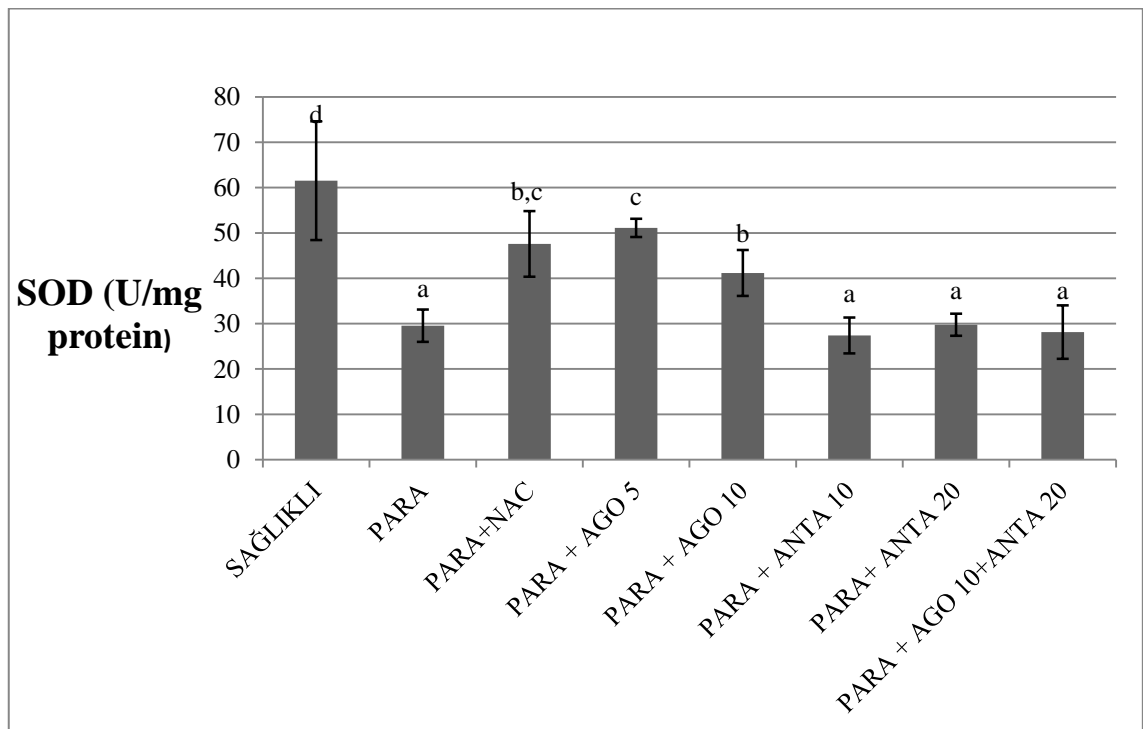
**Tablo 4.2.** Fare böbrek dokusunda ölçülen SOD, GSH ve MDA sonuçları

| GRUPLAR                          | SOD<br>(U/mg protein)       | GSH<br>(nmol/mgprotein)  | MDA<br>(nmol/mgprotein)    |
|----------------------------------|-----------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Sağlıklı                         | 61.52 ± 13.09 <sup>d</sup>  | 3.24 ± 0.43 <sup>d</sup> | 1.19 ± 0.27 <sup>a</sup>   |
| Parasetamol                      | 29.55 ± 3.57 <sup>a</sup>   | 1.14 ± 0.13 <sup>a</sup> | 2.78 ± 0.28 <sup>d</sup>   |
| PARA+NAC                         | 47.59 ± 7.23 <sup>b,c</sup> | 2.46 ± 0.45 <sup>c</sup> | 1.96 ± 0.14 <sup>c</sup>   |
| PARA+AGO 5mg/kg                  | 51.11 ± 2.01 <sup>c</sup>   | 2.39 ± 0.21 <sup>c</sup> | 1.41 ± 0.06 <sup>a,b</sup> |
| PARA+AGO 10mg/kg                 | 41.16 ± 5.07 <sup>b</sup>   | 1.83 ± 0.12 <sup>b</sup> | 1.69 ± 0.28 <sup>b,c</sup> |
| PARA+ANTA 10mg/kg                | 27.40 ± 3.95 <sup>a</sup>   | 1.28 ± 0.07 <sup>a</sup> | 2.69 ± 0.25 <sup>d</sup>   |
| PARA+ANTA 20mg/kg                | 29.76 ± 2.42 <sup>a</sup>   | 1.17 ± 0.31 <sup>a</sup> | 2.99 ± 0.53 <sup>d</sup>   |
| PARA+AGO10mg/kg<br>+ANTA 20mg/kg | 28.13 ± 5.89 <sup>a</sup>   | 1.26 ± 0.21 <sup>a</sup> | 2.96 ± 0.45 <sup>d</sup>   |

PARA:Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti. Sonuçların istatistiği One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre yapıldı. p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: Ortalama ± Standart Sapma) Aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur(p<0.05).

Deney gruplarında SOD aktiviteleri Sağlıklı grupta 61.52 U/mg protein, Parasetamol grubunda 29.55 U/mg protein, PARA+NAC grubunda 47.59 U/mg protein, PARA+AGO 5 mg/kg grubunda 51.11 U/mg protein, PARA+AGO 10mg/kg grubunda 41.16 U/mg protein, PARA+ANTA 10mg/kg grubunda 27.40 U/mg protein, PARA+ANTA 20mg/kg grubunda 29.76 U/mg protein, PARA+AGO 10mg/kg +ANTA 20mg/kg grubunda 28.13 U/mg protein olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2). Bulgularımız sonucunda, Parasetamol grubunun SOD aktivitesinin Sağlıklı gruba göre anlamlı bir şekilde düştüğünü görmekteyiz. PARA+NAC ve PARA+AGO 5 mg/kg gruplarının

değerleri Parasetamol grubuna göre yükselme göstermiştir ve anlamlı bir fark oluşturmuştur. Sağlıklı grubun değerlerine yaklaştıkları gözlenmiştir. PARA+AGO 10 mg/kg grubunun Parasetamol grubuna göre anlamlı bir şekilde yükseldiği ve PARA+NAC grubuna yakın değerlere sahip olduğu gözlenmektedir. SOD aktivitesi PARA+ANTA 10mg/kg, PARA+ANTA 20mg/kg ve PARA+AGO 10mg/kg +ANTA 20mg/kg gruplarında Parasetamol grubu ile yakın değerde olup, Sağlıklı gruptan anlamlı bir düşüş göstermiştir( $p<0.05$ ). (Şekil 4.3)

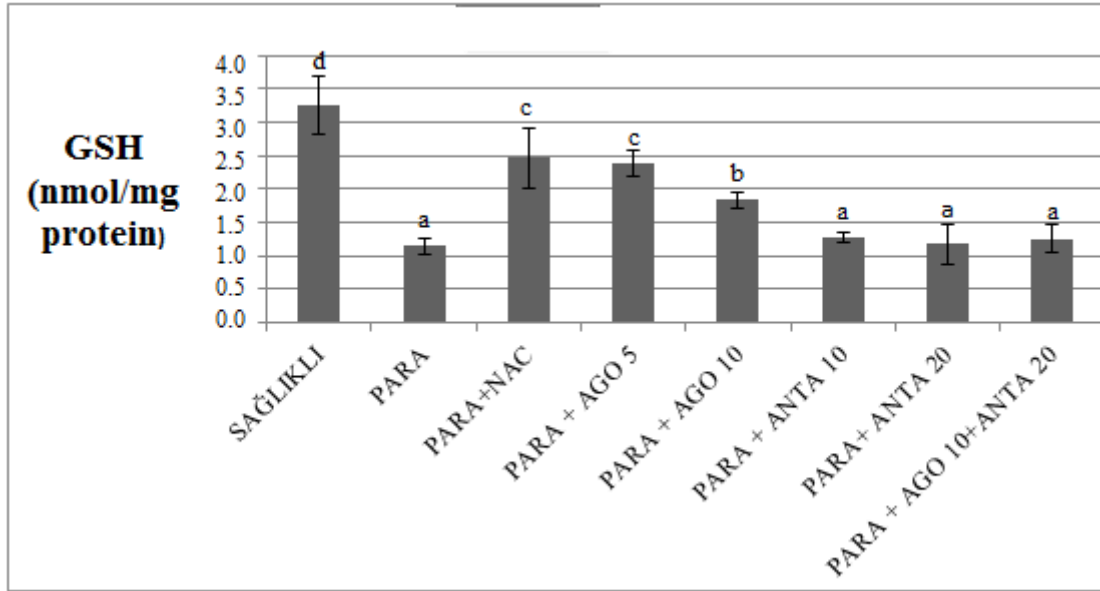


**Şekil 4.3.** Fare dokusunda ölçülen SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi

PARA:Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonist. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. ( $p<0.05$ )

Deney gruplarında GSH değerleri; Sağlıklı grupta 3.24 nmol/mg protein, Parasetamol grubunda 1.14 nmol/mg protein, PARA+NAC grubunda 2.46 nmol/mg protein, PARA+AGO 5 mg/kg grubunda 2.39 nmol/mg protein, PARA+AGO 10mg/kg grubunda 1.83 nmol/mg protein, PARA+ANTA 10mg/kg grubunda 1.28 nmol/mg protein, PARA+ANTA 20mg/kg grubunda 1.17 nmol/mg protein, PARA+AGO

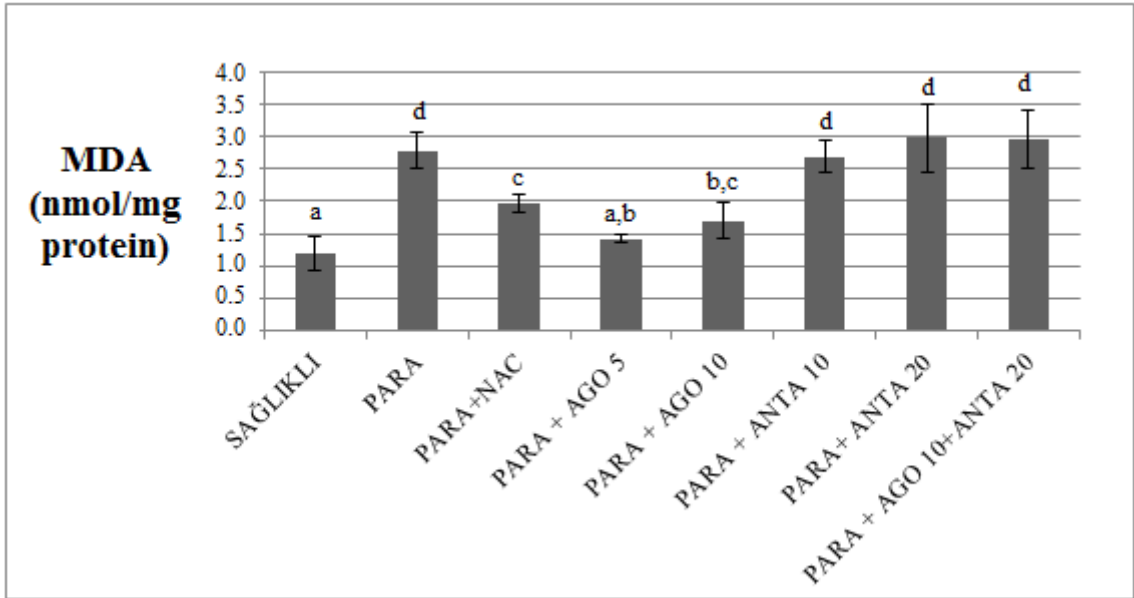
10mg/kg +ANTA 20mg/kg grubunda 1.26 nmol/mg protein olarak ölçüldü. (Tablo 4.2) Bulgularımız sonucunda Parasetamol grubunun GSH düzeyi Sağlıklı gruba göre anlamlı düşüş göstermektedir. PARA+NAC ve PARA+AGO 5 mg/kg grupları ile Parasetamol grubu arasında anlamlı bir yükseliş olup, Sağlıklı grubun değerlerine yaklaştıkları görülmüştür. PARA+AGO 10 mg/kg grubu değerleri PARA+NAC ve PARA+AGO 5 mg/kg gruplarının değerlerine yakındı ve Parasetamol grubuna göre anlamlı bir yükselme görülmüştür. PARA+ANTA 10mg/kg, PARA+ANTA 20mg/kg ve PARA+AGO 10mg/kg +ANTA 20mg/kg gruplarının GSH düzeyi de Sağlıklı gruba göre düşük olup, Parasetamol grubu ile yakın değerlerde ölçülmüştür ( $p<0.05$ ). (Şekil 4.4)



**Şekil 4.4.** Fare böbrek dokusunda ölçülen GSH miktarlarının grafikte gösterilmesi PARA:Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. ( $p<0.05$ )

Deney gruplarında MDA değerleri Sağlıklı grupta 1.19 nmol/mg protein, Parasetamol grubunda 2.78 nmol/mg protein, PARA+NAC grubunda 1.96 nmol/mg protein, PARA+AGO 5 mg/kg grubunda 1.41 nmol/mg protein, PARA+AGO 10mg/kg grubunda 1.69 nmol/mg protein, PARA+ANTA 10mg/kg grubunda 2.69 nmol/mg protein, PARA+ANTA 20mg/kg grubunda 2.99 nmol/mg protein, PARA+AGO

10mg/kg +ANTA 20mg/kg grubunda 2.96 nmol/mg protein olarak ölçüldü. (Tablo 4.2) Parasetamol grubunun MDA değerleri Sağlıklı gruba göre anlamlı olarak yükselmişti. PARA+NAC grubunun MDA düzeyi Parasetamol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştı. PARA+AGO 5 mg/kg ve PARA+AGO 10 mg/kg gruplarının MDA düzeyleri Parasetamol grubuna göre anlamlı azalma gösterirken, PARA+AGO 5 mg/kg grubunun MDA değerlerinin, Sağlıklı gruba daha yakın olduğu görülmüştür. PARA+AGO 5mg/kg ve PARA+AGO 10 mg/kg gruplarının MDA miktarlarının, PARA+NAC grubuna nazaran Sağlıklı gruba daha yakın olduğu gözlemlendi. PARA+ANTA 10mg/kg, PARA+ANTA 20mg/kg ve PARA+AGO 10mg/kg +ANTA 20mg/kg gruplarının MDA düzeyleride Parasetamol grubu ile yakın değerde olup Sağlıklı gruba göre anlamlı yükselme göstermiştir ( $p<0.05$ ).

