

**BOSENTANIN PARASETAMOLLE
İNDÜKLENEN AKUT BÖBREK TOKSİSİTESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Seda ÖZALTIN

Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Zekai HALICI

Yüksek Lisans Tezi – 2015

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

**BOSENTANIN PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN
AKUT BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Seda ÖZALTIN

**Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

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

**ERZURUM
2015**

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

**BOSENTANIN PARASETAMOLLE İNDÜKLENEN AKUT
BÖBREK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Seda ÖZALTIN

Tez Savunma Tarihi : 13.01.2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Zekai HALICI

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Elif ÇADIRCI

Onay

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


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM

Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi

ERZURUM - 2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Zehirlenmeler	4
2.2. Böbrek.....	5
2.2.1. Böbreğin Yapı ve Fonksiyonları.....	5
2.3. Parasetamol (Asetaminofen).....	6
2.3.1. Parasetamolün Tarihçesi	6
2.3.2. Farmakokinetik ve Metabolizma	7
2.3.3. Farmakolojik Etkileri	8
2.3.4. Yan etkileri.....	9
2.3.5 Parasetamolün Toksik Etkileri.....	10
2.3.6. Parasetamol Zehirlenmesinde Tedavi	11
2.4. Endotelinler.....	12
2.4.1. Endotelin ve Böbrek İlişkisi.....	14
2.5. Bosentan.....	14
2.5.1. Bosentanın Farmakokinetiği	14
2.5.2. Bosentanın Endikasyonları ve Yan Etkileri	15
2.6. Serbest Oksijen Radikalleri.....	15
2.6.1. Hidroksil radikali (OH-).....	16

2.6.2. Singlet oksijen.....	16
2.6.3. Süperoksit Radikali (O ₂ • ⁻).....	16
2.6.4. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	16
2.6.5. Hipoklorik asit (HOCl).....	17
2.7. Serbest Radikal Kaynakları.....	17
2.8. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	17
2.8.1. Antioksidan Enzimler.....	18
2.8.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar.....	19
3. MATERYAL VE METOT.....	22
3.1. Materyal.....	22
3.1.1. Deney Hayvanları.....	22
3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve İlaçların Hazırlanışı.....	22
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	23
Tablo 3.2. Kullanılan alet ve cihazlar.....	23
3.2. Metot.....	24
3.2.1. Deney Planı.....	24
3.2.2. Histolojik Çalışmalar.....	25
3.2.2.1. Parafin Kesitlerde Konvansiyonel Işık Mikroskop.....	25
3.2.3. Biyokimyasal Çalışmalar.....	27
3.2.4. İstatistiksel Analiz.....	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	31
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	33
4.2.1. Serum Kreatinin ve Üre Analizleri.....	33
4.2.2. SOD Aktivitesi, GSH, MDA Analizleri.....	36
5.TARTIŞMA.....	40

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR	46
EKLER.....	58
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	58
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	59

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince ve tez çalışmamda, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, fikirleriyle her zaman yol gösteren, çalışmalarımda katkı ve desteklerini esirgemeyen, mesleğimin inceliklerini öğrenmemde emeği geçen, tez danışmanım Prof. Dr. Zekai HALICI'ya,

Yüksek lisans eğitimim süresince, bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim çok değerli Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU'na, ayrıca yüksek lisans eğitimim süresince, yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim çok değerli Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Bünyami ÜNAL hocama, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki çalışmalarımda yol gösterici olan Doç. Dr. Yasin BAYIR, Doç. Dr. Elif ÇADIRCI, Doç. Dr. Emre KARAKUŞ, Doç. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK hocalarıma, Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU hocama, bölüm personeliyle birlikte, sevgili asistan arkadaşlarıma; birlikte paylaştığımız sıcak çalışma ortamı ve dostlukları için de teşekkür ederken, bana her zaman destek ve yardımcı olan çok değerli aileme ve nişanlıma sabırları ve fedakârlıkları için şükranlarımı iletirim.

Seda ÖZALTIN

ÖZET

Bosentanın Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Parasetamol, ilaç intoksikasyonlarında yaygın olarak hepatik hasarın yanı sıra böbrek hasarına da sebep olmaktadır. Bu sebeple parasetamolün hepatik hasar oluşturduğuna dair çok sayıda çalışma olmasına karşın oluşturduğu böbrek hasarını aydınlatan pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Öte yandan, parasetamolün böbrek hasarını nasıl oluşturduğu da henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Tüm bu bilgiler ışığında parasetamole bağlı oluşan böbrek hasarında Endotelin-1 (ET-1) ve reseptörlerinin'in rolünü ET-1 reseptör antagonisti bosentan uygulayarak inceledik.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda 7 gruptan oluşan 49 adet dişi sıçan kullanıldı. Bosentan (oral) veya N-asetil sistein (NAC) (oral) verildikten 1 saat sonra parasetamol (%1'lik Karboksi Metil Selüloz (CMC) içeren 2 ml Fosfat Buffer Saline'de (PBS) çözünen 2 g/kg parasetamol oral) verildi. Gruplar; **I:** Kontrol grubu. 2 ml PBS oral verildi. **II:** Parasetamol. **III:** 140 mg/kg NAC (X2 doz) + parasetamol. **IV:** 45 mg/kg Bosentan + parasetamol. **V:** 90 mg/kg Bosentan+ parasetamol. **VI:** 90 mg/kg Bosentan. **VII:** 140 mg/kg NAC (X2 doz). Parasetamol uygulamasından 24 saat sonra sıçanlar kurban edildi.

Bulgular: Yapılan ölçümlerde serum kreatinin ve üre seviyeleri parasetamol grubunda artarken, bosentan verilen gruplarda bu parametreler düzelme eğilimine girdi. Parasetamol grubunda, böbrekte ölçülen Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesi ve Glutasyon (GSH) miktarları azalma gösterirken, bosentanın bu parametreleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düzelttiği görüldü. Aynı zamanda böbrek dokusunda Malondialdehid (MDA) miktarları parasetamol grubunda yükselirken, bosentan uygulanan gruplarda artmış olan MDA miktarlarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görüldü. Histopatolojik bulgularda parasetamolün böbrekte hasara neden olurken, bosentanın bu etkiyi önlediği gözlemlendi.

Sonuç: Tüm bu sonuçlar ET-1' in parasetamole bağlı böbrek hasarında rol oynadığını göstermektedir. Aynı zamanda bosentan uygulaması, böbrekte deneysel olarak indüklenen parasetamol toksisitesine karşı koruyucu etki göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Bosentan, böbrek, endotelin-1, parasetamol, toksisite.

ABSTRACT

Investigation on Effects of Bosentan on Paracetamol Induced Acute Kidney

Toxicity

Aim: Paracetamol causes renal damage in addition to hepatic damage during drug intoxications. Therefore, although there are lots of studies about hepatic damage of paracetamol, there are no much studies about the renal damage induced by paracetamol. On the other hand, it is not fully understood that how paracetamol caused the renal damage. In the light of the information we investigated the roles of Endothelin-1 (ET-1) and its receptors on the renal damage caused by paracetamol by applying bosentan which is a selective ET-1 receptor antagonist.

Material and Method: This study included 49 female rats divided in 7 groups. Paracetamol (received 2 g/kg orally paracetamol dissolved in 2 ml PBS) was given 1 hour after the bosentan (orally) or N-acetylcysteine (NAC) (orally) administration. Groups were; I: Control group that received 2 ml orally Phosphatate Buffered Saline (PBS), II: Paracetamol. III: received 140 mg/kg NAC (2 doses) + paracetamol. IV: received 45 mg/kg bosentan + paracetamol. V: received 90 mg/kg bosentan + paracetamol. VI: received 90 mg/kg bosentan. VII: received 140 mg/kg NAC (2 doses). The rats were sacrificed 24 hour after drug administrations.

Results: While serum creatinine and urea levels were increased in paracetamol group, these parameters were improved in bosentan groups. Paracetamol administration decreased Superoxide Dismutase (SOD) activity and Glutathione (GSH) content of kidney; however bosentan administration significantly improved these parameters. Also it is observed that the increased levels of Malondialdehyde (MDA) in paracetamol group have been significantly decreased by bosentan administration. In histopathological analyses, it is shown that paracetamol caused kidney damage and bosentan prevented this effect.

Conclusion: All these results suggest that ET-1 has role in paracetamol induced kidney damage. Also bosentan, exerted protective effects against experimentally induced paracetamol toxicity in kidney.