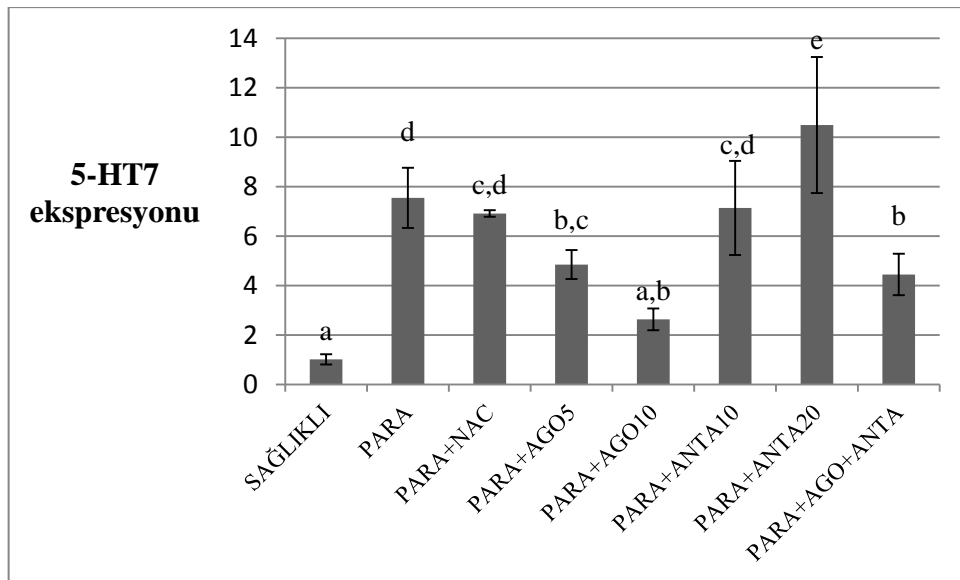


**Şekil 4.5.** Fare böbrek dokusunda ölçülen MDA miktarlarının grafikte gösterilmesi PARA: Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. ( $p<0.05$ )

#### 4.2. Moleküler Bulgular

Deney gruplarından Parasetamol grubunda, 5-HT<sub>7</sub> ekspresyonu Sağlıklı gruba göre anlamlı bir yükseliş göstermektedir. PARA+NAC grubu ise Parasetamol grubuna

göre anlamlı bir değişiklik göstermemiştir ve Sağlıklı gruba göre anlamlı bir yükselme görülmüştür. PARA+ANTA 10 mg/kg grubu PARA+NAC grubu karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı değildir. PARA+AGO 10 mg/kg ve Sağlıklı grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. PARA+AGO 5 mg/kg ve PARA+AGO 10 mg/kg gruplarının 5-HT<sub>7</sub> ekspresyonları birbirine yakın değerde olup sağlıklı gruba yaklaştırmıştır. PARA+AGO10 mg/kg +ANTA 20 mg/kg grubunun ekspresyonu sağlıklı gruba göre yükselmiştir. PARA+ANTA 20 mg/kg grubunun ekspresyonu ise Sağlıklı gruba göre anlamlı bir şekilde artmıştır. (Şekil 4.6)

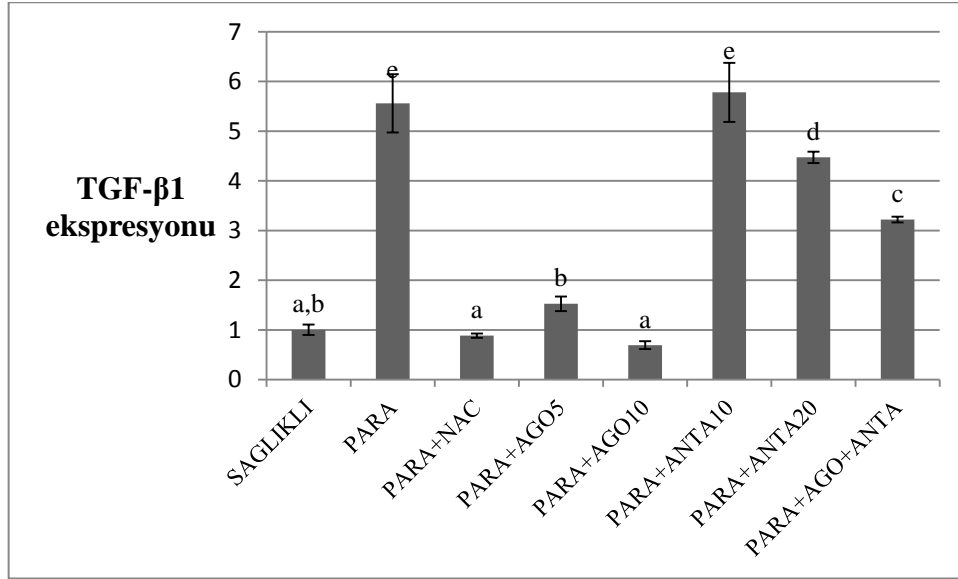


**Şekil 4.6.** Farelerden parasetamol uygulamasından 12 saat sonra alınan böbrek örneklerindeki 5-HT<sub>7</sub> mRNA seviyeleri

PARA: Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. (p<0.05)

Parasetamol grubunda TGF- $\beta$ <sub>1</sub> ekspresyonu Sağlıklı gruba göre anlamlı düzeyde yükselmiştir. PARA+NAC ve PARA+AGO 10 mg/kg grupları arasında anlamlı bir fark olmamakla beraber Parasetamol grubuna göre anlamlı bir azalma göstermiştir ve Sağlıklı grubun bulgularına yakın değerler gözlenmiştir. PARA+AGO 5 mg/kg grubunun bulguları Parasetamol grubuna göre anlamlı azalma göstermiş olup Sağlıklı grup ile aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır. PARA+ANTA 10 mg/kg grubu ile

Parasetamol grubu arasında anlamlı bir fark yoktur. PARA+ANTA 20 mg/kg grubu Sağlıklı gruba göre anlamlı bir yükseliş göstermiştir ve Parasetamol grubuna benzer değerlerdedir. PARA+AGO10 mg/kg +ANTA 20 mg/kg grubunun değerleri ise Sağlıklı gruba göre yükselme göstermiş fakat Parasetamol grubunda bulunan TGF- $\beta_1$  ekspresyonundan düşük görülmüştür.

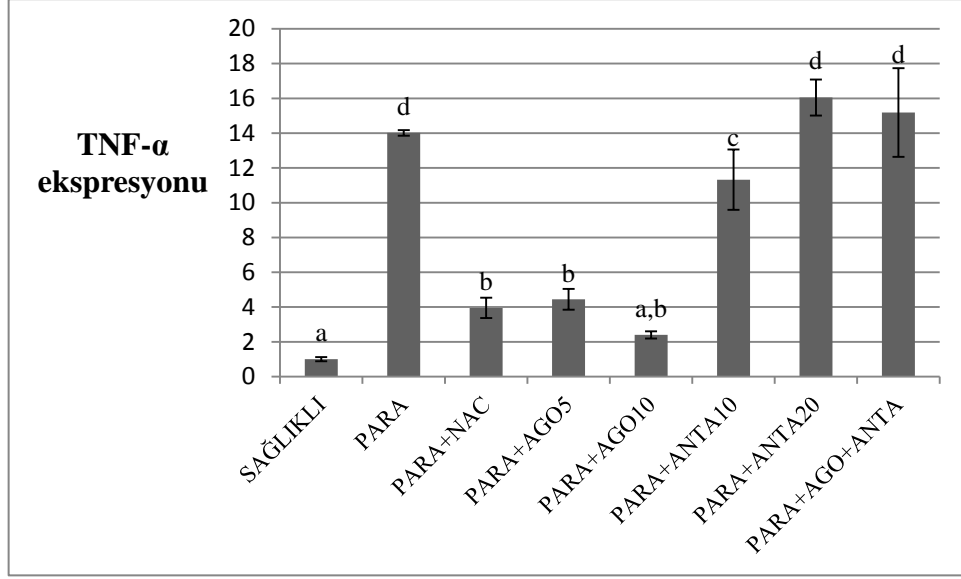


**Şekil 4.7.** Farelerden parasetamol uygulamasından 12 saat sonra alınan böbrek örneklerindeki TGF- $\beta_1$  mRNA seviyeleri

PARA:Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. (p<0.05)

Deney gruplarından Parasetamol grubunda TNF- $\alpha$  ekspresyonu Sağlıklı gruba göre anlamlı yükseliş göstermiştir. PARA+NAC, PARA+AGO 10 mg/kg ve PARA+AGO 5 mg/kg gruplarının arasında anlamlı bir fark olmamakla beraber Parasetamol grubuna göre ekspresyonda azalma göstermişlerdir. PARA+AGO 10 mg/kg grubunun verileri ile Sağlıklı grup arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. PARA+ ANTA 10 mg/kg, PARA+ANTA 20 mg/kg ve PARA+AGO 10mg/kg+ANTA 20mg/kg grupları Sağlıklı gruba göre anlamlı bir yükselme göstermiştir.



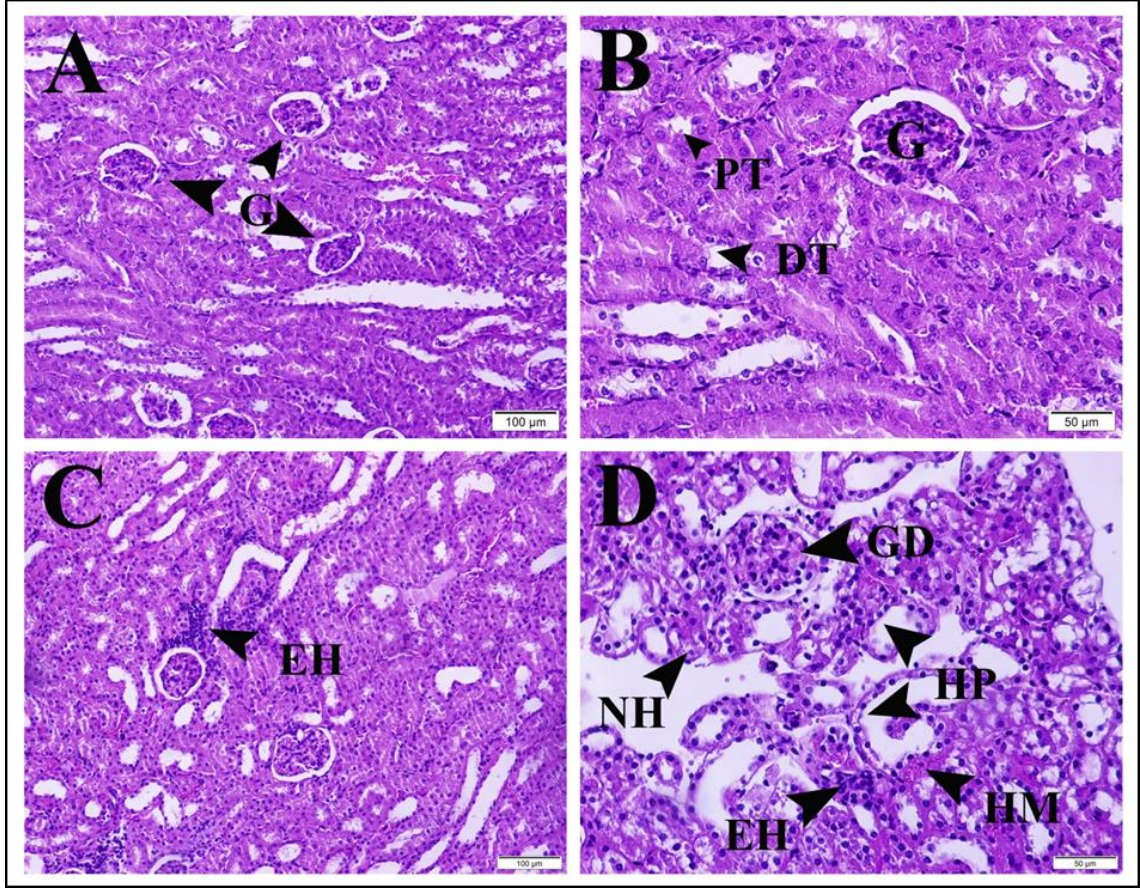


**Şekil 4.8.** Farelerden parasetamol uygulamasından 12 saat sonra alınan böbrek örneklerindeki TNF- $\alpha$  mRNA seviyeleri  
 PARA:Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. (p<0.05)

### 4.3. Histopatolojik Bulgular

Sağlıklı grupta yapılan histopatolojik incelemede, fare böbrek dokularında glomerüller ve tübüler yapılar normal histolojik görünümdeydi. (Şekil 4.9 A-B)

Parasetamol grubunda yapılan incelemede, glomerüllerde dilatasyon, tübüller arasında hemoraji, tübül hücrelerinde nekroz ile birlikte yumuşak vasküler ve inflamatuvar değişiklikler gözlemlendi. Ayrıca böbrek tübüllerinde hipertrofik değişiklikler de görüldü (Şekil 4.9 C-D).

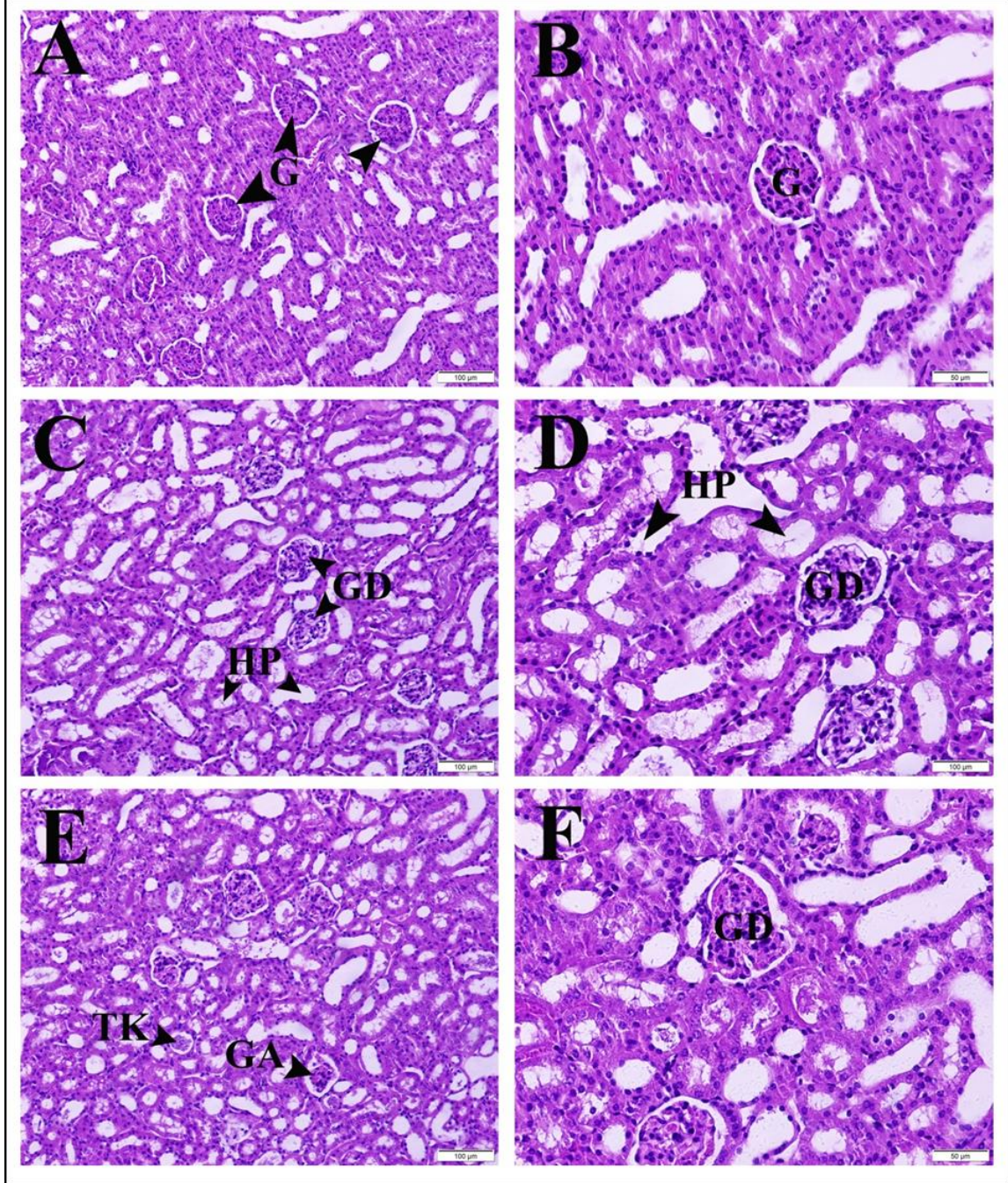


**Şekil 4.9.** Farelerden alınan böbrek örneklerindeki ışık mikroskopik kesitler. A-B:Sağlıklı Grup, C-D: Parasetamol Grubu (Mayer's Hematoksilen-Eozin Boyama, Büyütme A,C 10X, B,D 40X) (G:Glomerulus, PT: Proksimal Tübül, DT: Distal Tübül, EH: İnflamatuvar Hücre, NH: Nekrotik Hücre, HM: Hemoraji, GD: Glomerular Dilatasyon, HP: Hipertofi)

Parasetamol ve NAC 100 mg/kg uygulanan grupta sağlıklı grubuna göre herhangi bir vasküler ve inflamatuvar değişikliğe rastlanmadı ve sağlıklı gruba benzer bir böbrek dokusu görünümü gözlemlendi (Şekil 4.10 A-B).

Parasetamol +AGO 5 mg/kg grubunda yumuşak glomerüller dilatasyonlar ve böbrek tübül yapılarında hipertrofik değişiklikler gözlenirken dokunun parasetamol grubuna göre önemli derecede korunduğu gözlemlendi, özellikle 10 mg/kg agonist grubunda izlenen bulgular sağlıklı gruba çok yakındı (Şekil 4.10 C-D).

Parasetamol + AGO 10 mg grubunda da yumuşak glomerular dilatasyonlar ve böbrek tübül yapılarında hipertrofik değişikliklere ilaveten tübüler kongesyonlarda dokunun sağlıklı gruba benzer bir yapı gösterdiği gözlemlendi (Şekil 4.10 E-F).

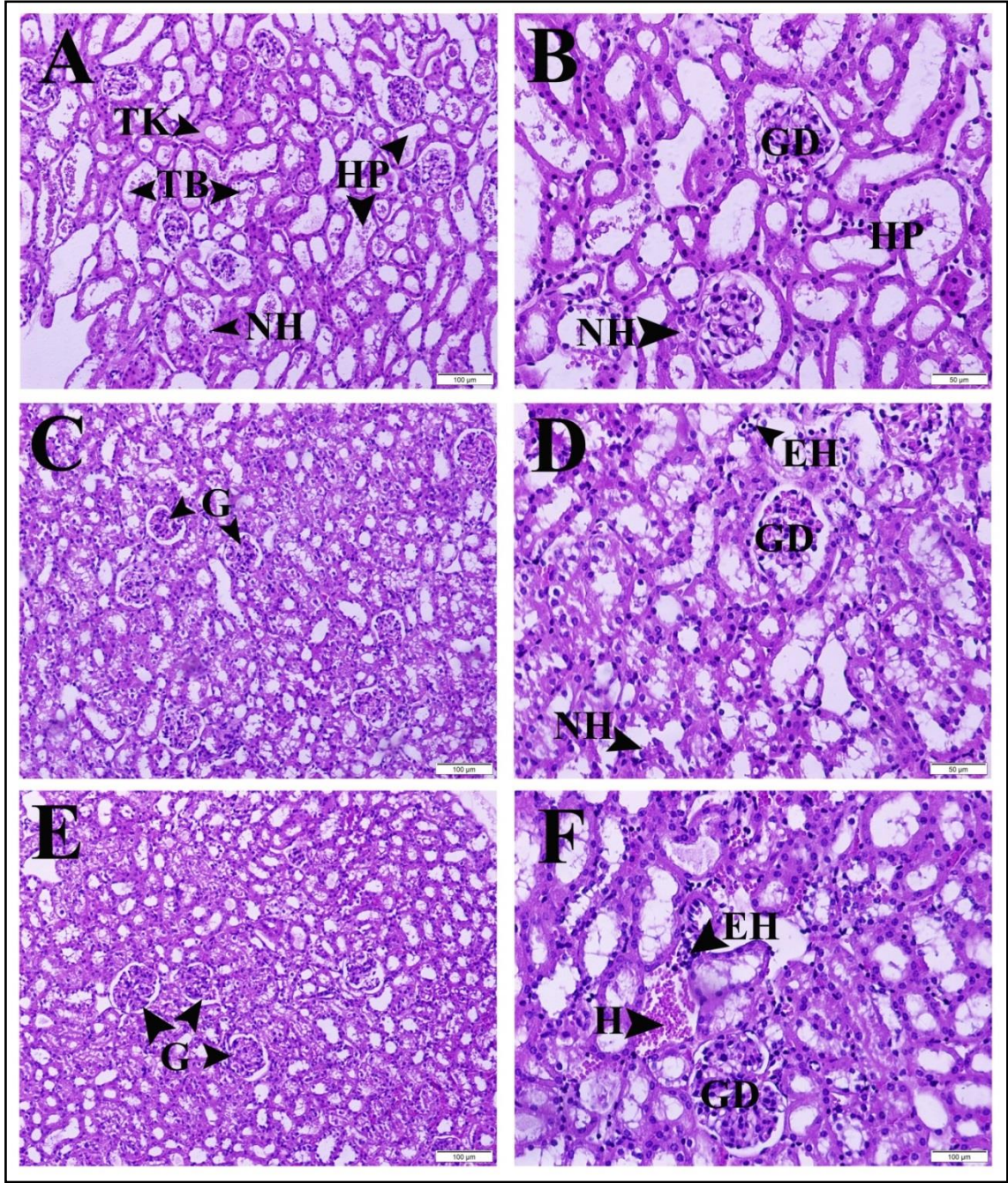


**Şekil 4.10.** Farelerden alınan böbrek örneklerindeki ışık mikroskopik kesitler A-B:Para+NAC Grubu,C-D:Para+Ago 5 mg Grubu,E-F:Para+Ago10mg Grubu (Mayer's Hematoksilen-Eozin Boyama, Büyütme A,C,E 10X, B,D,F 40X) (G:Glomerulus, HM: Hemoraji, GD: Glomerular Dilatasyon, TK: Tübüler Kongesyon, GA: Glomerular Atrofi)

Parasetamol + Antagonist 10 mg/ kg grubunda glomerullerde şiddetli dilatasyonla birlikte, böbrek tübüllerinde şiddetli hipertrofik değişiklikler görüldü. Ayrıca tübül duvar epitel hücrelerinde nekrotik hücrelere rastlanırken tübüler birikimde bu grupta görülen önemli değişikliklerdendi. Bu grupta izlenen histopatolojik değişikliklerden, parasetamol grubundaki hasarın daha da şiddetlendiği gözlenmektedir (Şekil 4.11 A-B).

Parasetamol + Antagonist 20 mg/ kg grubunda ise aynı şekilde glomerüllerde şiddetli dilatasyonla, böbrek tübüllerinde şiddetli hipertrofik değişikliklere, tübül duvar epitel hücrelerinde nekrotik hücrelere ayrıca tübüller arası intersitisyel alanlarda inflamatuvar hücrelere rastlandı. Bununla birlikte glomerüler atrofi görülen değişikliklerdendi. Bu grupta izlenen histopatolojik değişikliklerden bir önceki grup gibi parasetamol grubunun verdiği hasarı daha da şiddetlendirdiği görülmüştür ve bu şiddetin doza bağımlı bir artış olduğu görüldü. (Şekil 4.11 C-D).

Parasetamol + Agonist 10 mg/ kg +Antagonist 20 mg/ kg grubunda yumuşak vasküler değişiklikler görüldü, bu değişiklikler hemorajik alanlar şeklindeydi. Bunun yanında yumuşak glomerular dilatasyonlar, inflamatuvar hücreler de gözlendi (Şekil 4.11 E-F).



**Şekil 4.11.** Farelerden alınan böbrek örneklerindeki ışık mikroskopik kesitler A-B: Para +Anta 10 mg Grubu, C-D: Para +Anta 20 mg Grubu, E-F: Para +Ago 10mg + Anta 20 mg Grubu

(Mayer's Hematoksilen-Eozin Boyama, Büyütme A,C,E 10X, B,D,F 40X) (G:Glomerulus, EH: İnflamatuvar Hücre, NH: Nekrotik Hücre, HM: Hemoraji, GD: Glomerular Dilatasyon, HP: Hipertofi, TB: Tübüler Birikim)

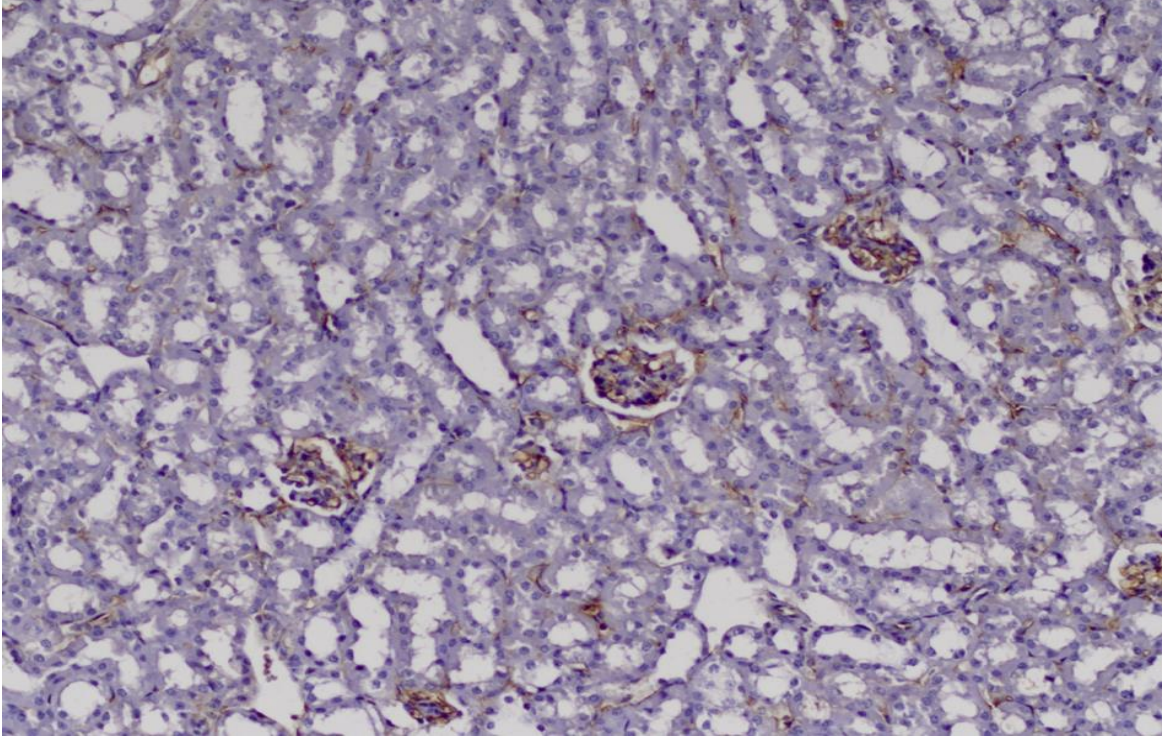
#### 4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular

Semikantitatif skorlama ile yapılan immunohistokimyasal test sonuçları Tablo 4.3'te verilmiştir. Immunopozitif boyanmalar daha çok glomerüler yumakta gözlemlendi. Bunun dışındaki pozitif boyanmalar tübül epitelleri ve/veya tübüller arasında gözlemlendi.

**Tablo 4.3.** Böbrek kesitlerinde HTR7 immunohistokimyasal testine ait semikantitatif skorlama

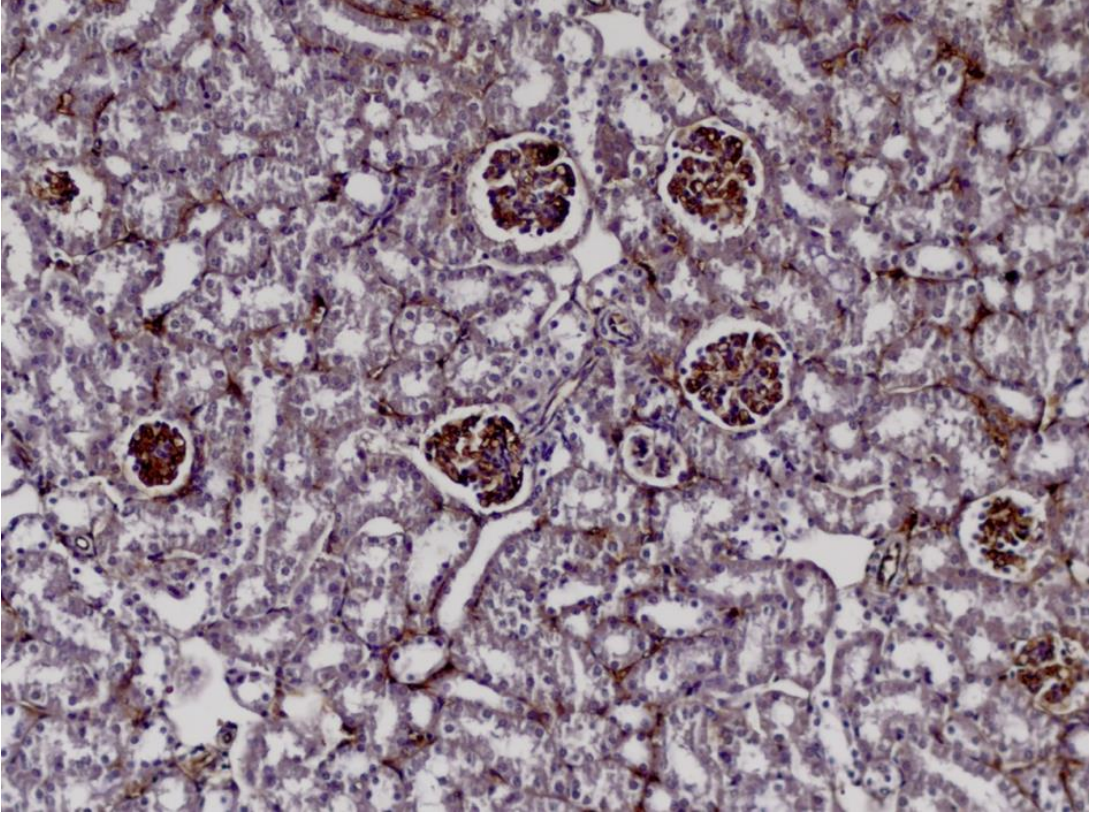
| GRUP                                 | HİSTOLOJİK ALAN |              |  |
|--------------------------------------|-----------------|--------------|--|
|                                      | Glomerulus      | Tübül epitel | İntersitisyel alan (Tübül bazal membranları arası) |
| <b>SAĞLIKLI</b>                      | +               | -            | +  |
| <b>PARA</b>                          | +++             | +            | ++   |
| <b>PARA+NAC 100mg/kg</b>             | ++              | +            | -  |
| <b>PARA+AGO 5mg/kg</b>               | +               | ++           | ++   |
| <b>PARA+AGO 10mg/kg</b>              | +               | -/+          | ++   |
| <b>PARA+ANTA 10mg/kg</b>             | ++              | ++           | ++   |
| <b>PARA+ANTA 20mg/kg</b>             | +++             | ++           | ++   |
| <b>PARA+AGO 10mg/kg+ANTA 20mg/kg</b> | +               | +            | ++   |

Not: PARA: Parasetamol, NAC: N-Asetil Sistein, AGO:5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti, ANTA:5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonisti



**Şekil 4.12.** Sağlıklı grup böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği  
(DAB kromojen. Hematoksilen zıt boyama. Büyütme 200X.)