Key Words: Bosentan, kidney, endothelin-1, paracetamol, toxicity.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADH	: Antidiüretik Hormon
APAP	: N-asetil-Paraaminofenol
AT	: Anjiotensin
ATADEM	: Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Uygulama Merkezi
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
BOS	: Bosentan
CAT	: Katalaz
CMC	: Karboksi Metil Selüloz
COX	: Siklooksijenaz Enzimi
Cu-ZnSOD	: Bakır Ve Çinko Bağlı Süperoksit Dismutaz
CYP	: Sitokrom P450 Enzim Ailesi
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ECSOD	: Ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz
EDE	: Endotelin Dönüştürücü Enzim
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
FAD	: Flavin Adenin Nükleotid
Fe-SOD	: Demir Bağlı Süperoksit Dismutaz
GFO	: Glomerüler Filtrasyon Oranı
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
G6Paz	: Glukoz-6-Fosfataz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon

GST	: Glutasyon S-Transferaz
GSSG	: Okside Glutasyon
HOCl	: Hipokloröz Asit
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
LPO	: Lipid Peoksidaz
IL	: İnterlökin
MDA	: Malon Dialdehid
Mn-SOD	: Mangan Bağlı Süperoksit Dismutaz
MPx	: Metafosforik Asit
MPA	: Miyeloperoksidaz
mRNA	: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NAC	: N-Asetilsistein
NADPH	: İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NAPQI	: N-Asetil-P-Benzokinonimin
NO	: Nitrik Oksit
NO·	: Nitrik Oksit Radikali
NSAİİ	: Non Steroidal Antienflamtuar İlaçlar
O₁O₂	: Singlet Oksijen
O₂	: Moleküler Oksijen
O₂·-	: Süperoksit Anyon Radikali
OH·	: Hidroksil Radikali
PBS	: Fosfat Tamponu
PG	: Prostaglandin
PT	: Protrombin Zamanı

R•	: Organik Radikaller
RKA	: Renal Kan Akımı
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RO•	: Alkoksi Radikalleri
ROOH•	: Hidroksiperoksil
ROO•	: Organik Peroksitler
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RS•	: Tiyil Radikalleri
Se	: Selenyum
-SH	: Sülfhidril
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri
TGF	: Transforming Growth Faktör
XO	: Ksantin Oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1 Çalışma gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler.....	33
Şekil 4.2 Çalışma gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler.....	33
Şekil 4.3 Sıçan serumunda ölçülen kreatinin miktarının grafikte gösterilmesi....	35
Şekil 4.4 Sıçan serumunda ölçülen üre miktarının grafikte gösterilmesi.....	36
Şekil 4.5 Sıçan böbrek dokusunda ölçülen SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi.	38
Şekil 4.6 Sıçan böbrek dokusunda ölçülen GSH seviyesinin grafikte gösterilmesi	39
Şekil 4.7 Sıçan serumunda ölçülen MDA miktarının grafikte gösterilmesi.....	39

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Çalışmada Kullanılan İlaçlar.....	22
Tablo 3.2. Çalışmada Kullanılan Makine-Techizat Listesi.....	23
Tablo 3.3. Deney Planı.....	25
Tablo 4.1. Sıçan Serumunda Ölçülen Kreatinin ve Üre Miktarları	35
Tablo 4.2. Sıçan Böbrek Dokusunda Ölçülen SOD aktivitesi, GSH ve MDA Seviyelei.....	38

1. GİRİŞ

Parasetamol, (N-asetil-p-aminofenol; APAP) kullanımı çok yaygın olan antipiretik ve analjezik etkili bir ilaçtır. Parasetamolün antienflamatuvar etkinliği yoktur fakat güçlü analjezik ve antipiretik etkisi nedeni ile Nonsteroidal Antiinflamatuvar (NSAİ) grubu ilaçlara dahil olmaktadır. ¹

Günümüzde parasetamol kullanımı o kadar artmıştır ki artık marketlerde dahi rastlamamız olasıdır. İngiltere’de yapılan bir çalışmaya göre 7000 anneden % 84’ü yeni doğan çocuklarına ilk 6 ayda parasetamol vermektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’de ise 100 milyon insan yılda en az bir defa parasetamol kullanmaktadır. Öte yandan, 50 milyon insan ise haftada bir defa parasetamol içerikli bir ürün kullanmaktadır. ²

Yukarıda da bahsettiğimiz gibi; bir ilacın bu kadar yaygın kullanılması akıllarda zehirlenme ve toksisiteye dair soru işaretleri bırakmaktadır. Parasetamolün uygun doz ve miktarda kullanımı güvenli olsa da, insanda günlük 4 gramdan fazla uzun süreli kullanımının toksik etkiler oluşturabileceği bildirilmiştir. Toksik dozda parasetamol kullanımı hepatik nekroz ve akut tübüler nekroza (ATN) yol açabilmektedir. ³⁻⁵

Parasetamol toksisitesine bağlı akut renal yetmezlik ya tek başına ya da hepatik nekroz ile birlikte görülebilir. ^{4, 6-9} Toksik dozda parasetamolün yol açtığı akut renal yetmezliğinin sebebi tam olarak belirlenememekle beraber yapılan çalışmalar, böbrekler yüksek dozda parasetamole maruz kaldığında sitokrom p-450 sistemi aracılığıyla oluşan parasetamol oksidasyonunun tübüler hasara yol açtığını göstermiştir. ^{3, 4, 6-10}

Nazogastrik tüp, aktif kömür uygulaması, gastrointestinal dekontaminasyon, uygun zamanda NAC kullanımı ve destekleyici tedavi, parasetamol toksisitesinde kullanılan yöntemler arasındadır. ¹¹ NAC, sistein prekürsörüdür ve antioksidan etkiye sahiptir. ¹² Parasetamol zehirlenmesinin erken fazında N-asetil-p-benzoquinon iminin

(NAPQI) hepatik makromoleküllere bağlanmasını engeller. Klinikte çok yaygın olarak kullanılan NAC, hastalara intravenöz ya da oral yolla verilebilir.^{12, 13} Ancak yine de tam bir tedavi sağlandığı söylenemez. Bahsettiğimiz aşırı parasetamol alımının yol açtığı toksik etkiye yönelik tedavilerin bulunmasına karşın, bu mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu sebeple sürekli olarak, parasetamolün yol açtığı böbrek hasarını aydınlatmaya yönelik yeni çalışmalar yapılmakta ve oluşan böbrek hasarını önleyici ve tedavi edici yeni ilaçlar denenmektedir. Son dönemlerde yapılan çalışmaların bazıları, endotelinin böbrek hastalıklarının etiolojisinde rol aldığını düşündürmüştür.

Endotelin, damar düz kaslarındaki endotelde üretilen parakrin ve otokrin etkili 21 aminoasitlik vazokonstriktör bir polipeptittir. Dolaşımında çok küçük konsantrasyonda bulunur (nanomolar/pikomolar). Endotelinler; endotelde, beyin, böbrek ve bazı hücrelerde sentez edilmektedir. Vücudumuzda Endotelin-1 (ET-1), Endotelin-2 (ET-2) ve Endotelin-3 (ET-3) sentez edilmektedir.¹⁴ ET-1 böbrekte, glomerüler epitelyal ve mezankimal hücreleri, renal tübüler hücreler ve toplayıcı kanal hücrelerinde üretilmektedir.¹⁵ ET-1, endotel sistemin düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca fibrozis ve inflamasyonda katkıda bulunur.^{16, 17} Renal sistemde ET-1, böbrek ve böbrek içi kan akımının parakrin ve otokrin düzenlenmesinde, glomerüler hemodinamide, sodyum ve su dengesinde¹⁸, asit-baz dengesinde¹⁹ rol almaktadır. Bunların yanı sıra ET-1 böbrek içi pek çok fonksiyonda rol almaktadır.²⁰ Vücutta yaygın olarak bulunması ve birçok fizyopatolojik hadisede ET-1 ve reseptörlerinin rolünün gösterilmesinden dolayı; ET-1 reseptör antagonistleri pek çok deneysel hayvan çalışmalarında denenmiş ve önemli sonuçlar elde edilmiştir.²¹⁻²⁷ Yine pek çok hastalıkta endotelin ekspresyonunun artması²⁸ parasetamol toksisitesine bağlı böbrek hasarını koruyucu ve önleyici etki etmek için ET-1 reseptör antagonistleri kullanılabileceğini düşündürmüştür.