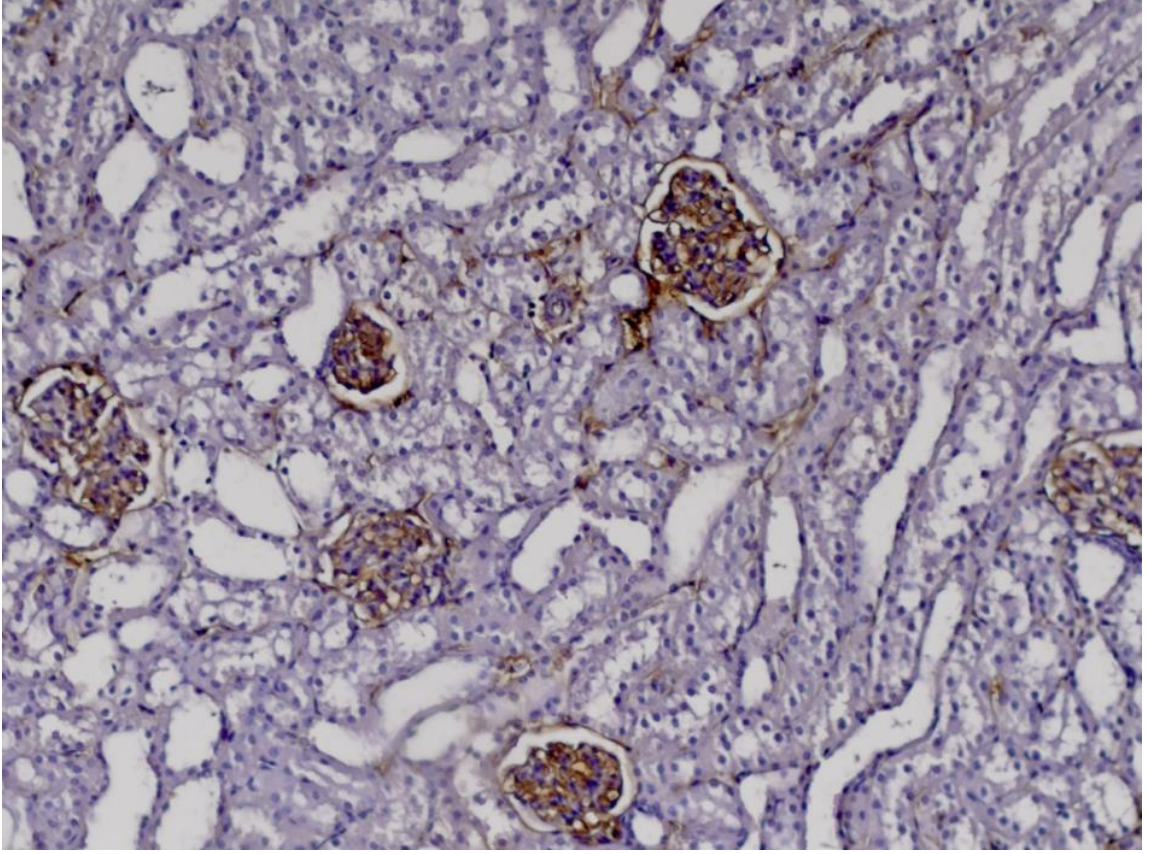
Sağlıklı gruptaki boyanmalar glomeruluslarda tübüllere göre daha belirgindi. Tübül epitellerinden ziyade tübüllerin arasındaki intersitisyel dokuda boyanma çok az olarak belirlendi (Şekil 4.12).



**Şekil 4.13.** Parasetamol grubu böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği  
\*(DAB kromojen. Hematoksilen zıt boyama. Büyütme 200X.)

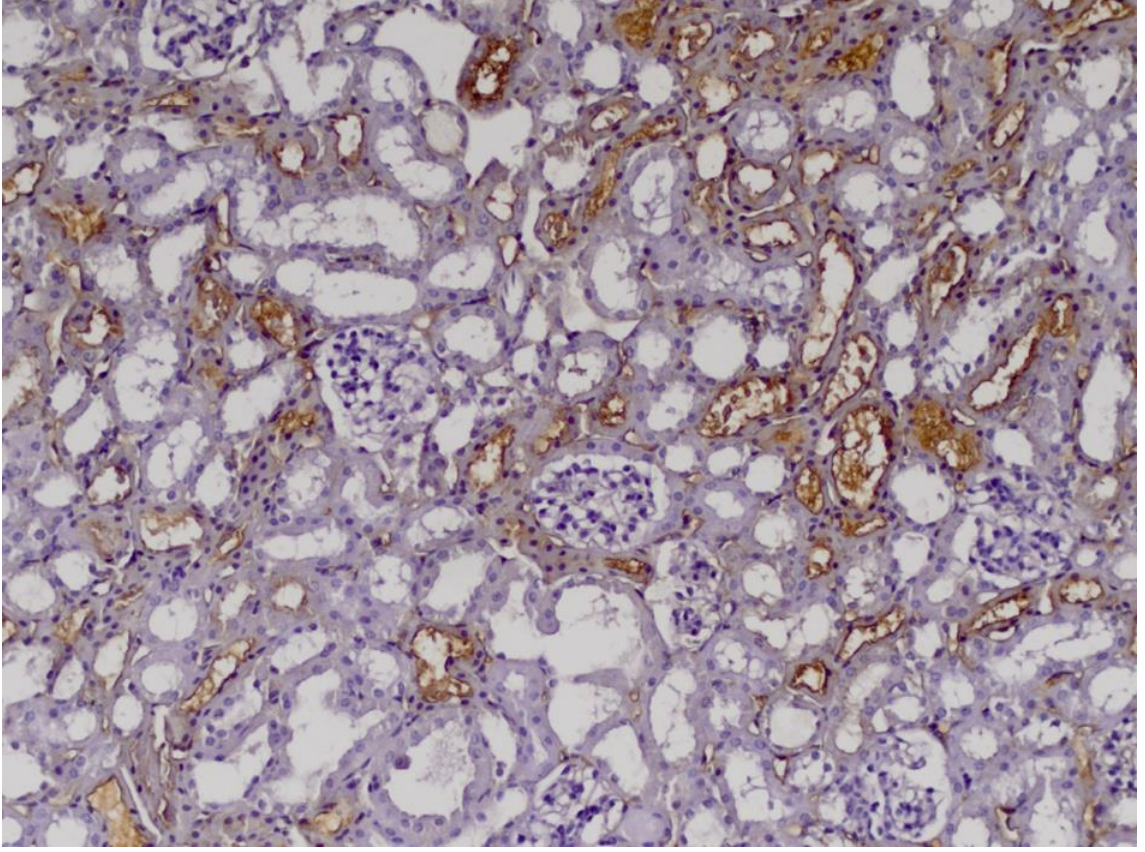
Parasetamol grubundaki böbreklerde HTR7 immunopozitifliği glomeruluslarda oldukça yoğundu. Bu yoğunluk intersitisyel alanda da yoğun olarak gözlendi (Şekil 4.13).





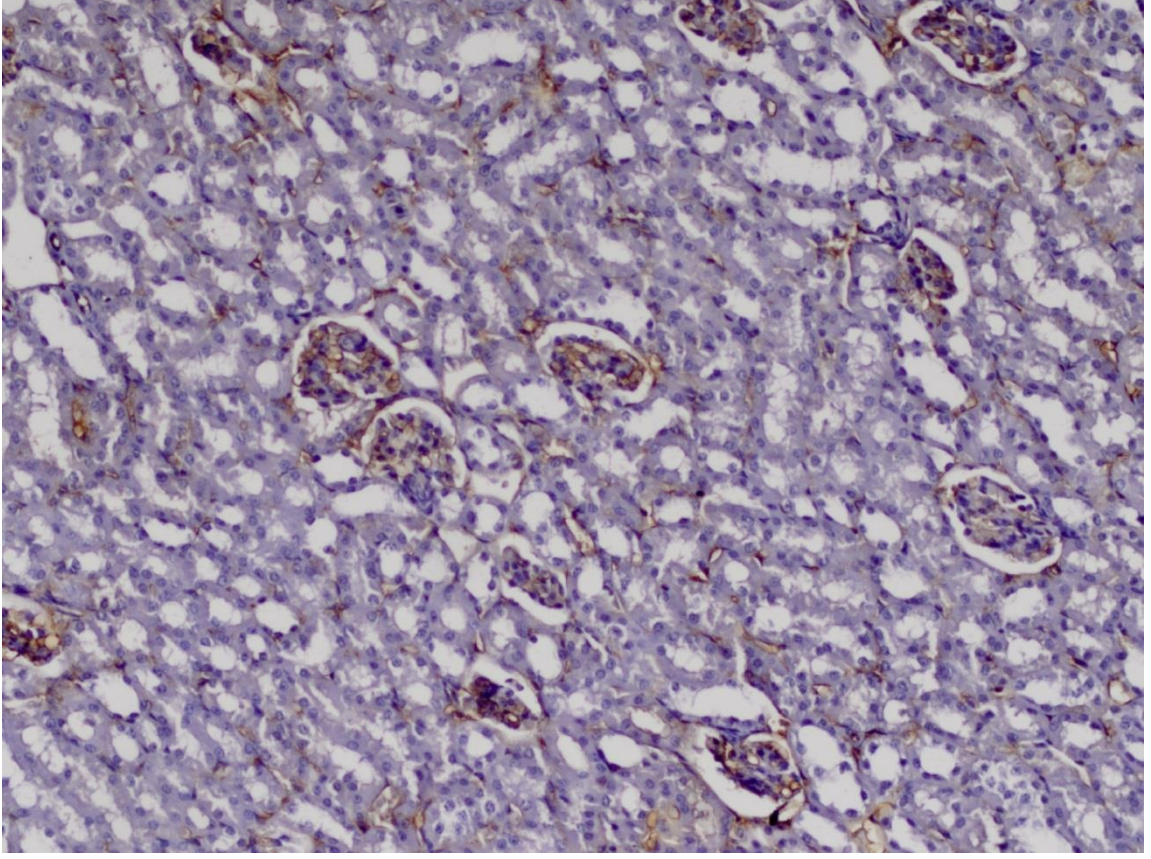
**Şekil 4.14.** PARA+NAC grubu böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği (DAB kromojen. Hematoksilen zıt boyama. Büyütme 200X.)

Parasetamol+NAC 100 mg/kg grubundaki hayvanlarda immunopozitiflik glomerulalarda belirgin olarak gözlemlendi. Bazı intersitisyel alanlarda pozitiflik azda olsa seçildi (Şekil 4.14).



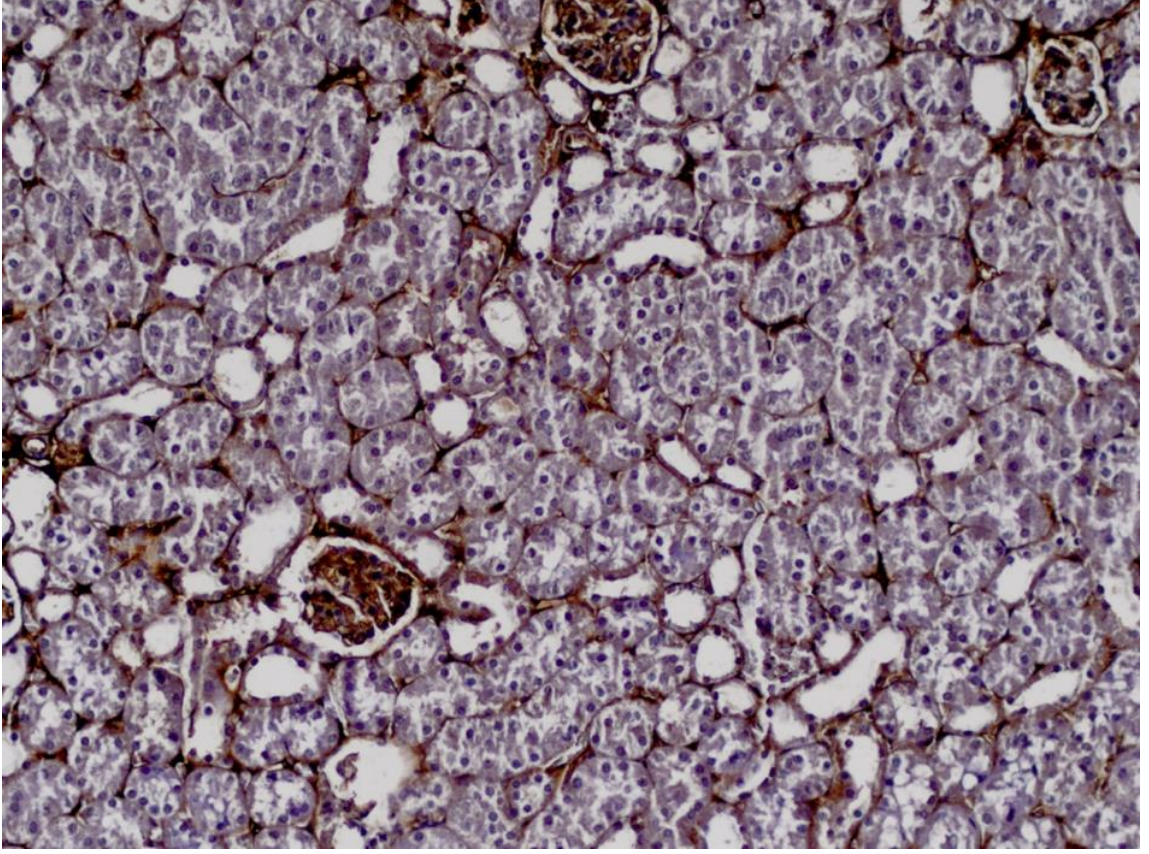
**Şekil 4.15.** PARA+AGO 5 mg/kg grubu böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği (DAB kromojen, Hematoksilen zıt boyama. Büyütme 200X.)

Parasetamol+AGO 5 mg/kg grubundaki hayvanlarda tübül epitellerinde boyanma oldukça net olarak gözlendi. Dejenere tübül epitellerinin oldukça yoğun bir şekilde boyandığı dikkat çekti. Bu grupta glomeruluslarda immunopozitiflik daha azdı (Şekil 4.15).