Bu çalışmada bizim amacımız; sıçanlarda parasetamolle oluşturulmuş böbrek toksisitesinde ET-1 reseptörlerinin rolünü incelemektir. Aynı zamanda ET-1 reseptör antagonisti olan bosentanın; parasetamol toksisitesine bağlı böbrek hasarında oksidatif stres parametreleri ve antioksidan savunma sistemleri üzerine etkilerini ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Zehirlenmeler

Acil servislere yapılan başvuruların önemli bir bölümünü zehirlenmeler oluşturmaktadır.²⁹ İlaçlar, endüstri, tarım ve diğer işlerde kullanılan kimyasal bileşikler, evlerde temizlik ve bakım amacıyla kullanılan ürünler insanda akut, hatta bazen kronik zehirlenmelere sebep olabilirler.³⁰ Zehirlenme vakalarının insanlarda intihar veya keyif amaçlı ve başka birine zarar vermek amacı ile kasten veya kronik ilaç kullanımında hasara sebep olduğu bildirilmektedir.³¹

Zehirlenme tedavilerinin başarı ile sonuçlanması için zehirlenmeye yol açan etkenin belirlenip, toksisitenin tam olarak saptanması gerekir. Ayrıca çocuklarda tanımlanamayan belirtiler görüldüğünde zehirlenme akla gelmeli ve duruma uygun olarak zehirlenmenin ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Aynı şekilde yetişkinlerde de öykü ve fiziki muayene bulguları arasında uyumsuz tablolara rastlanıldığında zehirlenme akla gelmelidir.³⁰

Tedaviye başlamadan önce zehirlenme sebebinin belirlenmesi, tedavinin başarı ile sonuçlanabilmesi açısından oldukça önemlidir. Öte yandan, zehirlenme yapan etkenlerin oldukça az bir kısmına karşı spesifik antidot bulunmaktadır. Bu sebeple, zehirlenme yöntemlerinin pek çoğunda, genel tedavi yöntemlerinin uygulanması ve semptomatik tedavi yapılması gerekmektedir.³ Türkiye’de yapılan bir araştırmada³¹, acil servise başvuran hastaların %56,9’unun sebebinin ilaç zehirlenmesi olduğu ve bunların %43’ünün sebebinin ağrı kesici kullanımı olduğu bildirilmiştir. Bunların haricinde, temizlik maddeleri (%26,2), hidrokarbonlar (%7,3), besinler (%7), insektisitler (%6,7), karbon monoksit (%1,7) ve diğer maddeler (%5,9) de sık zehirlenme sebepleri arasında gösterilebilir.

2.2. Böbrek

2.2.1. Böbreğin Yapı ve Fonksiyonları

İnsanda, her biri yaklaşık bir yumruk büyüklüğünde ve 150 gr ağırlığında olan böbrekler, retroperitoneal olarak karın arka duvarında yer alır. Her bir böbreğin mediyal kısmında, arter, ven, lenfatikler, sinirler ve üreterlerin girip çıktığı bölge hilum olarak adlandırılır. Böbrek medullasında, böbrek piramitleri olarak adlandırılan koni biçimli çok sayıda doku kitleleri bulunur. Piramitlerin tabanı, korteks ve medulla sınırından başlar ve üreterin huni şeklindeki üst ucunun devamından oluşan böbrek pelvisine doğru uzanan papillada sonlanır. Pelvisin dış sınırı majör kaliks denen ceplerle aşağı doğru uzanır ve her papillada tüplerden idrar toplayan minör kalikslere ayrılır. Kalikslerin, pelvisin ve üreterlerin duvarları kasılabilir elemanlardan oluşur.^{4, 6-8}

Böbrek, vücudumuzda önemli regülatör görevleri olan hemostatik bir organdır. Vücudun su, elektrolit ve asit-baz dengesinin temini ve zararlı ürünlerin atılması böbreğin regülatör görevinin başında gelir. Her bir böbrek, fonksiyonel ünitelere sahip bir milyon nefrondan oluşur. Bu nefronlar yerleşimlerine ve henle kulplarının uzunluklarına göre ya kortikal (%85) ya da jukstamedüller (%15) olarak adlandırılır. Sodyum ve suyun korunması açısından jukstamedüller nefronlar oldukça önemlidirler.^{6, 9, 10} Bir nefron, Bowman kapsülü tarafından sarılan glomerüler bir kapiller ağ, bir proksimal tübül, bir Henle kulpu, bir distal tübül ve bir toplayıcı duktustan oluşur.³²

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

Ultrafiltrat ile 1kg'dan fazla sodyum klorid, 0.5 kg sodyum bikarbonat ve yüksek miktarda şeker, aminoasitler ve diğer reabsorbe edilmesi önemli olan

maddelerdir. Nefrondan geçiş sırasında, sodyum ve suyun %65'i proksimal tübüllerde ve %25'i ek olarak Henle kulpundan reabsorbe edilir. Bu suretle, sodyumun %10' u distal tble girer. Burada, aldesteron ve antidiüretik hormon (ADH) tarafından, geriye kalan sodyum ve suyun atılımı vücudun fizyolojik ihtiyacına göre regüle edilir. Normal olarak başlangıçta filtre edilen sodyumun yalnız %1'i idrarla atılır. ^{4, 33}

Böbreklerin yüksek perfüzyonuna karşı çok düşük bir intrarenal direnç mevcuttur. Renal arteriyz oksijen içeriğinin farkı, diğer organlarda %4-5 civarındadır. Fakat bu direnç farkı böbrekte yaklaşık %1,7'dir. Renal yolla oksijen tüketimi vücudun toplam oksijen tüketiminin %7'sidir. Bu enerjinin büyük bir bölümü tübüllerdeki sodyum transportuyla doğrudan ilgilidir ve ona göre değişim gösterir. ³⁴

2.3. Parasetamol (Asetaminofen)

Parasetamol dünyada çok yaygın kullanılan ilaçlardan biridir. Parasetamol antienflamatuvar etkinliği olmayan fakat güçlü analjezik ve antipiretik etkisi olan NSAİ grubu ilaçların üyesidir. ³³ Parasetamol'n aşırı dozda alınmasının karaciğer ve böbrek yetmezliğine yol açtığı bildirilmiştir. ^{35, 36}

2.3.1. Parasetamolün Tarihçesi

Parasetamol ilk sentezleyen kişi 1873 yılında p-nitrofenol asetik asitle indirgeyen Harmon Northrop Morse olmuştur. Fakat parasetamolün tıpta kullanılmaya başlaması için 20 sene beklenmiştir. 1948 yılında, Brodie ve Axelrod parasetamolün asetanilid gibi toksik etkili olmadığını bildirmişlerdir.³⁷ Parasetamol ilk kez 1955 yılında "Tylenol" adı ile ABD'de piyasaya srlmştir. İngiltere'de ise 1956 yılında, "Panadol" ticari adı ile ağrı ve ateş giderici olarak piyasaya verilmiştir. 1958 yılında çocuklar için hazırlanan formu olan "Panadol Elixir" kullanıma girmiştir. Daha sonraki yıllarda, az yan etkisi olan bir ilaç olarak büyük popülarite kazanmıştır. Dünyada pek çok ülkede reçetesiz olarak satılan parasetamol ülkemizde de yaygın olarak

kullanılmaktadır. Çocuk ve yetişkinlerde tedavi dozlarında güvenilir ilaç olarak kabul edilmektedir.^{38,39}

2.3.2. Farmakokinetik ve Metabolizma

Parasetamol toksisitesini anlayabilmek için öncelikle bu ilacın farmakokinetik ve metabolizasyonunun bilinmesi gerekmektedir. Parasetamol, oral yolla alındığı zaman gastrointestinal yol ile hızlı bir şekilde, neredeyse tamamen emilir. Biyoyararlanımı %79 -%89 arasında değişmektedir.⁴⁰ Yarılanma ömrü 2 saattir ve 2. saatte kanda pik düzeyine ulaşır.⁴¹ Ancak emiliminin açlık ve tokluğa göre farklılık göstermesi sebebiyle, bu süre 4. saate kadar uzayabilmektedir. Parasetamol plazma proteinlerine zayıf bağlanırken (%25) birçok vücut sıvısına yaygın şekilde dağılmaktadır. Parasetamol analjezik etkisini 10 mcg/ml, antipiretik etkisini ise 18 mcg/ml düzeyindeki kan konsantrasyonlarında gösterir. Yemek ile beraber veya yemekten hemen sonra alındığı takdirde biyoyararlanımı belirgin bir şekilde azalır. Bu yüzden parasetamolün aç karna alınması önerilir. Ayrıca opioidler ve antikolinergik ilaçlarla birlikte alındığında, kanda pik düzeyine ulaşma süresi gecikir. Oral olarak kullanılan dozlarda rektal yoldan da uygulanabilir. Parasetamolün yetişkinlerde ve adölesanlarda kullanımı ağızdan 500-1000 mg ve günlük en yüksek dozu genellikle 4 gr olarak kabul edilir. Böbrek yetmezliği olan kişilerde veya alkoliklerde kullanım sırasında dozu azaltılmalıdır.⁴²

Parasetamol terapötik dozlarda kullanıldığı zaman %90 oranında karaciğerde glukroniltransferaz enzimi yardımıyla glukronik asitle (%60 kadarı), sülfoniltransferaz enzimi yardımıyla sülfürik asitle (%35 kadarı) veya sistein (az miktarda) ile konjuge olarak idrardan atılır. %2'lik kısmı ise idrardan değişmeden atılmaktadır.⁴³ Küçük ama yine de önemli bir miktarı hepatik sitokrom P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) yoluyla N-hidroksilasyona girerek oldukça reaktif bir ürün olan NAPQI'e

dönüşür.^{44, 45} NAPQI ise diğer intrasellüler proteinlere kovalent olarak bağlanarak zarar verir.⁴⁶ Fizyolojik koşullarda NAPQI, glutatyon ile reaksiyona girer ve zarar vermeden safra yoluyla atılmaktadır.^{47, 48} Bu molekülün karaciğer hasarı oluşturabilmesi için parasetamolün yüksek dozlarda alınması gerekir. Böylelikle, bu reaktif ürün GSH depolarını bitirerek karaciğer hasarı oluşturur.⁴⁹ Parasetamolün hepatotoksisitedeki asıl mekanizmasının bu yoldan olduğu düşünülmektedir.⁴⁸

Böbreklerde ise parasetamol deasetillenerek bir nefrotoksin olan ve renal kortikal nekroz oluşturan p-aminofenol metabolitine dönüşmek suretiyle toksisiteye yol açar. Terapötik dozlarda oluşan p-aminofenol karaciğerde NAPQI metabolitine benzer şekilde glutatyonla konjuge edilir ve inaktif glutatyon konjugatları şeklinde atılır. Bunun yanında parasetamol böbrek korteksinde de sitokrom p450 sistemi ile oksidasyona uğrar ve ortaya çıkan reaktif ara ürünler böbrek korteksinde hasar oluşturabilmektedir.⁵⁰

2.3.3. Farmakolojik Etkileri

Piyasada satılan ticari ilaçların prospektüsünden de kolayca erişebileceğimiz parasetamolün endikasyonları; baş ağrısı, migren, adet sancıları, diş ağrısı, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara bağlı ağrı, nevralji, nevrit, siyatik, lumbago, kas ve eklem ağrıları, orta kulak ağrıları, sinüzit ve cerrahi operasyonlara veya yaralanmalardan kaynaklanan ağrılardır.

Endikasyonlarının bu denli geniş olması, parasetamolün yaygın kullanımının göstergelerinden biridir. Bu sebeple, ilacın etki mekanizmasının da iyi bilinmesi gerekmektedir. Etki mekanizmasını aydınlatmak için çalışmalar devam etse de bu mekanizma henüz tam olarak anlaşılammıştır. Bazı çalışmalara göre; parasetamol, merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinden santral siklooksijenaz (COX) inhibisyonu ve serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla etki etmektedir.⁵¹

Lim ve arkadaşlarının⁵² yaptıkları bir çalışmada, parasetamol, köpeğin dalağına enjekte ettikleri bradikininin etkisini engellemiştir. Yapılan bu çalışmada parasetamolün ağrı kesici etkisinin santralde değil de periferde prostaglandin sentezini inhibe ederek ortaya koyduğu gösterilmiştir.

Parasetamolün ateş düşürücü etkisi hayvan deneylerinde de gösterilmiştir. Milton ve Wendlant kedilerin beyin ventriküllerine endotoksin kaynaklı maddeleri enjekte ederek oluşturdukları ateşi parasetamolün engellediğini görmüşlerdir. Öte yandan, parasetamolün aynı yere enjekte edilen prostaglandin E1 (PGE1) kaynaklı ateşi etkilemediğini bildirmişler.⁵³ Sonraki çalışmalarda parasetamolün beyin omurilik sıvısındaki prostaglandin (PG) benzeri maddeleri inhibe etme yoluyla ateşi düşürdüğü gösterilmiştir.⁵⁴

Yeni yapılan çalışmalara göre, parasetamol'ün MSS'de tespit edilen COX-3 olarak adlandırılan yani bilinen COX (COX-1, COX-2'den farklı) enzim varyantlarından farklı bir enzimi seçici olarak bloke ettiği düşünülmektedir⁵⁵ ki bu mekanizma üzerinde pek çok araştırmacı da hem fikir olmuştur.^{56, 57} Tüm bunlara rağmen, insanda bulunan COX enzim varyantlarından COX-3 ile ilgili literatürde kesin bir bilgi henüz mevcut değildir.^{57, 58}

2.3.4. Yan etkileri

Parasetamol tedavi dozlarında kullanıldığında genellikle iyi tolere edilebilmektedir. Sık olmamakla birlikte, alerjik cilt reaksiyonları (kızarıklık, döküntü), alerjik ilaç ateşi, hematolojik bozukluklar, hipoglisemi ve böbrek yetmezliği gibi yan etkilere yol açabilir.⁵⁹ Bazen de karaciğer enzimlerinde ılımlı yükselmelere sebep olabilmektedir fakat bu durum geri dönüşümlüdür.

Daha yüksek dozlarda kullanıldığı zaman ise baş dönmesi, huzursuzluk ve yönelim bozukluğuna yol açsa da parasetamolün toksik dozunda (en az 10-15 gr) en

ciddi yan etkisi ölümcül olabilen hepatik nekrozdur. ⁶⁰ Bu durumda bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır. Bu etki normal kullanım sonrasında da çıkabilmektedir. Bu etki, aspirinin yapmış olduğu hepatik hasara göre daha tehlikeli olup tedavisi daha da zordur. ⁶⁰

Parasetamolün kardiyovasküler, solunum sistem ve asit-bas dengesi üzerine belirgin etkileri yoktur. Gebelerde kullanımı güvenlidir ve NSAİ'lerin yaptığı fetal ductus arteriozusun kapanmasını etkilemezler. Bunun yanında alkol kullanımı toksik etkiyi ciddi biçimde artırmaktadır. Oral antikoagülanlar ile birlikte kullanıldığı zaman belirgin bir etkileşim gözlenmemektedir.¹

2.3.5 Parasetamolün Toksik Etkileri

Akut aşırı dozda, parasetamolün en ciddi yan etkisi, doza bağımlı ölümcül hepatik nekrozdur. Öte yandan, renal tübüler nekroz ve hipoglisemik koma da oluşabilir. Aşırı dozda parasetamolün hepatoselüler yaralanmaya ve ölüme yol açtığı durumlarda oluşan mekanizmada, onun toksik reaktif metabolitine (NAPQI, N-asetilbenzoquinoneimin) dönüşümü söz konusudur. Bu ara ürün, normal koşullarda GSH ile konjugasyon yaparak elimine edildikten sonra merkaptürik asite metabolize olarak idrarla atılır. Fakat NAPQI aşırı dozda olduğunda, vücudun antioksidan savunmasında önemli bir faktör olan hepatik GSH seviyesinde %70' den fazla azalma görülür. GSH azalmasında reaktif ara ürün, kovalent bağ ile hücrenin makromoleküllerine bağlanır. Sonuç olarak enzimatik sistemlerin fonksiyonu engellenir. Aktif metabolit, glutatyona bağlanarak atılmadığı için dokulardaki sitozol proteinlerine bağlanır ve hücrel nekroz oluşturur.

Toksik dozda parasetamol alımında, klinik bulgular üç evreden oluşur. Birinci evre, oral alımdan bir veya birkaç saat sonra bulantı, kusma, anoreksi ve diaforezinin gözlemlendiği evredir. İkinci evrede bu semptomların şiddeti azalır fakat hepatik enzimler

ile bilirubin seviyelerinde aşırı yükselmeler gözlenir. Ayrıca protrombin zamanında (PT) yükselme de bunlara eşlik eden faktördür. İdrar, renal hasar, ilacın diüretik etkisi ve dehidratasyondan dolayı azalır. Üçüncü evre 3-5 gün sonra meydana gelir. Sarılıkla beraber, hepatonekroz, hipoglisemi, ensefalopati ve miyokardiyopati gözlenir. Hepatik yetmezlik ve nekroz ölüme sebep olur.

Cilt tahrişi ve diğer alerjik reaksiyonlar nadiren görülür. Tahriş genellikle eritematöz veya ürtikerdir fakat bazen daha ciddi olabilir ve bunlara ilacın yol açtığı ateş ve mukozal lezyonlar da eşlik edebilir. Plazma parasetamol düzeyi 1mg/ml'nin üzerinde olduğu zaman bilinç bozukluğu gözlenir.

Literatürde toksisiteyi artıran etkenler olarak; glutatyon tüketimi (diyetle maleatla ön tedavi, düşük protein diyeti), hepatik CYP450'nin indüklenmesi (alkol tüketimi (fenobarbital kullanımı), oksidatif strese hepatik cevabın azalması (E vitamini azalması) bildirilmiştir. Toksisiteyi azaltan etkenler ise; antioksidanlar (E vitamini), hepatik enzim inhibitörleri (simetidin), redükleyici ajanlar (askorbik asit) olarak belirtilmektedir.^{58, 61}

2.3.6. Parasetamol Zehirlenmesinde Tedavi

Parasetamol zehirlenmelerinde, öncelikli olarak parasetamolün absorpsiyonu engellenmeli ve prognozu gösteren değerler takip edilerek değerlendirilip hastanın destek tedavisi düşünülmelidir. Yüksek dozda parasetamolün alımından sonraki 4 saat içinde absorpsiyonunun engellenmesi için gastrik aspirasyon ve lavaj veya ipeka şurubu kullanılabilir. Absorpsiyonun engellenmesinde basit ve alternatif bir diğer yöntem de aktif kömür uygulamasıdır. Aktif kömür, bağırsak lümeni içinde parasetamole bağlanmak suretiyle absorpsiyonu engeller. Bu yollardan birini kullanarak parasetamolün emilimi büyük oranda engellenir. Tedavi sırasında kan parasetamol düzeyi ve parasetamol zehirlenmelerinde hedef organlar karaciğer ve böbrek olduğu için hepatik ve renal fonksiyonların takip edilmesi gerekir. Kan parasetamol değeri,

parasetamol zehirlenmelerindeki en önemli ilk göstergedir. Fakat yüksek dozda alımdan sonraki 4. saate kadar bağırsaktaki ilaç absorpsiyonu tamamlanmamış olabileceği göz önünde bulundurulursa elde edilen kan parasetamol düzeyi zehirlenmenin şiddetinin güvenilir olduğunu göstermez.