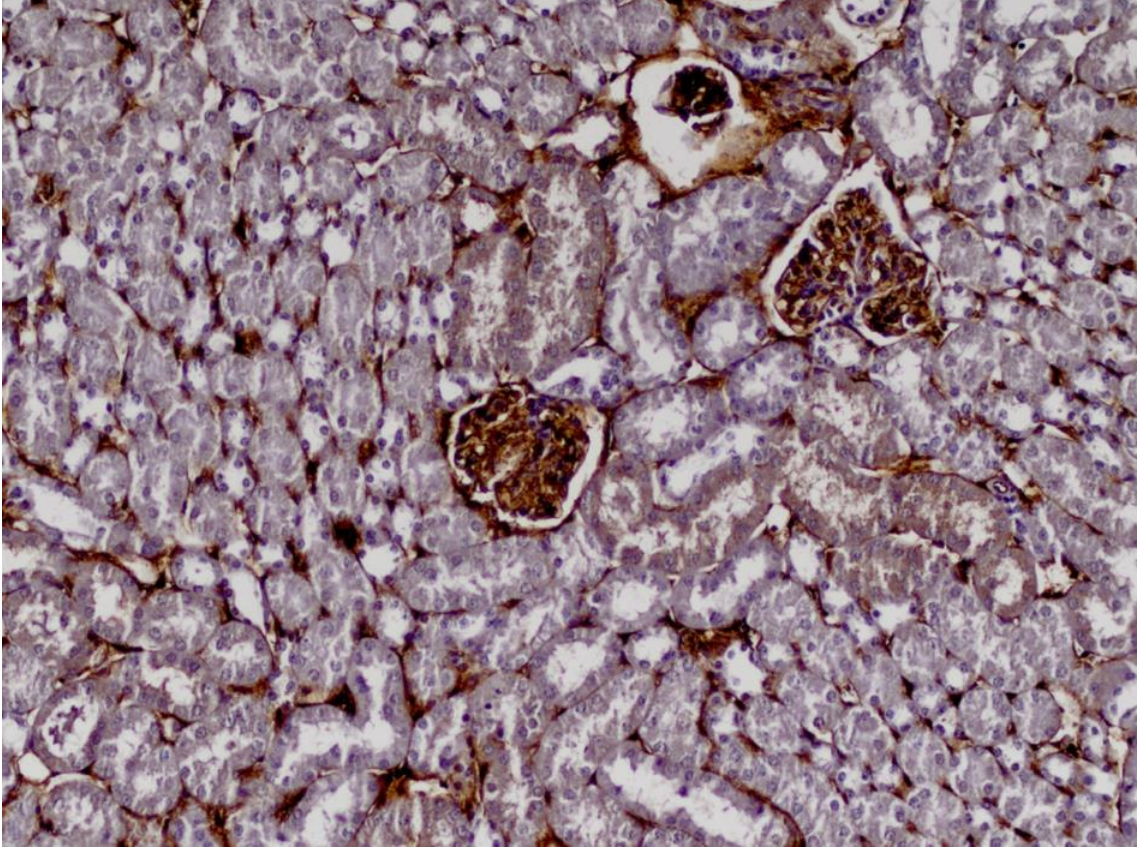
**Şekil 4.16.** PARA+AGO 10 mg/kg grubu böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği (DAB kromojen. Hematoksilen zıt boyama. Büyütme 200X.)

Parasetamol+AGO 10 mg/kg grubundaki böbreklerde HTR7 immunopozitifliği glomerulalarda değişik şiddette görüldü. Bu yoğunluk intersitsiyel alanda daha az olarak gözlemlendi (Şekil 4.16).



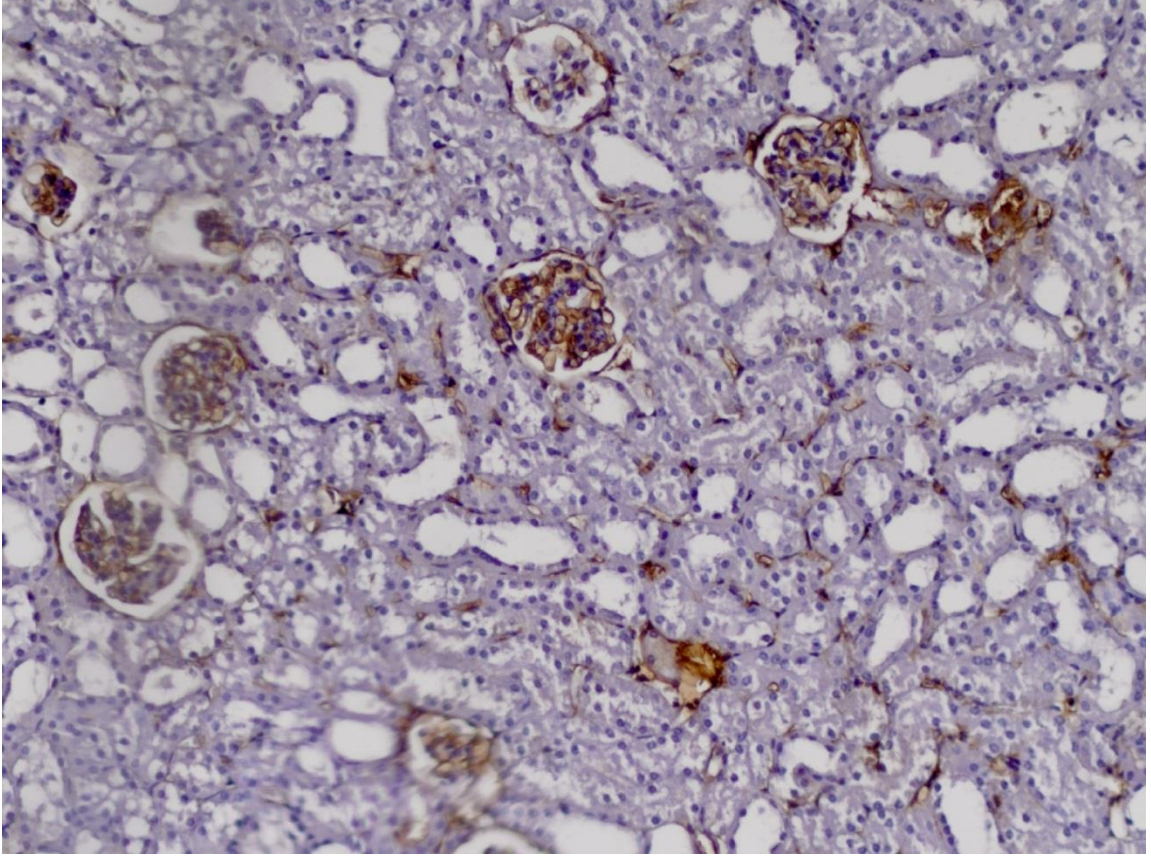
**Şekil 4.17.** PARA+ANTA 10 mg/kg grubu böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği (DAB kromojen. Hematoksilen zıt boyama. Büyütme 200X.)

Parasetamol+ANTA 10 mg/kg grubundaki böbreklerde HTR7 immunopozitifliği glomerulalarda oldukça yoğundu. Bu yoğunluk intersitisyel alanda da gözlendi (Şekil 4.17).



**Şekil 4.18.** PARA+ANTA 20 mg/kg grubu böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği (DAB kromojen. Hematoksilen zıt boyama. Büyütme 200X.)

Parasetamol+ANTA 20 mg/kg grubundaki dokularda HTR7 immunopozitifliği glomerulalarda oldukça yoğundu. Bu yoğunluk intersitisyel alanda da gözlemlendi ve bazı tübül epitellerinde immunopozitiflik dikkat çekiciydi (Şekil 4.18).



**Şekil 4.19.** PARA+AGO 10 mg/kg+ANTA 20 mg/kg grubu böbrek dokusunda HTR7 immunopozitifliği  
\*(DAB kromojen. Hematoksilen zıt boyama. Büyütme 200X.)

Parasetamol+AGO 10 mg/kg + ANTA 20 mg/kg grubundaki dokularda HTR7 immunopozitifliği glomeruluslarda seçildi. Bu yoğunluk intersitisyel alanda daha az olarak gözlemlendi ancak bazı tübül epitellerinde de immunopozitiflik vardı (Şekil 4.19).

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda hem santral hem de periferik etkileri olan serotoninin, en son keşfedilen 5-HT<sub>7</sub> reseptörlerinin farelerde parasetamolle indüklenen nefrotoksisitedeki rolleri deneysel olarak incelendi. Bu amaçla akut parasetamol uygulaması ile nefrotoksisite indüklediğimiz farelerde 5-HT<sub>7</sub> reseptör agonist ve/veya antagonisti vererek nefrotoksisite bulguları değerlendirildi.

Parasetamol özellikle son 50 yıldır piyasada bulunan ve yaygın bir şekilde kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Tek başına veya antiinflamatuvar ilaçların etkisini arttırmak için kombine halde hazırlanan preparatları mevcuttur. Her yaş grubunda yan etki insidansı düşük olduğu için güvenle kullanılmaktadır. 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.<sup>45</sup> Parasetamolün küçük bir kısmı ise sitokrom-p aracılı N- hidroksilasyonla n-asetil-p-benzokinonimin (NAPQI) 'a dönüşür. NAPQI reaktif bir ara üründür, hepatik glutatyon tarafından böbrekten elimine edilir ve toksik olmayan asetaminofen-merkapturat bileşiğine detoksifiye olur. Parasetamol aşırı dozda alındığında, öncelikle karaciğerde metabolize olduğu için ciddi hepatotoksisiteye sebep olmaktadır. Böbrekler ise karaciğer hasarının ileri evrelerinde veya nadiren karaciğerde hasar olmadan tek başına etkilenmektedir.<sup>7</sup>

Böbrekteki hasar akut tubuler nekroz şeklinde görülmektedir ve parasetamol doz aşımına maruz kalan hastaların yaklaşık %1-2'sinde renal yetmezlik gelişebileceği saptanmıştır.<sup>6</sup> Böbrekte parasetamolle oluşan toksisitenin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Aşırı doz alımında glukuronidasyon 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.<sup>8</sup> Oluşan bu metabolitlerin hepsi detoksifiye edilemeyerek, hücresel proteinlerdeki sülfidril grupları ve glutatyon ile konjugatlar oluşturur. Bu konjugatların kendisinin veya sebep olduğu glutatyon tükenmesinin oksidatif strese neden olduğu düşünülmektedir.<sup>5</sup> Bu durumun kaspazların ve lizozomal enzimlerin aktivasyonuna yol açtığı, apoptozisi veya programlı hücre ölümünü başlattığı sonuç olarakta 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.<sup>73, 74</sup>

Naguib ve ark.<sup>167</sup> 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.<sup>168</sup> 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.

Çalışmamızda böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede serum BUN ve kreatinin değerlerini kullanıldı. Parasetamol verilen gruptan 12 saat sonra alınan serum BUN ve kreatinin düzeylerinde sağlıklı grupta kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme gözlemlendi. Buna dayanarak toksisite modelimizin Sağlıklı grupta kıyaslama



yaparsak oluştuğunu söyleyebiliriz. Tedavi olarak kullandığımız NAC uygulamasının böbrek fonksiyonlarını bu iki değer üzerinden iyileştirdiği görüldü. 5-HT<sub>7</sub> Agonist uygulamasının özellikle 5 mg/kg dozunda NAC tedavisine eşdeğer etki gösterdiği, 10 mg/kg dozunda da yine etkili olduğu görüldü. Antagonist uygulaması ise serum BUN ve kreatinin seviyelerini parasetamol grubuna yakın düzeyde arttırdı. Serumda bakılan ve böbrek fonksiyonları hakkında bilgi veren bu değerlerin yanında, dokuda antioksidan enzimlere de bakıldı ve oksidatif hasar değerlendirildi.

Parasetamolle indüklenen böbrek hasarında CYP-450 enzim sisteminin etkisi ile oluşan NAPQI sorumlu tutulmaktadır. Bu elektrofil ara ürünün detoksifikasyonu sırasında hücrel proteinlerdeki sülfidril ve glutatyon parçaları ile farklı konjugatlar oluşmaktadır.<sup>8</sup> Bu konjugatların oksidatif hasarı arttırdığı ve bunun toksisite mekanizmalarından biri olabileceği bildirilmiştir.<sup>5</sup> Oksidatif stresteki artmaya paralel olarak antioksidan savunma sisteminin tüketilmesi de parasetamolle indüklenen böbrek hasarında önemlidir. Bu nedenle çalışmamızda antioksidan parametreler olarak SOD ve GSH, oksidan parametre olarak ise lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA incelendi.

SOD, hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerinden korurken, GSH serbest radikaller ve peroksitler ile reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Abdul Hamid ve ark.<sup>169</sup> parasetamole bağlı nefrotoksisitede Zingiber zerumbet ekstresinin rolünü araştırmışlar ve oluşan oksidatif hasarı SOD, GSH düzeyleri ile değerlendirmişlerdir. Çalışmamızda oksidatif hasarı değerlendirmede kullandığımız SOD aktivitesi ve GSH düzeyleri karşılaştırıldığında Parasetamol grubunda sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Tedavi grubumuz olan PARA+NAC ve Agonist 5 mg/kg gruplarının parasetamol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme gösterdiği görüldü. Antioksidan

parametrelerimizi gözönüne alarak Agonist uygulamasının özellikle 5 mg/kg dozunda oksidatif hasarı, NAC grubuna yakın düzeyde azalttığını söyleyebiliriz. BUN ve kreatin bulgularında olduğu gibi, antagonist uygulaması antioksidan seviyelerinde de toksisite grubuna göre anlamlı bir fark oluşturamadı.

Süperoksit radikali ve hidroksil radikali sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu ise MDA oluşmaktadır. MDA kanda ve idrarda bulunup, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon göstermektedir.<sup>170</sup> Bu nedenle deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır. Aycan ve ark.<sup>89</sup> yaptıkları bir çalışmada parasetamolle oluşan nefrotoksisitede timokinonun etkisini araştırmışlardır. Ölçülen MDA değerleri sonucunda tedavi grubunda lipid peroksidasyonunun azaldığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda parasetamol grubunda MDA değerlerinin sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş gösterdiği, NAC verilen grupta parasetamol grubunun değerlerine nazaran azalma olduğu gözlemlendi. PARA+AGO 5mg/kg grubunda, MDA düzeyinin sağlıklı grubun değerleri ile yakın düzeyde olduğu, NAC verilen gruba nazaran lipid peroksidasyonunu daha iyi azalttığı söylenebilir. PARA+AGO 10 mg/kg grubunda da MDA düzeyleri göz önüne alınarak lipid peroksidasyonunun azaldığı ve NAC tedavisine eşdeğer düzeyde iyileşme sağladığı söylenebilir. Antagonist uygulamasının ise parasetamol grubu ile yakın sonuçlar verdiği görüldü.

Oksidatif strese bağlı olarak oluşan böbrek hasarında şiddetli inflamatuvar yanıt da meydana gelmektedir.<sup>73</sup> Parasetamole bağlı nefrotoksisitede inflamatuvar yanıt daha önce Uçar ve ark.<sup>10</sup> tarafından sıçanlarda incelenmiştir. Bu çalışmada TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-10 gibi inflamatuvar parametrelerin parasetamol verilen böbrek dokusunda arttığı ve tedavi gruplarında azaldığı bildirilmiştir. Çalışmamızda TNF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$  gibi

inflamatuvar sitokinlerin dokudaki mRNA ekspresyonlarına bakılarak toksisite inflamasyon açısından da değerlendirildi.

Antiinflamatuvar, proapoptotik ve antiproliferatif etkileri olduğu bilinen TGF- $\beta$ 'nın 3 tipi bulunmaktadır. Bunlardan TGF- $\beta_1$  immun sistem kontrolünde önemli role sahiptir ve lökosit gibi immun sistem hücrelerinin bazılarında salgınır.<sup>102</sup> Bazı T hücreleri, diğer T hücrelerinin etkilerinin inhibe etmesi için TGF $\beta_1$  salgılar. Ayrıca TGF $\beta_1$  farklı interlokinlerin, interferon- $\gamma$  içeren sitokinlerin ve TNF- $\alpha$ 'nın salgınmasını ve etkilerini inhibe edebilir. TNF- $\alpha$  ise aktive olmuş monositler ve makrofajlardan salgılanan proinflamatuvar bir sitokindir, kaşektin olarak da bilinir. İnflamatuvar yanıtta çeşitli hücrelerden salgınımının arttığı bilinmektedir. Proinflamatuvar sitokinlerin doku hasarında kritik önemi olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.<sup>171</sup>

Yakın zamanda Carlos ve ark.<sup>104</sup> sisplatinle oluşturdukları nefrotoksisite çalışmasında renal hasarın erken ve geç dönemde yükselen farklı üriner biyomarkerları karşılaştırılmıştır. Bunlardan TNF $\alpha$  düzeyinin renal hasarın erken döneminde yükseldiği, TGF $\beta$  düzeyinin ise geç renal hasarda yükseldiği gözlenmiştir. Çermik ve ark.<sup>13</sup> ise yaptıkları bir çalışmada parasetamolle oluşturulan nefrotoksisitede hiperbarik oksijen ve NAC 'ın birlikte etkisini sadece NAC tedavisi ile karşılaştırmışlardır. Serum TNF $\alpha$  seviyelerini incelemişler ve toksisite grubunda TNF $\alpha$  seviyelerinin tedavi grubuna oranla yükseldiğini görmüşlerdir.