Parasetamol zehirlenmelerine hepatik GSH tüketimi neden olmaktadır. Bu sebeple, uygulanacak tedavide, GSH hepatositler içine geçmediğinden, hepatik GSH'ı yerine koymaktansa, hepatik GSH tüketiminin veya parasetamolün toksik metabolitine dönüşmesinin engellenmesi sağlanmalıdır. Parasetamol zehirlenmelerinde kullanılan antidotlar; NAC, sistamin, dimerkaprol ve metionindir. ⁶²⁻⁶⁵

2.4. Endotelinler

Damar düz kaslarındaki endotelde yapılan parakrin ve otokrin etki edilen PGE1 gösteren, 21 aminoasitli, vasokonstriktör bir polipeptiddir. ET dolaşımında çok küçük konsantrasyonda (nanomolar/pikomolar) bulunur. ET, endotelde, beyin, böbrek ve bazı hücrelerde sentez edilmektedir. İlk olarak 1988 yılında Yanagisaka ve arkadaşları tarafından idendifiye edilen endotelin, üç farklı endotelin geni tarafından, (farklı kromozomlarla) kodlanmaktadır. Bunlar, ET-1, ET-2 ve ET-3'tür. Preproendotelin önce Big endoteline (inaktif prekürsör) dönüşür. Daha sonra, Endotelin dönüştürücü enzim (EDE-1) big endotelini endoteline çevirir. Dolaşımdaki ET-1'in yarılanma ömrü çok kısadır (4-7 dakika). Plazma, akciğer ve böbrekte endopeptidazlar tarafından parçalanır. Preproendotelin mRNA'nın yarı ömrü ise 15 dakikadır, bunun için vazomotor tonusun ayarlamasında hızlı ET yapımı sağlanır. ET-2, başlıca böbrek ve bağırsakta, ET-3 ise nöronal hücrelerde ve beyinde üretilir.

ET, hidrofilik yapıdadır. Bu sebeple plazma membranını geçemez. Etkisini spesifik reseptörleri vasıtası ile gösterir. Başlıca iki reseptörü vardır. Bunlar; ET-A ve ET-B reseptörleridir. Her iki reseptör de, vasküler düz kas hücreleri ile

vazokonstriksiyonda rol oynar ve damar endotel hücrelerinde ET-B ile nitrik oksit (NO) ve PGI2 salgılanmasında rol oynayarak vazodilatasyona yol açar.

ET-A; ET-1 ve ET-2'ye yüksek affinite gösterirken ET-3'e affinitesi çok düşüktür. ET-B ise her üçünde de eşit affinite gösterir. Endotelin mRNA ekspresyonu çeşitli faktörlerle uyarılır. Bunların başlıcaları: kan basıncı artışı, LDL kolesterol, trombin, TGF- β , interlökin-1 (IL-1), epinefrin, arjinin vazopressin (AVP) , anjiotensin II (AT-II) dir. ET-1 vazokonstriktör fonksiyonu yanında her iki reseptörü aracılığı ile mitogenezde rol alan önemli bir mediatördür. Bunun yanı sıra, damar düz kas proliferasyonunda rol oynayarak vasküler yapılanmada etkili olur. Ayrıca lökosit adezyonunda ve monosit kemotaksisinde de etkili olarak aterosklerotik yapılanmalara yol açar. ET-1 doza bağımlı olarak renin yapımını inhibe ederken, adrenal zona glomerülosadan direkt etki ederek aldesteron yapımını ve adrenal korteks büyümesini stimule eder.⁶⁶ Plazma endotelin seviyesinin yüksek olduğu başlıca durumlar şunlardır⁶⁷;

- Hipertansiyon
- Ateroskleroz
- Astma
- Akut böbrek yetmezliği
- Pulmoner hipertansiyon
- Beyin travması
- Serebral vazospazm
- Konjestif kalp yetmezliği
- Hiperkolesterolemi (growth faktör miktarını artırarak)

2.4.1. Endotelin ve Böbrek İlişkisi

ET, vasküler endotel hücrelerinde keşfedilmiş proinflamatuvar potansiyel ve profibrotik etkili güçlü bir peptiddir. Son yıllarda geniş spektrumlu hücrelerin fizyolojik şartlarda ve daha da önemlisi progresif bozuklukların kronik seyri sürecinde ET-1 üretme yeteneğine sahip oldukları giderek açıklık kazanmıştır.⁶⁸ ET-1 glomerüler filtrasyon hızını (GFR) ayarlama, çözülmüş madde ve suyun nefron boyunca geri emilimi ve renal asid atılımını yapmak sureti ile genel böbrek fonksiyonlarında rol alır.

Yanagisawa ve arkadaşlarının ET peptidlerini keşfi, ET sisteminin kronik böbrek yetmezliğinin pek çok türü ile alakalı olduğuna dair önemli delilleri arttırmıştır.⁶⁹

Renal glomerüler, tübüler ve intersitisyel hücreler, yalnız ET-A ve ET-B reseptörlerini bağlamak sureti ile ET-1 dolaşımına yanıt verme yeteneği yoktur. Ayrıca bir otokrin/parakrin tavır sergileyerek ET-1 üretimi yapar. Kronik renal hastalıklar süresince ET alt reseptörlerinin ekspresyonunun modülasyonu ile birlikte ET-1'in böbrek içi sentezi belirgin bir şekilde artar.⁶⁸

2.5. Bosentan

Bosentan; Pulmoner Hipertansiyon (PAH) tedavisinde kullanılan nonspesifik bir endotelin tip A ve tip B reseptör antagonistidir.⁷⁰ Oral yolla uygulanır. Bosentan'ın PAH hastalarında kardiyopulmoner hemodinamik değişkenleri, egzersiz kapasitesi ve klinik prognoz üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.^{71,72}

2.5.1. Bosentanın Farmakokinetiği

Bosentanın tek dozda ve birden fazla kullanıldığında farmakokinetik etkileri belirtilmiştir.^{73, 74} İlaç oral yolla 600 mg kullanıldığı zaman biyoyararlanımı yaklaşık %50 dir.⁷⁵ Plazma klerensi yaklaşık olarak 7-8 L/s aralığındadır ve intravenöz olarak 250-500 mg doz aralığında kullanıldığında dağılım hacmi yaklaşık 0.2 L/kg dır.⁷⁵

Bosentanın albümine bağlanma oranı %90'dır. ⁷⁶ İnsanlarda yarılanma ömrü 5-8 saat arasındır. ⁷⁵ Hayvanlarda (sıçan ve köpek) metabolitlerin atılımı safra yolunu takip ederek hepatik metabolizma iledir ⁷⁷. Bosentanın CYP2C9 ve CYP3A9 enzimleri ile metabolize edilmesi sonucu 3 metabolit oluşur. Oluşan bu metabolitlerden sadece Ro 48-5033 endotelin reseptörlerine bağlanabilir. Çoklu doz kullanımında sistemik plazma klerensi 2 katına çıkmaktadır. Çünkü bosentan tedavisinde CYP3A4 yolağı indüklenir. Bosentan CYP2C9 ve CYP3A4 enzimlerini indükler. Böylelikle bu enzimler ile metabolize olan siklosporin, simvastatin ve varfarin gibi ilaçların plazma konsantrasyonlarını etkiler. ⁷⁶

2.5.2. Bosentanın Endikasyonları ve Yan Etkileri

Bosentan, hipertansiyon dışında subaraknoid kanama, konjestif kalp yetmezliği ve akut siklosporin nefrotoksitesi gibi rahatsızlıklar için de denenmektedir. Oral yolla, günde iki kez alınan Bosentan'ın PAH olan hastalarda kardiyopulmoner hemodinamik değişkenleri, egzersiz kapasitesini ve klinik kötüleşme süresini olumlu etkilediği gösterilmiştir. Ancak bazı hastalarda asemptomatik, doza-bağımlı karaciğer aminotransferaz artışları gözlenmiştir. ^{71, 78} Diğer yan etkileri ise anemi, ödem, teratojenite, erkek infertilitesi ve testiküler atrofidir. ^{72, 79}

2.6. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikaller bir veya birden çok eşleşmemiş elektronu olan, kararsız ve çok etkin moleküllerdir. Serbest radikaller çok reaktiftir ve elektron eşlemek amacıyla diğer moleküller ile reaksiyona girmeye çalışırlar. ⁸⁰