Çalışmamızda dokulardaki toksisiteye bağlı hasarı değerlendirmek için, moleküler olarak TGF $\beta_1$  ve TNF $\alpha$ 'nın ekspresyonları incelendi. Parasetamol grubunda sağlıklı gruba göre anlamlı yükselme gözlemlendi. TGF $\beta_1$  ekspresyonunun PARA+NAC ve PARA+AGO 10 mg/kg grubunda parasetamol grubuna göre anlamlı azalma ve sağlıklı grup ile benzer ekspresyonda olduğu görüldü. TNF $\alpha$  ekspresyonu ise PARA+AGO 10 mg/kg grubunda sağlıklı grupla benzer olarak bulundu. TNF $\alpha$

ekspresyonu göz önüne alınarak agonist uygulamasının özellikle 10 mg/kg dozunda NAC uygulamasından inflamasyonu önlemede daha etkili olduğu, 5 mg/kg dozunda ise NAC ile aynı etkide olduğu görüldü. Antagonist uygulamasının ise toksisite grubu ile benzer etkiler gösterdiği belirlendi. Serotoninin, mezengiyal hücrelerde tip 4 kollajen üretimini ve fibrozisi  $TGF\beta_1$ 'i etkileyerek oluşturabileceği düşünülmektedir.<sup>20</sup> Grewal ve ark.<sup>103</sup> yaptıkları bir çalışmada sıçan mesengiyal hücrelerinde serotoninin doza ve zamana bağımlı olarak 5-HT<sub>2A</sub> reseptörleri üzerinden  $TGF\beta_1$  düzeyini etkilediğini görmüşlerdir. Bu bulgular da agonist uyguladığımız gruplarda  $TGF\beta_1$  ekspresyonunda meydana gelen azalmayı desteklemektedir.

Serotoninin, insan vücudunda %95'inin mide ve barsak mukozası enterokromafin hücrelerinde, daha az oranda ise oradaki enterik mast hücrelerinde ve serotonerjik nöronlarda olduğu tespit edilmiştir. Bunun dışında kalan 5-HT'nin büyük kısmı ise kanda trombositler içinde bulunmaktadır ve periferdeki etkilerini reseptörleri üzerinden göstermektedir. Kim ve ark.<sup>161</sup> yaptıkları bir çalışmada 5-HT<sub>7</sub> reseptör antagonistlerinin (SB-269970) kolitte ve buna bağlı oluşan immün cevapta rollerini çalışarak, inflamatuvar barsak hastalığı gibi hastalıklarda etkileri olabileceğini öne sürmüşlerdir. Albayrak ve ark.<sup>26</sup> sıçanlarda karageninle oluşturulan pençe ödeminde indometazin, 5-HT<sub>7</sub> reseptör agonist (AS-19) ve antagonistlerinin (SB269970) etkilerini çalışmışlardır. Özellikle agonist verilen gruplarda antiinflamatuvar ve antioksidan etkiler olabileceğini gözlemlemişler ve inflamasyonda 5-HT<sub>7</sub> reseptörlerinin etkilerine dikkat çekmişlerdir. Başka bir çalışmada ise parasetamolle indüklenen hepatotoksistide 5-HT<sub>7</sub> reseptörlerinin, agonistler (AS-19) ile uyarılması sonucu karaciğer hasarını azaltabileceğini göstermişlerdir.<sup>28</sup>

Biz de çalışmamızda bu bilgilere dayanarak, böbrek dokusunda 5-HT<sub>7</sub> reseptörlerinin ekspresyonunu inceledik. Sağlıklı grupta 5-HT<sub>7</sub> ekspresyonu bulundu.

Parasetamol grubunda sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlendi. PARA+AGO 10 mg/kg grubunda ise parasetamol grubuna göre anlamlı bir azalma, sağlıklı gruba yakın değerler izlendi. Antagonist uygulamaları parasetamol grubu ile benzer etkiler gösterirken, agonist ve antagonist tedavisinin birlikte verildiği grubun ekspresyonu sağlıklı gruba yakınlaştı.

Çalışmamız parasetamole bağlı nefrotoksisitede, böbrekte 5-HT<sub>7</sub> reseptör ekspresyonunun arttığını ilk kez göstermiştir. Agonist uygulanması ile nefrotoksisitenin azalması ve buna bağlı olarak da reseptör ekspresyonunun normal düzeye dönmesi 5HT<sub>7</sub> reseptörlerinin böbrekte bir savunma mekanizması gibi çalıştığını ve toksisite durumunda aktive olduğunu ortaya koymaktadır.

Parasetamol nefrotoksisitesini değerlendirmede sadece antioksidan enzimler ve sitokinlerin düzeyleri değil histopatolojik incelemede çok önemlidir. Dokudaki hasarı daha iyi görmemize olanak sağlamaktadır. Demirbag ve ark.<sup>172</sup> yaptıkları bir çalışmada parasetamolle indüklenen nefrotoksisitede ozon terapisinin etkisini histopatolojik olarak incelemişlerdir. Parasetamol grubunda tübüler epitelde dejenerasyon, vakualizasyon, hücre desukuamasyonu, nekroz ve proksimal tübülde sellüler atıklar gözlemlemişlerdir. Parasetamol ve ozon verilen grupta ise hafif tübüler dejenerasyon ve epitelyal vakualizasyon, minimal selüler desukuamasyon gözlemlemişlerdir.<sup>172</sup>

Çalışmamızda sağlıklı grupta yapılan histopatolojik incelemede, fare böbrek dokularında glomerüler ve tübüler yapılar normal histolojik görünümdeydi. Parasetamol grubunda ise, glomerüllerde dilatasyon, tübüller arasında hemoraji, tübül hücrelerinde nekroz ile birlikte yumuşak vasküler ve inflamatuvar değişiklikler ayrıca böbrek tübüllerinde hipertrofik değişiklikler görüldü. PARA+NAC grubunda sağlıklı gruba göre herhangi bir vasküler ve inflamatuvar değişikliğe rastlanmadı ve sağlıklı gruba benzer bir böbrek dokusu izlendi. PARA+AGO 5 mg/kg grubunda yumuşak glomerüler

dilatasyonlar ve böbrek tübül yapılarında hipertrofik değişiklikler gözlenirken dokunun parasetamol grubuna göre önemli derecede korunduğu gözlemlendi. PARA+ AGO 10mg/kg grubunda yumuşak glomerular dilatasyonlar ve böbrek tübül yapılarında hipertrofik değişikliklere ilaveten tübüler konjesyonlarda dokunun sağlıklı gruba benzer bir yapı gösterdiği gözlemlendi. İnceleme sonucunda agonist uygulamasının özellikle 5 mg/kg dozunda histopatolojik bakımdan daha iyi düzelme gösterdiği tespit edildi. Antagonist uygulamalarının ise toksisite grubuna benzer değişikliklere sebep olduğu gözlemlendi.

Zou ve ark.<sup>173</sup> yaptıkları bir çalışmada sisplatinle indüklenen nefrotoksisitede bir çeşit kateşinin etkilerini immunohistokimyasal yöntemler kullanarak incelemişlerdir. Cadırcı ve ark.<sup>27</sup> yaptıkları bir çalışmada 5-HT<sub>7</sub> reseptörlerinin sepsiste etkilerini incelemişler ve akciğer kesitlerinde özellikle sepsis grubunda immunohistokimyasal olarak 5-HT<sub>7</sub> pozitifliğini göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda da böbrek kesitlerinde immunohistokimyasal yöntem ile 5-HT<sub>7</sub> reseptörlerinin parasetamole bağlı nefrotoksisitede durumu incelendi. Sağlıklı gruptaki boyanmalar glomeruluslarda belirgin iken, tübüller arasında da boyanma görüldü. Parasetamol verilen grupta glomerüllerde boyanma sağlıklı gruba göre artmış iken interstisyel alanda belirgin bir biçimde azalma izlendi. Agonist gruplarında sağlıklı grupla benzer boyanma izlenmesi çalışmamızı destekler nitelikte idi.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Parasetamol doz aşımında tedavide NAC kullanılmaktadır. Bu nedenle çalıştığımız 5-HT<sub>7</sub> Agonist ve Antagonistlerinin etkilerini, NAC tedavisi ile karşılaştırmalı olarak inceledik. Deneysel çalışmalar sonucunda;

Böbrek fonksiyonlarının önemli bir göstergesi olan BUN ve kreatinin düzeylerinde, 5-HT<sub>7</sub> Agonisti verilen gruplarda NAC tedavisine yakın düzelme görülmüştür. Bununla beraber antioksidan parametrelerden SOD aktivitesi ve GSH düzeylerinin agonist verilen gruplarından özellikle 5 mg/kg dozunda, NAC verilen gruptan daha etkili olduğunu görmekteyiz. Doku hasarının öncülü MDA düzeyine bakıldığında agonist uygulamasının, dokuyu NAC grubundan daha etkin koruduğu görülmektedir. İnflamatuvar cevabı değerlendirdiğimiz TGF- $\beta$ <sub>1</sub> ve TNF- $\alpha$  ekspresyonlarının agonist verilen gruplarda NAC verilen grupla eşdeğer, hatta TNF- $\alpha$  için daha iyi sonuç verdiği görülmektedir. Histopatolojik incelemeler de göz önüne alındığında agonist uygulamasının dokuda NAC tedavisi ile eşdeğer düzelme gösterdiğini görmekteyiz.

Çalışmamız, parasetamole bağlı nefrotoksisitede böbrekte 5-HT<sub>7</sub> reseptör ekspresyonunun arttığını ilk kez göstermiştir. Agonist uygulanması ile nefrotoksisitenin azalması ve buna bağlı olarak da reseptör ekspresyonunun normal düzeye dönmesi, 5HT<sub>7</sub> reseptörlerinin böbrekte bir savunma mekanizması gibi çalıştığını ve toksisite durumunda aktive olduğunu ortaya koymaktadır. İmmunohistokimyasal boyamalar da bu durumu desteklemektedir.

İleriki çalışmalarda ise 5-HT<sub>7</sub> agonistlerinin parasetamole bağlı nefrotoksisitedeki hasarı önlemedeki mekanizmaları aydlatılmalı ve farklı nefrotoksisite modellerinde veya renal hasarda etkileri incelenmelidir.

Bu çalışma sonucunda 5-HT<sub>7</sub> reseptörleri, parasetamol ve/veya başka maddeler ile indüklenen nefrotoksisitenin hem mekanistik çalışmaları, hem de tedavi süreci için yeni hedefler olarak ortaya konulacaktır. Böylece sadece bizim çalıştığımız agonist değil yeni geliştirilecek birçok 5-HT<sub>7</sub> reseptör agonisti madde potansiyel nefroprotektif ilaç hammaddesi olarak araştırılabilecektir.



## KAYNAKLAR

1. Ulusal Zehir Danışma Merkezi 2008 Yılı Çalışma Raporu Özeti, 2009.
2. Lee WM. Acetaminophen and the U.S. Acute Liver Failure Study Group: lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology*, 2004, 40: 6-9.
3. Wei G, Bergquist A, Broome U, Lindgren S, Wallerstedt S, Almer S, Sangfelt P, Danielsson A, Sandberg-Gertzen H, Loof L, Prytz H, Bjornsson E. Acute liver failure in Sweden: etiology and outcome. *Journal Of Internal Medicine*, 2007, 262: 393-401.
4. Curry RW, Jr., Robinson JD, Sughrue MJ. Acute renal failure after acetaminophen ingestion. *JAMA*, 1982, 247: 1012-1014.
5. Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Journal of Medical Toxicology*, 2008, 4: 2-6.
6. Prescott LF. Paracetamol overdose. Pharmacological considerations and clinical management. *Drugs*, 1983, 25: 290-314.
7. 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. *Renal Failure*, 2010, 32: 1125-1127.
8. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology*, 2001, 31: 55-138.
9. Stern ST, Bruno MK, Hennig GE, Horton RA, Roberts JC, Cohen SD. Contribution of acetaminophen-cysteine to acetaminophen nephrotoxicity in CD-1 mice: I. Enhancement of acetaminophen nephrotoxicity by acetaminophen-cysteine. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2005, 202: 151-159.

10. Ucar F, Taslipinar MY, Alp BF, Aydin I, Aydin FN, Agilli M, Toygar M, Ozkan E, Macit E, Oztosun M, Cayci T, Ozcan A. The effects of N-acetylcysteine and ozone therapy on oxidative stress and inflammation in acetaminophen-induced nephrotoxicity model. *Renal Failure* , 2013, 35: 640-647.
11. Ahmad ST, Arjumand W, Nafees S, Seth A, Ali N, Rashid S, Sultana S. Hesperidin alleviates acetaminophen induced toxicity in Wistar rats by abrogation of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Toxicology Letters*, 2012, 208: 149-161.
12. Lorz C, Justo P, Sanz A, Subira D, Egido J, Ortiz A. Paracetamol-induced renal tubular injury: a role for ER stress. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2004, 15: 380-389.
13. Cermik H, Taslipinar MY, Aydin I, Agilli M, Aydin FN, Ucar F, Alp BF, Toygar M, Ozkan E, Altayli E, Cayci T. The Relationship Between N-acetylcysteine, Hyperbaric Oxygen, and Inflammation in a Rat Model of Acetaminophen-induced Nephrotoxicity. *Inflammation*, 2013, 36: 1145-1152.
14. Dhibi S, Mbarki S, Elfeki A, Hfaiedh N. Eucalyptus globulus extract protects upon acetaminophen-induced kidney damages in male rat. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 2014, 14: 99-104.
15. Aly HF, Rizk MZ, Abo-Elmatty DM, Desoky MM, Na I, Younis EA. Protective effect of *Caesalpinia gilliesii* and *Cajanus cajan* proteins against acetaminophen overdose-induced renal damage. *Toxicology and Industrial Health*, 2013.
16. Sharma CK, Sharma V. Nephroprotective effect of jaggery against acute and subchronic toxicity of acetaminophen in Wistar rats. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* , 2012, 31: 265-272.