Serbest radikaller oksijen kullanan hücre metabolizmasının sürekli üretilen bir ürünüdür ve antioksidan savunma mekanizmaları sayesinde dengede tutulurlar. Bu dengenin bozulursa oksidatif stres oluşur. Serbest radikallerin ömürleri çok kısa olsa da protein, lipid ve nükleik asit gibi makro moleküller ile etkileşirler ve hücre yapı ve

fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olurlar. Homeostazisin sürdürülebilmesi için antioksidan sistemde sürekli yenilenmeye ihtiyaç duyulur .⁸¹

Biyolojik sistemlerin en önemli serbest radikalleri, oksijenden oluşan radikallerdir. Eşlenmemiş iki elektronu olan kararsız yapılı moleküller, oksijenin redüklenmesi sonucu süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijen gibi serbest oksijen radikallerini oluştururlar.^{82, 83}

2.6.1. Hidroksil radikali (OH-)

Süperoksit radikali ve H₂O₂'ten meydana gelen en reaktif ve zarar verici oksijen radikali. Yarı ömrü çok kısadır. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu bu radikalın önemli iki kaynağıdır.⁸⁴

2.6.2. Singlet oksijen

Singlet oksijen, oksijen molekülünün daha reaktif bir türüdür ve moleküler oksijenin enerji alması ile oluşur. Yarılanma ömrü kısadır. Singlet oksijenin ortaklanmamış elektronu yoktur. Bu sebeple radikal değildir.⁸⁵

2.6.3. Süperoksit Radikali (O₂⁻)

Biyolojik sistemlerde en fazla moleküler oksijen bulunur. Radikal öncüdür. Oksijenin tek bir elektronla indirgenmesi sonucu oluşur. Süperoksit radikalının belirgin toksik etkisi yoktur. Sitoplazmadaki P₄₅₀ sistemi başlıca kaynağıdır.⁸⁶

2.6.4. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, moleküler oksijenin iki elektron indirgenmesi sonucu oluşur. Eşlenmemiş elektronu olmadığından serbest radikal değildir. H₂O₂'nin asıl kaynağı biyolojik sistemlerde süperoksit radikali. Bu reaksiyon rastgele veya SOD ile enzimatik olarak meydana gelir.⁸⁵



H₂O₂, protein tiyollerini oksitleme ve DNA'da zincir kırılmaları oluşturmak suretiyle hasar yapar. Geçiş metal iyonlarının varlığında hidroksil (OH⁻) radikallerini oluşturması ise en önemli özelliğidir.

2.6.5. Hipoklorik asit (HOCl)

Fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli görevleri vardır. Enzimatik olarak nötrofil ve makrofajlar tarafından üretilir ve bakterisit etkisi için salınır.⁸⁵



Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarına sebep olur. Serbest radikaller hücreye 3 farklı mekanizma ile zarar vermektedir.

Bu mekanizmalar;

- ✓ Membran Lipitlerinin Peroksidasyonu
- ✓ Disülfid Bağı Oluşumu
- ✓ DNA Hasarı

2.7. Serbest Radikal Kaynakları

Ekzojen kaynaklar: Hava kirleticiler, iyonize ve non-iyonize radyasyon, ilaçlar, doğal zararlı gazlar, alkol, patojen bakteri ve virüslerdir.⁸⁷

Endojen kaynaklar: Endoplazmik retikulum, mitokondrial elektron transport sistemi, araşidonik asit metabolizması veya siklooksijenaz (COX) sistemi, monosit ve makrofajlar, nötrofil, eozinofil gibi fagositik hücreler ve endotelyal hücreler gibi hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz gibi oksidan enzimler ve otooksidasyon reaksiyonlarıdır.⁸³

2.8. Antioksidan Savunma Sistemleri

Vücutta serbest radikallerin etkilerinin ortadan kaldırılması için antioksidan savunma sistemi oluşmuştur. Antioksidanların; hedef moleküllerin hasar sonrası tamir edilmesi veya temizlenmesi, serbest oksijen radikallerinin enzim reaksiyonları vasıtası

ile ya da direkt temizlenmesi, metal iyonların bağlanması ve radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi ve serbest oksijen radikallerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi gibi önemli görevleri vardır.⁸⁸

2.8.1. Antioksidan Enzimler

1. Süperoksit dismutaz (SOD): SOD'un fizyolojik görevi, hücreleri süperoksit radikallerinin zararlarından korumaktır. SOD aktivitesi, oksijen kullanımı yüksek dokularda fazladır, ancak hücre dışı sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür.^{85, 89}



Bu enzim yukarıdaki reaksiyon ile süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşmesini sağlar. Böylece hücre içindeki O_2^- seviyesi azaltılmış olur.

2. Katalaz (CAT): Katalaz, başta peroksizomlarda ve daha az olarak sitozol ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalar. Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevi de vardır. Hidroksil serbest radikali oluşumunu önlemek için hücrede oluşan hidrojen peroksidi ortadan kaldırır.⁹⁰

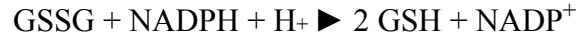


3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Dört selenyum atomu içerir. Tetramer yapılı bir enzimdir ve sitozolde yerleşik olarak bulunur. Aşağıdaki reaksiyonları katalizler ve böylelikle hidrojen peroksidin ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini sağlar.



Glutasyon peroksidaz iki substrata sahiptir. Substratlarından biri olan peroksitler, alkole indirgenir. Diğer substrat olan GSH ise yükseltgenir ve oluşan yükseltgenmiş

glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyon dönüşür.⁸⁸



4. Glutasyon tranferaz: Sitozolde bulunur, çok sayıda izoenzimi vardır ve dimerik yapıya sahip bir enzimdir. Çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin glutasyon ile konjugasyonunu katalizlerler.^{85,88}



2.8.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

1. Glutasyon (GSH)

GSH serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girer ve hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Glutasyon peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimlerin substrat veya ko-substratıdır. Hemoglobinin oksitlenmek suretiyle methemoglobine dönüşümünün engellenmesi işleminde rol alır. Öte yandan, proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylelikle fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna engel olur. GSH yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve amino asitlerin membranlardan taşınımını da sağlar. Lökositleri ve eritrositleri oksidatif strese karşı korumada hayati önemi vardır.^{90(s.766)}

2. Askorbik asit (C vitamini)

İnsanlarda sentezlenmediğinden dolayı diyetle alınır. Taze meyve ve sebzelerde özellikle de turuncgillerde bulunur. Suda çözünen vitaminler grubunda yer alır. C vitamininin metabolizma için önemi indirgeyici olmasından kaynaklanır. Askorbik asit O_2^- , $\cdot\text{OH}$ ve $^1\text{O}_2$ ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisiz hale getirir. Dolayısıyla lipid peroksidasyonunu başlatan radikalleri etkisizleştirmiş ve antioksidan görevi üstlenmiş olur. Askorbik asit; Fe^{+3} 'ü, Fe^{+2} 'e indirgeyen süperoksit radikali haricindeki

tek hücre içi moleküldür. Bu özelliği ile, ferri-demiri indirger. Fenton reaksiyonunda süperoksit radikalının üretimini gerçekleştirir. Bu özelliği sebebiyle C vitamini proksidan etkili olduğu açıklanmıştır.⁸⁸

3. E vitamini

Yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka, aktif kısmını oluşturur ve bu gruptan dolayı molekül antioksidan özelliğe sahiptir. Tohumlar ve bitkisel yağlar, E vitamini bakımından zenginlerdir. E vitamini yağda çözünebilen vitaminler grubundadır. Antioksidan savunmada öncelikli görevleri membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikallerden korumaktır. E vitamini, $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$ ve 1O_2 gibi radikalleri indirger. E vitamininin antioksidan olarak başlıca fonksiyonu; lipid peroksidlerini etkisizleştirerek peroksidasyonu sonlandırmaktır.⁹¹

4. Karotenoidler

A vitamininin metabolik ön maddesi bir karotenoidtir. Bu madde beta-karotendir. Karotenoidler havuç, domates ve portakal gibi besinlerde bol miktarda bulunur. Karotenoidler, oksidan strese karşı hücrelerin korunmasını sağlarlar. Koruyucu etkileri; singlet oksijen oluşumunu engelleme, peroksil radikalleri temizleme ve porfirin gibi zararlı uyarıcıların etkilerini ortadan kaldırmaktır. Karotenoidlerin antioksidan savunmada rol aldığı ve deneysel çalışmalarda kullanıldığı belirtilmiştir.⁸⁸

5. Flavonoidler

Flavonoidler de antioksidan özelliğinden ötürü kullanılan maddeler arasında yer alır. Yağda çözünenler. Başlıca flavonoidler; kafeik asit, kateşin, p-kumarik asit, klorogenik asit ve kuersetindir. Elma, kayısı, limon, patates gibi besinlerde bulunur. Antioksidan savunmada, metal iyonlarla reaksiyon verme, serbest radikal oluşumunu engelleme ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmede rol alır.⁹¹

6. Nitrik oksit (NO)

Metabolizmada görev alan önemli serbest radikallerden biri de nitrik oksittir. NO L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz (NOS) etkisiyle muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktive edilmesi sonucu sentezlenir. Kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde NO'in kesin bir role sahip olduğu bilinmektedir. NO'in vasküler volümde vazodilatasyon görevi de vardır. Nitrik oksit, düz kas hücrelerine girer ve hücrede cGMP konsantrasyonu artar. Düz kas hücrelerinde cGMP, protein kinazı cAMP gibi aktive eder. Aktive olan protein kinazlar düz kasın relaksasyonunu ve ardından damarların dilatasyonunu sağlar.