17. Yang GB, Qiu CL, Zhao H, Liu Q, Shao Y. Expression of mRNA for multiple serotonin (5-HT) receptor types/subtypes by the peripheral blood mononuclear cells of rhesus macaques *Journal of Neuroimmunology* , 2006, 178: 24-29.
18. Amireault P, Sibon D, Cote F. Life without peripheral serotonin: insights from tryptophan hydroxylase 1 knockout mice reveal the existence of paracrine/autocrine serotonergic networks. *ACS Chemical Neuroscience*, 2013, 4: 64-71.
19. Tian RX, Kimura S, Kondou N, Fujisawa Y, Zhou MS, Yoneyama H, Kosaka H, Rahman M, Nishiyama A, Abe Y. DOI, a 5-HT<sub>2</sub> receptor agonist, induces renal vasodilation via nitric oxide in anesthetized dogs. *European Journal of Pharmacology*, 2002, 437: 79-84.
20. Kasho M, Sakai M, Sasahara T, Anami Y, Matsumura T, Takemura T, Matsuda H, Kobori S, Shichiri M. Serotonin enhances the production of type IV collagen by human mesangial cells. *Kidney International*, 1998, 54: 1083-1092.
21. Doggrel SA. The role of 5-HT on the cardiovascular and renal systems and the clinical potential of 5-HT modulation. *Expert Opinion on Investigational Drugs* , 2003, 12: 805-823.
22. Leopoldo M, Lacivita E, Berardi F, Perrone R, Hedlund PB. Serotonin 5-HT<sub>7</sub> receptor agents: Structure-activity relationships and potential therapeutic applications in central nervous system disorders. *Pharmacol Therapeutics*, 2011, 129: 120-148.
23. Nilsson T, Longmore J, Shaw D, Pantev E, Bard JA, Branchek T, Edvinsson L. Characterisation of 5-HT receptors in human coronary arteries by molecular and pharmacological techniques. *European Journal of Pharmacology*, 1999, 372: 49-56.

24. Ullmer C, Schmuck K, Kalkman HO, Lubbert H. Expression of serotonin receptor mRNAs in blood vessels. *FEBS Letters*, 1995, 370: 215-221.
25. Stefulj J, Jernej B, Cicin-Sain L, Rinner I, Schauenstein K. mRNA expression of serotonin receptors in cells of the immune tissues of the rat. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2000, 14: 219-224.
26. Albayrak A, Halici Z, Cadirci E, Polat B, Karakus E, Bayir Y, Unal D, Atasoy M, Dogrul A. Inflammation and peripheral 5-HT7 receptors: the role of 5-HT7 receptors in carrageenan induced inflammation in rats. *European Journal of Pharmacology*, 2013, 715: 270-279.
27. Cadirci E, Halici Z, Bayir Y, Albayrak A, Karakus E, Polat B, Unal D, Atamanalp SS, Aksak S, Gundogdu C. Peripheral 5-HT7 receptors as a new target for prevention of lung injury and mortality in septic rats. *Immunobiology*, 2013, 218: 1271-1283.
28. Albayrak A, Serotonin-7 Reseptörlerinin Parasetamol ile İndüklenen Deneysel Karaciğer Toksisitesindeki Yeri ve Önemi, Türk Farmakoloji Derneği Farmakoloji Eğitiminde Kuşaklararası Bilimsel Etkileşme Seminerleri Programı, 2013, Bursa.
29. Vural N. *Toksikoloji*. Baskı. Ankara, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 2005.
30. Bronstein AC, Spyker DA, Cantilena LR, Jr., Green JL, Rumack BH, Heard SE, American Association of Poison Control C. 2007 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 25th Annual Report. *Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)*, 2008, 46: 927-1057.
31. Dal O. Acil Servise Başvuran Zehirlenme Olgularının Geriye Dönük İncelemesi. *Çağdaş Tıp Dergisi*, 2013, 3: 22-27

32. T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü. Saha Uygulaması Çalışması. Birinci Basamağa Yönelik Zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri.
33. Morse HN. Ueber eine neue Darstellungsmethode der Acetylamidophenole. *Berichte Deutcher Chemischen Gesellschaft*, 1878, 11: 232-233.
34. Prescott LF. Paracetamol: past, present, and future. *American Journal of Therapeutics*, 2000, 7: 143-147.
35. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1948, 94: 29-38.
36. Graham GG, Scott KF. Mechanism of action of paracetamol. *American Journal of Therapeutics*, 2005, 12: 46-55.
37. 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.
38. Ouellet M, Percival MD. Mechanism of acetaminophen inhibition of cyclooxygenase isoforms. *Archives of Biochemistry and Biophysics* , 2001, 387: 273-280.
39. Kayaalp O. *Akılci Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 13 Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2012: 868-883.
40. Smith HS. Potential analgesic mechanisms of acetaminophen. *Pain Physician*, 2009, 12: 269-280.
41. Raffa RB, Walker EA, Sterious SN. Opioid receptors and acetaminophen (paracetamol). *European Journal of Pharmacology*, 2004, 503: 209-210.
42. Roca-Vinardell A, Ortega-Alvaro A, Gibert-Rahola J, Mico JA. The role of 5-HT1A/B autoreceptors in the antinociceptive effect of systemic administration of acetaminophen. *Anesthesiology*, 2003, 98: 741-747.

43. Bujalska M. Effect of nitric oxide synthase inhibition on antinociceptive action of different doses of acetaminophen. *Polish Journal of Pharmacology*, 2004, 56: 605-610.
44. Ottani A, Leone S, Sandrini M, Ferrari A, Bertolini A. The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. *European Journal of Pharmacology*, 2006, 531: 280-281.
45. Bruton LL. *Goodman Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli*. İstanbul, Nobel Tıp Kitebevlere, 2006.
46. Cohen SD, Khairallah EA. Selective protein arylation and acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism Reviews*, 1997, 29: 59-77.
47. Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 2010: 369-405.
48. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drug metabolism. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187: 185-194.
49. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabolism and Disposition*, 2003, 31: 1499-1506.
50. Siegers CP, Schutt A. Dose-dependent biliary and renal excretion of paracetamol in the rat. *Pharmacology*, 1979, 18: 175-179.
51. Tarloff JB, Goldstein RS, Morgan DG, Hook JB. Acetaminophen and p-aminophenol nephrotoxicity in aging male Sprague-Dawley and Fischer 344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1989, 12: 78-91.
52. Donnely PJ. Inhibition of mitochondrial respiration invivo is an early event in aetaminophen-induced hepatotoxicity. *Archives of Toxicology*, 1994, 68: 110-118.

53. Nelson SD. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. *Seminars in Liver Disease*, 1990, 10: 267-278.
54. Tran A, Treluyer JM, Rey E, Barbet J, Ferracci G, d'Athis P, Vincent J, Pons G. Protective effect of stiripentol on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2001, 170: 145-152.
55. Waters E, Wang JH, Redmond HP, Wu QD, Kay E, Bouchier-Hayes D. Role of taurine in preventing acetaminophen-induced hepatic injury in the rat. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2001, 280: G1274-1279.
56. Zaher H, Buters JT, Ward JM, Bruno MK, Lucas AM, Stern ST, Cohen SD, Gonzalez FJ. Protection against acetaminophen toxicity in CYP1A2 and CYP2E1 double-null mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1998, 152: 193-199.
57. Boutis K, Shannon M. Nephrotoxicity after acute severe acetaminophen poisoning in adolescents. *Journal of Clinical Toxicology*, 2001, 39: 441-445.
58. Masson MJ, Collins LA, Carpenter LD, Graf ML, Ryan PM, Bourdi M, Pohl LR. Pathologic role of stressed-induced glucocorticoids in drug-induced liver injury in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010, 397: 453-458.
59. Tintinalli JE. *Tintinalli Acil Tıp*. 7 Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2012: 1187-1252.
60. Ronco PM, Flahault A. Drug-induced end-stage renal disease. *New England Journal of Medicine*, 1994, 331: 1711-1712.
61. Mohler CR, Nordt SP, Williams SR, Manoguerra AS, Clark RF. Prospective evaluation of mild to moderate pediatric acetaminophen exposures. *Annals of Emergency Medicine*, 2000, 35: 239-244.

62. 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.
63. 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.
64. Bray GP, Tredger JM, Williams R. S-adenosylmethionine protects against acetaminophen hepatotoxicity in two mouse models. *Hepatology*, 1992, 15: 297-301.
65. Carrasco R, Perez-Mateo M, Gutierrez A, Esteban A, Mayol MJ, Caturla J, Ortiz P. Effect of different doses of S-adenosyl-L-methionine on paracetamol hepatotoxicity in a mouse model. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 2000, 22: 737-740.
66. Song Z, Zhou Z, Chen T, Hill D, Kang J, Barve S, McClain C. S-adenosylmethionine (SAME) protects against acute alcohol induced hepatotoxicity in mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2003, 14: 591-597.
67. Terneus MV, Kiningham KK, Carpenter AB, Sullivan SB, Valentovic MA. Comparison of S-Adenosyl-L-methionine and N-acetylcysteine protective effects on acetaminophen hepatic toxicity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2007, 320: 99-107.
68. 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.
69. Guyton AC. *Tıbbi Fizyoloji*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007: 307-347.
70. Drake RL. *Gray's Anatomy*. Ankara, Güneş Kitabevi, 2007:320- 327.



71. Bektur NE. Silymarin'in Asetaminofen (Parasetamol) Kaynaklı Karaciğer ve Böbrek Toksisitesi Üzerine İyileştirici Etkisi. Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, 2012.
72. Emerk K. *İnsan Biyokimyası*. Türkiye, Palme Yayıncılık, 2002: 37-42.
73. El-Sayed EM. Thymol and Carvacrol Prevent Cisplatin-Induced Nephrotoxicity by Abrogation of Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis in Rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2014.
74. Somchit MN, Sanat F, Hui GE, Wahab SI, Ahmad Z. Mefenamic Acid induced nephrotoxicity: an animal model. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2014, 4: 401-404.
75. Weinberg JM. *The cellular basis of nephrotoxicity* 5. Baskı. Boston, Brown and Company, 1993: 1031-1098.
76. Somani SM, Husain K, Whitworth C, Trammell GL, Malafa M, Rybak LP. Dose-dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: Antioxidant defense system. *Pharmacology & Toxicology*, 2000, 86: 234-241.
77. Hayes W. *Principles and Methods of Toxicology* 5 Baskı. Philadelphia, 2006: 1509.
78. Gu J, Cui H, Behr M, Zhang L, Zhang QY, Yang W, Hinson JA, Ding X. In vivo mechanisms of tissue-selective drug toxicity: effects of liver-specific knockout of the NADPH-cytochrome P450 reductase gene on acetaminophen toxicity in kidney, lung, and nasal mucosa. *Molecular Pharmacology*, 2005, 67: 623-630.
79. Blantz RC. Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function. *American Journal of Kidney Diseases*, 1996, 28: S3-6.
80. Blakely P, McDonald BR. Acute renal failure due to acetaminophen ingestion: a case report and review of the literature. *Journal of the American Society of Nephrology*, 1995, 6: 48-53.

81. Cobden I, Record CO, Ward MK, Kerr DN. Paracetamol-induced acute renal failure in the absence of fulminant liver damage. *British medical journal (Clinical research ed.)*, 1982, 284: 21-22.
82. Bjorck S, Svalander CT, Aurell M. Acute renal failure after analgesic drugs including paracetamol (acetaminophen). *Nephron*, 1988, 49: 45-53.
83. Lorz C, Justo P, Sanz AB, Egido J, Ortiz A. Role of Bcl-xL in paracetamol-induced tubular epithelial cell death. *Kidney International*, 2005, 67: 592-601.
84. Khandkar MA, Parmar DV, Das M, Katyare SS. Is activation of lysosomal enzymes responsible for paracetamol-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity? *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 1996, 48: 437-440.
85. 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.
86. Mugford CA, Tarloff JB. The contribution of oxidation and deacetylation to acetaminophen nephrotoxicity in female Sprague-Dawley rats. *Toxicol Letters*, 1997, 93: 15-22.
87. Trumper L, Monasterolo LA, Ochoa E, Elias MM. Tubular effects of acetaminophen in the isolated perfused rat kidney. *Archives of Toxicology*, 1995, 69: 248-252.
88. Zhao YL, Zhou GD, Yang HB, Wang JB, Shan LM, Li RS, Xiao XH. Rhein protects against acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49: 1705-1710.
89. 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. *International Journal of Surgery*, 2014, 13C: 33-37.

90. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *American Journal of Surgical Pathology*, 1991, 161: 488-503.
91. Kayaalp O. *Akılçıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2012: 641-648.
92. Abheri DS AR, Ghosh AK. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. . *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 2010, 1: 185-192.
93. Capellini VK, Celotto AC, Baldo CF, Olivon VC, Viaro F, Rodrigues AJ, Evora PR. Diabetes and vascular disease: basic concepts of nitric oxide physiology, endothelial dysfunction, oxidative stress and therapeutic possibilities. *Current Vascular Pharmacology*, 2010, 8: 526-544.
94. Fiorentino TV, Prioletta A, Zuo P, Folli F. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 2013, 19: 5695-5703.
95. Jaeschke H, McGill MR, Ramachandran A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metabolism Reviews*, 2012, 44: 88-106.
96. Dimova S, Hoet PH, Dinsdale D, Nemery B. Acetaminophen decreases intracellular glutathione levels and modulates cytokine production in human alveolar macrophages and type II pneumocytes in vitro. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2005, 37: 1727-1737.
97. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, 57: 715S-724S; discussion 724S-725S.

98. Pacifici RE, Davies KJ. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: the free-radical theory of aging revisited. *Gerontology*, 1991, 37: 166-180.
99. Siegel PM, Massague J. Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2003, 3: 807-821.
100. Perlman R, Schiemann WP, Brooks MW, Lodish HF, Weinberg RA. TGF-beta-induced apoptosis is mediated by the adapter protein Daxx that facilitates JNK activation. *Nature Cell Biology*, 2001, 3: 708-714.
101. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annual Review of Immunology*, 2006, 24: 99-146.
102. Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annual Review of Immunology*, 1998, 16: 137-161.
103. Grewal JS, Mukhin YV, Garnovskaya MN, Raymond JR, Greene EL. Serotonin 5-HT2A receptor induces TGF-beta1 expression in mesangial cells via ERK: proliferative and fibrotic signals. *American Journal of Physiology*, 1999, 276: F922-930.
104. Carlos CP, Sonehara NM, Oliani SM, Burdmann EA. Predictive Usefulness of Urinary Biomarkers for the Identification of Cyclosporine A-Induced Nephrotoxicity in a Rat Model. *Plos One*, 2014, 9.
105. Erspamer V AB. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. *Nature*, 1952, 169: 800-801.
106. Rapport MM, Green AA, Page IH. Crystalline Serotonin. *Science*, 1948, 108: 329-330.

107. Freyburger WA, Graham BE, Rapport MM, Seay PH, Govier WM, Swoap OF, Vander Brook MJ. The pharmacology of 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1952, 105: 80-86.
108. Twarog BM, Page IH. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *American Journal of Physiology*, 1953, 175: 157-161.
109. Twarog BM. Responses of a molluscan smooth muscle to acetylcholine and 5-hydroxytryptamine. *Journal Cell Physiology*, 1954, 44: 141-163.
110. Kema IP, de Vries EG, Muskiet FA. Clinical chemistry of serotonin and metabolites. *Journal of Chromatography B Biomedical Sciences and Applications*, 2000, 747: 33-48.
111. Kayaalp O. *Akılci Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 13. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2012: 1302-1310.
112. Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2002, 71: 533-554.
113. Berger M, Gray JA, Roth BL. The expanded biology of serotonin. *Annual Review of Medicine*, 2009, 60: 355-366.
114. Gaddum JH, Picarelli ZP. Two kinds of tryptamine receptor. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 1957, 12: 323-328.
115. Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphrey PP. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacology Reviews*, 1994, 46: 157-203.