Nitrik oksit sentaz (NOS) sinir doku, vasküler endotel, trombositler ve diğer dokularda bulunur.⁹²

3. MATERYAL VE METOT

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

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) bünyesindeki deneysel hayvan laboratuvarından temin edilen toplam 49 adet ve ağırlıkları 200-215 gram arasında değişen Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Deney süresince, sıçanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Standart Sıçan Yemi) verildi. Hayvanlar deney öncesi gruplar halinde laboratuvarında normal oda sıcaklığında (22 C⁰) barındırıldı ve beslendi. Çalışmalarımızın tüm aşamalarının Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunu tarafından 24.02.2012 tarih ve 2-26 nolu karar yazısı ile etik kurallara uygun olduğu onaylanmıştır.

3.1.2. Kullanılan İlaçlar ve İlaçların Hazırlanışı

3.1.2.1. Kullanılan İlaçlar

Tablo 3.1. Kullanılan İlaçlar

Kullanılan İlaç	Firma/Yer
Parasetamol	Doğa İlaç Hammadde Ltd. şirketi, İstanbul
Bosentan	Tracleer, 125 mg tablet
N-AsetilSistein (NAC)	Mentopin, Hermesarzneimittel Gmbh, Münih- Almanya
Tiyopental Sodyum	İE ULAGAY

3.1.2.2. İlaçların Hazırlanışı

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

Bosentan: 3 tablet 125 mg bosentan 2 ml %0.9'luk NaCl çözeltisinde çözülerek hazırlandı. Uygun dozlarda gavaj yardımıyla oral yoldan verildi.

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

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

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Tablo 3.2. Kullanılan alet ve cihazlar

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

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

Çalışmada, bir kontrol grubu ve 6 deney grubu oluşturuldu. Her bir grupta 7 adet, toplam 49 adet sıçan kullanıldı. Deney planı, Tablo 3.1.'de verilmiştir. Deney öncesi tüm gruplar 24 saat aç bırakıldı.

Aç kalan hayvanlar aşağıdaki gruplarda belirtilen deney protokollerine alındı:

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

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

Grup III: 140 mg/kg NAC (%0.9'luk NaCl çözeltisinde hazırlanan) oral yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi. Parasetamol verildikten 12 saat sonra tekrar NAC aynı dozda uygulandı.

Grup IV: 45 mg/kg Bosentan (2 ml %0.9 luk NaCl çözeltisinde hazırlanan) oral yoldan verildikten 1 saat sonrası 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup V: 90 mg/kg Bosentan oral yoldan verildikten 1 saat sonra 2 g/kg dozunda 2 ml parasetamol çözeltisi, gavaj ile oral yoldan verildi.

Grup VI: 90 mg/kg (2 ml %0.9'luk NaCl çözeltisinde hazırlanan) Bosentan oral yoldan verildi.

Grup VII: 140 mg/kg NAC oral yoldan verildi. 12 saat sonra tekrar NAC aynı dozda uygulandı.

Çalışmada uygulanan bütün parasetamol dozları, ilgili literatüre göre ayarlanmıştır.^{93, 94} Parasetamol uygulamasından 4 saat sonra tüm gruptaki sıçanlara deney sonuna kadar, yeteri kadar (ad libitum) su ve yem verildi.

Tablo 3.3. Deney Planı

Gruplar	Hayvan Sayısı	Tedavi
I	7	Sağlıklı (2 ml PBS)
II	7	Parasetamol (2g/kg)
III	7	NAC (140 mg/kg (X2 doz))+Parasetamol (2 g/kg)
IV	7	Bosentan (45 mg/kg)+Parasetamol (2 g/kg)
V	7	Bosentan (90 mg/kg)+Parasetamol (2 g/kg)
VI	7	Bosentan (90 mg/kg)
VII	7	NAC (140 mg/kg (X2 doz)

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

3.2.2. Histolojik Çalışmalar

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.2.2.1. Parafin Kesitlerde Konvansiyonel Işık Mikroskop

Tüm gruplardaki sıçanlardan alınan böbrek dokularına kod numaraları verildi ve içerisinde %4'lük formaldehit bulunan şişelere bırakıldı. Ardından aşağıda belirtilen sırası ile doku takip işlemlerine geçildi.

1. Akarsuda yıkama (gün boyu)
2. %70'lik Alkolde (Merck)[®] 1 gece bekletme

3. %80'lik Alkolde 1 saat bekletme
4. %96'lık Alkolde 1 saat bekletme
5. %96'lık Alkolde 1 saat bekletme
6. %100'lük Alkolde 1 saat bekletme
7. %100'lük Alkolde 1 saat bekletme
8. Ksilende (Merck)[®]10 dakika bekletme
9. Ksilende 10 dakika bekletme
10. Ksilende 10 dakika bekletme
11. Ksilen + boncuk parafin (Merck)[®] 60°C'lik etüvde 1 saat bekletme
12. Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 1 saat bekletme
13. Boncuk parafinde 60°C'lik etüvde 2 saat bekletme.

Dokular parafin bloklara gömülerek kesit alınması işlemlerine hazır hale getirildi. Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT) ile 5 µm'lik kesitler cam lamalar üzerine alındıktan sonra etüvde bekletildi ve aşağıda sıralanan işlemlere tabi tutularak boyama işlemi gerçekleştirildi.

1. Ksilolde (20 dak.) bekletme
2. Ksilolde (10 dak.) bekletme
3. İki ayrı % 96'lık Alkol serisinde (5 dak.) bekletme
4. %80'lik Alkol (10 dak.) bekletme
5. Çeşme suyunda yıkama
6. Hemotoksilen boyasında (1 dak.) bekletme
7. Asit-Alkol karışımında dekolorize etme
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 gerçekleştirildi.

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

3.2.3. Biyokimyasal Çalışmalar

3.2.3.1. Böbrek Dokusunda Yapılan Analizler

Sıçan dokuları -80°C 'de saklandı. Her sıçanın 100 mg böbrek dokusu spesifik homojenat tamponunda (uygun bufferda) buz üzerinde ultra-turrax ile homojenize edildi. Daha sonra kitteki direktiflere göre santrifüj edildi. Biyokimyasal çalışmalar için her süpernatanttan SOD aktivitesi, MDA seviyeleri ve GSH seviyeleri sırasıyla sıçana spesifik dizayn edilmiş yüksek hassasiyetteki Cayman Chemical Superoxide Dismutase Assay Kit Item Number 706002, Cell Biolabs OxiSelect™ TBARS Assay Kit (MDA Quantitation) STA-330 ve Cell Biolabs OxiSelect™ Total Glutathione (GSH) Assay Kit STA-312 ELISA kitleriyle her bir sıçan böbreği ikişer tekrarlamalı olarak ölçüldü. Ayrıca uygun tampon ile homojenize edilmiş tüm böbrek süpernatantlarında bütün datalar her mg protein için $\text{ort} \pm \text{standart sapma}$ olarak gösterildi.

Protein tayini:

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

SOD enzim aktivite tayini

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

Deneyin yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı
2. Sıvı azot altında dokularımız homejenize edildi.
3. 70 mM sükröz, 210 mM mannitol ve 1mM etilen glikol-bis tetraasetik asit (EGTA) içeren pH'ı 7.2 olan doku başına 1 ml soğuk HEPES buffer ile ultra turrax homojenizatörde buz üstünde 1 dakika boyunca homojenize edildi.
4. Tüm numuneler işlem bitene kadar + 4 °C muhafaza edildi.
5. +4 °C 1,500x g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi.

Süpernatant kısmında ölçüm yapıldı

Çalışma 96 kuyucuklu plateelerde gerçekleştirildi.

1. Örnek Kuyularına 20 µl örnek ve Standart'lardan eklendi.
 2. 200 µl seyreltilmiş radikal detektör tüm kuyulara eklendi ve 10 dk. çalkalayıcıya (karıştırıcıya) konuldu.
 3. Reaksiyonu başlatmak için 20µl seyreltilmiş xantin oksidaz eklendi.
 4. Birkaç saniye plate'in üstü kapalı şekilde çalkalayıcıda bekletildi.
- Oda sıcaklığında 20 dk boyunca inkübe edildikten sonra 460 nm'de ELISA reader da okutuldu. Standart ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

Total Glutasyon (GSSG/GSH) tayini

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

Doku homojenizasyonu;

1. Dokular kırmızı kan hücresi ve kan pıhtılarını uzaklaştırmak için PBS ile yıkandı.
2. Sıvı azot altında dokular homejenize edildi.