116. Hannon J, Hoyer D. Molecular biology of 5-HT receptors. *Behavioural Brain Research*, 2008, 195: 198-213.
117. Gamoh S, Hisa H, Yamamoto R. 5-hydroxytryptamine receptors as targets for drug therapies of vascular-related diseases. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2013, 36: 1410-1415.
118. Engel G, Gothert M, Hoyer D, Schlicker E, Hillenbrand K. Identity of inhibitory presynaptic 5-hydroxytryptamine (5-HT) autoreceptors in the rat brain cortex with 5-HT<sub>1B</sub> binding sites. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 1986, 332: 1-7.
119. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 1999, 38: 1083-1152.
120. Morecroft I, Heeley RP, Prentice HM, Kirk A, MacLean MR. 5-hydroxytryptamine receptors mediating contraction in human small muscular pulmonary arteries: importance of the 5-HT<sub>1B</sub> receptor. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 128: 730-734.
121. Nilsson T, Longmore J, Shaw D, Olesen JJ, Edvinsson L. Contractile 5-HT<sub>1B</sub> receptors in human cerebral arteries: pharmacological characterization and localization with immunocytochemistry. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 128: 1133-1140.
122. Banes AK, Watts SW. Enhanced contraction to 5-hydroxytryptamine is not due to "unmasking" of 5-hydroxytryptamine(1b) receptors in the mesenteric artery of the deoxycorticosterone acetate-salt rat. *Hypertension*, 2001, 38: 891-895.
123. Fu LW, Longhurst JC. Activated platelets contribute to stimulation of cardiac afferents during ischaemia in cats: role of 5-HT(3) receptors. *Journal of Physiology*, 2002, 544: 897-912.

124. Kaumann AJ, Sanders L, Brown AM, Murray KJ, Brown MJ. A 5-hydroxytryptamine receptor in human atrium. *British Journal of Pharmacology*, 1990, 100: 879-885.
125. Yadav VK, Ryu JH, Suda N, Tanaka KF, Gingrich JA, Schutz G, Glorieux FH, Chiang CY, Zajac JD, Insogna KL, Mann JJ, Hen R, Ducy P, Karsenty G. Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum. *Cell*, 2008, 135: 825-837.
126. Yadav VK, Balaji S, Suresh PS, Liu XS, Lu X, Li Z, Guo XE, Mann JJ, Balapure AK, Gershon MD, Medhamurthy R, Vidal M, Karsenty G, Ducy P. Pharmacological inhibition of gut-derived serotonin synthesis is a potential bone anabolic treatment for osteoporosis. *Nature Medicine*, 2010, 16: 308-312.
127. Yadav VK, Arantes HP, Barros ER, Lazaretti-Castro M, Ducy P. Genetic analysis of Lrp5 function in osteoblast progenitors. *Calcified Tissue International*, 2010, 86: 382-388.
128. Murata S, Ohkohchi N, Matsuo R, Ikeda O, Myronovych A, Hoshi R. Platelets promote liver regeneration in early period after hepatectomy in mice. *World Journal of Surgery*, 2007, 31: 808-816.
129. Papadimas GK, Tzirogiannis KN, Panoutsopoulos GI, Demonakou MD, Skaltsas SD, Hereti RI, Papadopoulou-Daifoti Z, Mykoniatis MG. Effect of serotonin receptor 2 blockage on liver regeneration after partial hepatectomy in the rat liver. *Liver International*, 2006, 26: 352-361.
130. Lesurtel M, Graf R, Aleil B, Walther DJ, Tian Y, Jochum W, Gachet C, Bader M, Clavien PA. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration. *Science*, 2006, 312: 104-107.

131. Lowy PH, Keighley G, Cohen NS. Stimulation by serotonin of erythropoietin-dependent erythropoiesis in mice. *British Journal of Haematology*, 1970, 19: 711-718.
132. Noveck RJ, Fisher JW. Erythropoietic effects of 5-hydroxytryptamine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1971, 138: 103-107.
133. Paulmann N, Grohmann M, Voigt JP, Bert B, Vowinckel J, Bader M, Skelin M, Jevsek M, Fink H, Rupnik M, Walther DJ. Intracellular serotonin modulates insulin secretion from pancreatic beta-cells by protein serotonylation. *PLoS Biology*, 2009, 7: e1000229.
134. Freire-Garabal M, Nunez MJ, Balboa J, Lopez-Delgado P, Gallego R, Garcia-Caballero T, Fernandez-Roel MD, Brenlla J, Rey-Mendez M. Serotonin upregulates the activity of phagocytosis through 5-HT1A receptors. *British Journal of Pharmacology*, 2003, 139: 457-463.
135. Matthes H, Boschert U, Amlaiky N, Grailhe R, Plassat JL, Muscatelli F, Mattei MG, Hen R. Mouse 5-hydroxytryptamine5A and 5-hydroxytryptamine5B receptors define a new family of serotonin receptors: cloning, functional expression, and chromosomal localization. *Molecular Pharmacology*, 1993, 43: 313-319.
136. Lovenberg TW, Erlander MG, Baron BM, Racke M, Slone AL, Siegel BW, Craft CM, Burns JE, Danielson PE, Sutcliffe JG. Molecular cloning and functional expression of 5-HT1E-like rat and human 5-hydroxytryptamine receptor genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90: 2184-2188.



137. Meyerhof W, Obermuller F, Fehr S, Richter D. A novel rat serotonin receptor: primary structure, pharmacology, and expression pattern in distinct brain regions. *DNA Cell Biology*, 1993, 12: 401-409.
138. Ruat M, Traiffort E, Leurs R, Tardivel-Lacombe J, Diaz J, Arrang JM, Schwartz JC. Molecular cloning, characterization, and localization of a high-affinity serotonin receptor (5-HT<sub>7</sub>) activating cAMP formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90: 8547-8551.
139. Shen Y, Monsma FJ, Jr., Metcalf MA, Jose PA, Hamblin MW, Sibley DR. Molecular cloning and expression of a 5-hydroxytryptamine<sub>7</sub> serotonin receptor subtype. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268: 18200-18204.
140. Tsou AP, Kosaka A, Bach C, Zuppan P, Yee C, Tom L, Alvarez R, Ramsey S, Bonhaus DW, Stefanich E, et al. Cloning and expression of a 5-hydroxytryptamine<sub>7</sub> receptor positively coupled to adenylyl cyclase. *Journal of Neurochemistry*, 1994, 63: 456-464.
141. Bard JA, Zgombick J, Adham N, Vaysse P, Branchek TA, Weinshank RL. Cloning of a novel human serotonin receptor (5-HT<sub>7</sub>) positively linked to adenylyl cyclase. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268: 23422-23426.
142. Gelernter J, Rao PA, Pauls DL, Hamblin MW, Sibley DR, Kidd KK. Assignment of the 5HT<sub>7</sub> receptor gene (HTR7) to chromosome 10q and exclusion of genetic linkage with Tourette syndrome. *Genomics*, 1995, 26: 207-209.
143. Heidmann DE, Szot P, Kohen R, Hamblin MW. Function and distribution of three rat 5-hydroxytryptamine<sub>7</sub> (5-HT<sub>7</sub>) receptor isoforms produced by alternative splicing. *Neuropharmacology*, 1998, 37: 1621-1632.

144. Bonaventure P, Nepomuceno D, Hein L, Sutcliffe JG, Lovenberg T, Hedlund PB. Radioligand binding analysis of knockout mice reveals 5-hydroxytryptamine(7) receptor distribution and uncovers 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin interaction with alpha(2) adrenergic receptors. *Neuroscience*, 2004, 124: 901-911.
145. Thomas DR, Hagan JJ. 5-HT7 receptors. *Current Drug Targets CNS Neurological Disorders*, 2004, 3: 81-90.
146. Geurts FJ, De Schutter E, Timmermans JP. Localization of 5-HT2A, 5-HT3, 5-HT5A and 5-HT7 receptor-like immunoreactivity in the rat cerebellum. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2002, 24: 65-74.
147. Tuladhar BR, Ge L, Naylor RJ. 5-HT7 receptors mediate the inhibitory effect of 5-HT on peristalsis in the isolated guinea-pig ileum. *British Journal of Pharmacology*, 2003, 138: 1210-1214.
148. Irving HR, Tan YY, Tochon-Danguy N, Liu H, Chetty N, Desmond PV, Pouton CW, Coupar IM. Comparison of 5-HT4 and 5-HT7 receptor expression and function in the circular muscle of the human colon. *Life Science*, 2007, 80: 1198-1205.
149. Leon-Ponte M, Ahern GP, O'Connell PJ. Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT7 receptor. *Blood*, 2007, 109: 3139-3146.
150. Gellynck E, Heyninck K, Andressen KW, Haegeman G, Levy FO, Vanhoenacker P, Van Craenenbroeck K. The serotonin 5-HT7 receptors: two decades of research. *Experimental Brain Research*, 2013, 230: 555-568.
151. Lovenberg TW, Baron BM, de Lecea L, Miller JD, Prosser RA, Rea MA, Foye PE, Racke M, Slone AL, Siegel BW, et al. A novel adenylyl cyclase-activating

- serotonin receptor (5-HT<sub>7</sub>) implicated in the regulation of mammalian circadian rhythms. *Neuron*, 1993, 11: 449-558.
152. Guscott MR, Egan E, Cook GP, Stanton JA, Beer MS, Rosahl TW, Hartmann S, Kulagowski J, McAllister G, Fone KC, Hutson PH. The hypothermic effect of 5-CT in mice is mediated through the 5-HT<sub>7</sub> receptor. *Neuropharmacology*, 2003, 44: 1031-1037.
153. Hedlund PB, Danielson PE, Thomas EA, Slanina K, Carson MJ, Sutcliffe JG. No hypothermic response to serotonin in 5-HT<sub>7</sub> receptor knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2003, 100: 1375-1380.
154. Meneses A, Manuel-Apolinar L, Rocha L, Castillo E, Castillo C. Expression of the 5-HT receptors in rat brain during memory consolidation. *Behavioural Brain Research*, 2004, 152: 425-436.
155. Roberts AJ, Hedlund PB. The 5-HT(7) receptor in learning and memory. *Hippocampus*, 2012, 22: 762-771.
156. Meneses A. Effects of the 5-HT<sub>7</sub> receptor antagonists SB-269970 and DR 4004 in autoshaping Pavlovian/instrumental learning task. *Behavioural Brain Research*, 2004, 155: 275-282.
157. Perez-Garcia GS, Meneses A. Effects of the potential 5-HT<sub>7</sub> receptor agonist AS 19 in an autoshaping learning task. *Behavioral Brain Research*, 2005, 163: 136-140.
158. Perez-Garcia G, Meneses A. Memory time-course: mRNA 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>7</sub> receptors. *Behavioral Brain Research*, 2009, 202: 102-113.
159. Bonaventure P, Dugovic C, Kramer M, De Boer P, Singh J, Wilson S, Bertelsen K, Di J, Shelton J, Aluisio L, Dvorak L, Fraser I, Lord B, Nepomuceno D, Ahnaou A, Drinkenburg W, Chai W, Dvorak C, Sands S, Carruthers N,

- Lovenberg TW. Translational evaluation of JNJ-18038683, a 5-hydroxytryptamine type 7 receptor antagonist, on rapid eye movement sleep and in major depressive disorder. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2012, 342: 429-440.
160. Hedlund PB, Huitron-Resendiz S, Henriksen SJ, Sutcliffe JG. 5-HT7 receptor inhibition and inactivation induce antidepressantlike behavior and sleep pattern. *Biological Psychiatry*, 2005, 58: 831-837.
161. Kim JJ, Bridle BW, Ghia JE, Wang H, Syed SN, Manocha MM, Rengasamy P, Shajib MS, Wan Y, Hedlund PB, Khan WI. Targeted inhibition of serotonin type 7 (5-HT7) receptor function modulates immune responses and reduces the severity of intestinal inflammation. *Journal of Immunology*, 2013, 190: 4795-4804.
162. Eriksson TM, Holst S, Stan TL, Hager T, Sjogren B, Ogren SO, Svenningsson P, Stiedl O. 5-HT1A and 5-HT7 receptor crosstalk in the regulation of emotional memory: implications for effects of selective serotonin reuptake inhibitors. *Neuropharmacology*, 2012, 63: 1150-1160.
163. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 1988, 34: 497-500.
164. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 1968, 25: 192-205.
165. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 1979, 95: 351-358.
166. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>(-Delta Delta C)</sup> method. *Methods*, 2001, 25: 402-408.

167. Naguib YM, Azmy RM, Samaka RM, Salem MF. Pleurotus ostreatus opposes mitochondrial dysfunction and oxidative stress in acetaminophen-induced hepatorenal injury. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 14: 494.
168. 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.
169. 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. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 2012, 13: 176-185.
170. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*, 1997, 43: 1209-1214.
171. van der Poll T, van Deventer SJ. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 1999, 13: 413-426, ix.
172. Demirbag S, Uysal B, Guven A, Cayci T, Ozler M, Ozcan A, Kaldirim U, Surer I, Korkmaz A. Effects of medical ozone therapy on acetaminophen-induced nephrotoxicity in rats. *Renal Failure*, 2010, 32: 493-497.
173. Zou P, Song J, Jiang B, Pei F, Chen B, Yang X, Liu G, Hu Z. Epigallocatechin-3-gallate protects against cisplatin nephrotoxicity by inhibiting the apoptosis in mouse. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2014, 7: 4607-4616.

## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

| Kişisel Bilgiler  |
|---|
| <p><b>Adı Soyadı:</b> Aslı ÖZBEK BİLGİN<br/><b>Doğum tarihi:</b> 18.07.1981<br/><b>Doğum yeri:</b> Tarsus<br/><b>Medeni hali:</b> Evli<br/><b>Uyruğu:</b> T.C.<br/><b>Adres:</b> Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM<br/><b>Tel:</b> 0442 236 87 36 _ 05053333079<br/><b>Faks:</b><br/><b>E-mail:</b> <a href="mailto:asliozbekbilgin@gmail.com">asliozbekbilgin@gmail.com</a></p> |
| Eğitim  |
| <p><b>Lise:</b> Abdul Kerim Bengi Anadolu Lisesi(1999)<br/><b>Lisans:</b> Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi (1999-2005)</p>  |
| Yabancı Dil Bilgisi   |
| <p>İngilizce: İyi Derecede(ÜDS 67.5)</p>  |
| Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar   |
| <p>Yok</p>  |
| İlgi Alanları ve Hobiler  |
| <p>Kitap okumak, bilgisayar programları, yemek yapmak, spor yapmak, müzik dinlemek, makale yazmak.</p>  |

## EK-2. ETİK KURULU ONAY FORMU



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

Sayı : 36643897-130  
Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

31.07.2014  
ERZURUM


ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

**İlgi** : 18.07.2014 tarih ve 42190979-01-02/3327 sayılı yazınız.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan “**Farelerde Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine 5-HT7 Reseptör Agonist ve Antagonistlerinin Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 25.07.2014 tarih ve 5 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 106 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

  
Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR  
Başkan

FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
Karar No : 3987  
Tarih : 07.08.2014

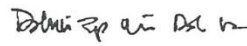
Toplantı Tarihi : 25.07.2014

Toplantı Sayısı : 5

**KARAR NO** : 106- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan “**Farelerde Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine 5-HT7 Reseptör Agonist ve Antagonistlerinin Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 18.07.2014 tarih ve 42190979-01-02/3327 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

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

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM  
Telefon : 0-442-231 47 30 Fax : 0-442-231 55 63 e-mail: hadyek@atauni.edu.tr

  
Prof. Dr. S. Selçuk ATAMANKAL  
Dekan

08 Ağustos 2014