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

Deneyin yapılışı;

1. Homojenize numuneler 15 dakika + 4 derece 12000 Rpm de santrifüjlenip süpernatantları ölçüm için toplandı.
2. 96 kuyuluk plate 25 µl 1X glutatyon redüktaz herbir kuyuya eklendi.
3. 1X NADPH solüsyonundan 25 µl her kuyuya eklendi.
4. Hazırlanan GSH standartlarından veya örneklerden 190 µl her kuyuya eklendi. Plate okuyucu kinetik ölçüm için ayarlandı ve 405 nm de okumaya ayarlandı. 1X kromojenden 50 µl eklenip ve karıştırıldı. Hızlı bir şekilde 10 dk boyunca 1 dk aralıklarla 405 nm de absorbans okundu. Standart ve numunelerin konsantrasyonları hesaplandı.

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) miktarının tayini

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

Deneyin Yapılışı:

Doku homojenizasyonu;

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

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

Çalışma 96 kuyucuklu platelerde yapıldı.

1. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatantları yeniden numaralandırılan başka tüplere 100 µl hacminde eklendi. Bunun yanında standartlarımız da ayrı tüplere 100 er µl olacak şekilde koyuldu.

2. Kristalize durumdaki SDS lysis solusyonunu çözdürdükten sonra her bir numunemize (standartlar da dahil) 100 er µl eklendi.

3. Oda sıcaklığında 5 dk. inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra ölçüm yapılacak her tüpe 250 µl TBA reagent eklendi.

4. Tüplerin ağzı kapatılıp 95 °C de 45 ila 60 dk inkübasyona bırakıldı.

5. İnkübasyon sonrasında tüpler 5 dk buz üzerinde bekletildi.

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

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

3.2.3.2. Serumda Yapılan Analizler

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

3.2.4. İstatistiksel Analiz

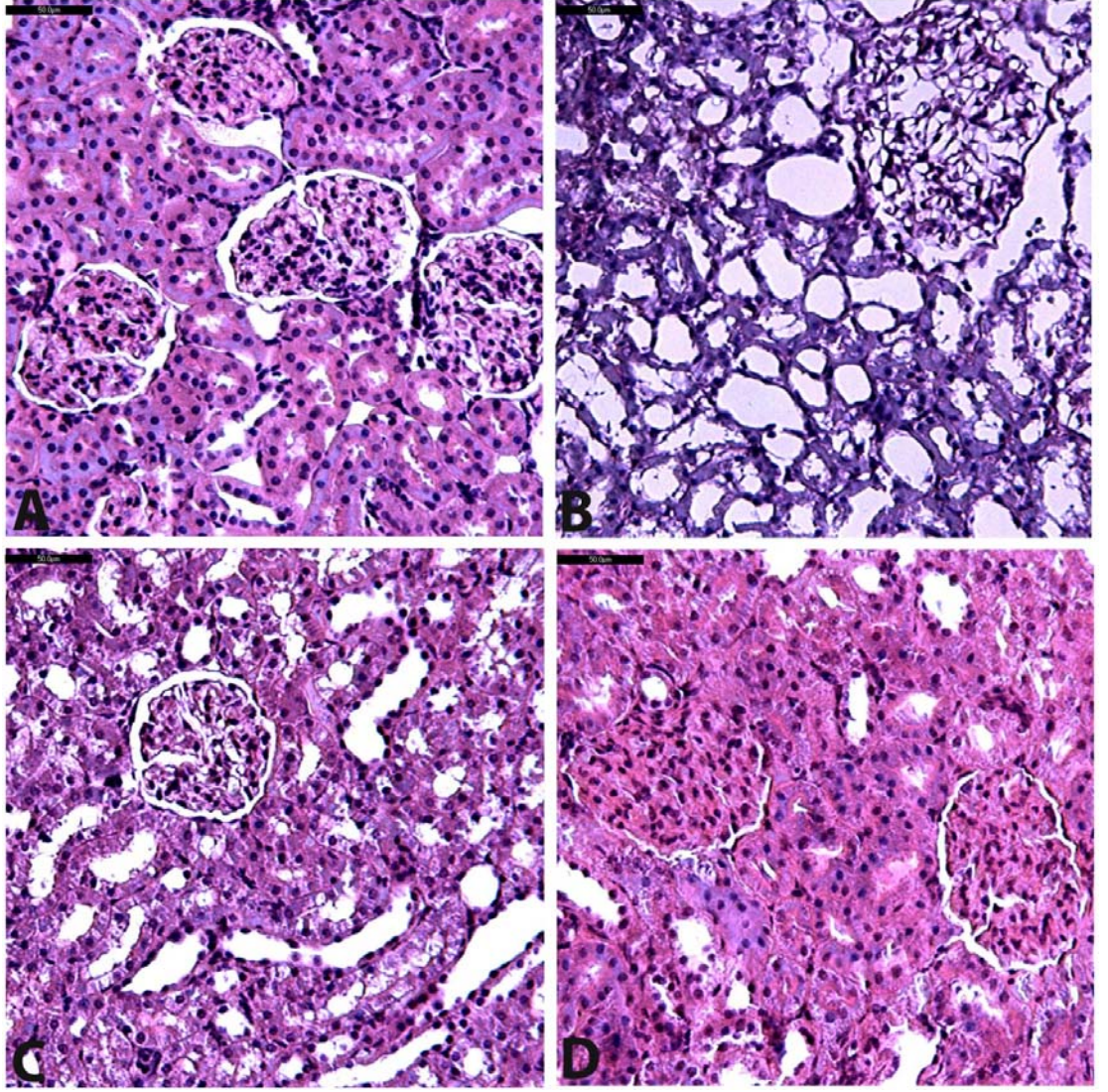
Deneylerden elde edilen sonuçlar ortalama(ort)±standart sapma(ss) olarak verildi ve 0.05'in altındaki P değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testinde post-hoc testlerinden "Duncan" tekniği kullanılarak belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

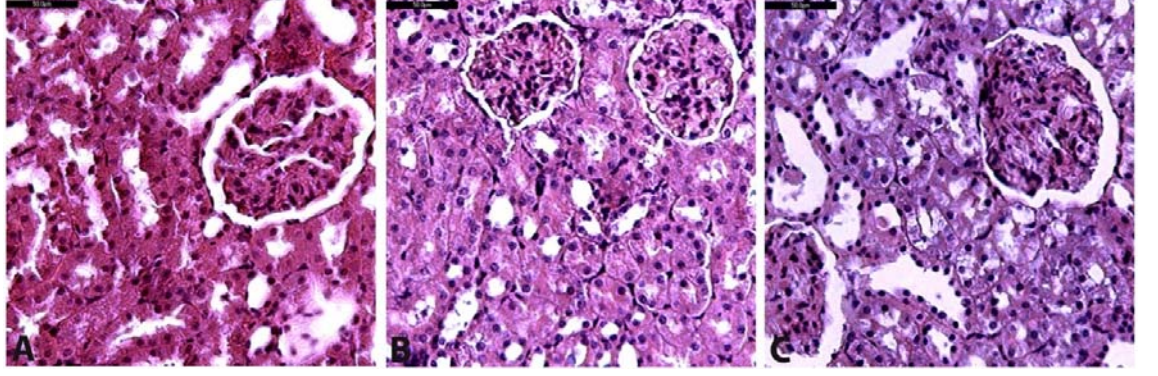
Sağlıklı gruba ait kesitlerde glomeruller, proksimal ve distal tübüller gibi böbreğe ait yapılar normal olarak değerlendirilirken, parasetamol grubunda bu yapılarda şiddetli dejenerasyonlar gözlemlendi. Bu dejenerasyonlar gerek proksimal gerekse distal tübüllerde genişleme, tübüllerini oluşturan hücrelerin çekirdeklerinde hiperkromazi, sitoplazmalarında eozinofili artışı, tübül bütünlüğünün korunamaması şeklindeydi. Ayrıca glomerüllerde kapiller dilatasyon, daralmış bowman aralıkları en dikkat çekici bulgular arasındaydı. Sağlıklı hayvanlara NAC uygulaması sonrası elde edilen böbrek kesitlerine bakıldığında tübüllerdeki sitoplazma transparanlığı dışında herhangi bir anormalliğe rastlanmadı. Parasetamol sonrası NAC uygulanan gruptaki bulgular parasetamol grubu ile kıyaslandığında tübüllerdeki bütünlüğün korunduğu, tübüllerini oluşturan hücrelerin normal görünümünde olduğu, yanı sıra parasetamol grubunda görülen glomerüllerdeki kapiller dilatasyonunun olmadığı belirlendi.

Bosentan tedavi gruplarındaki histopatolojik değişikliklere baktığımızda sağlıklı hayvanlara uygulanan bosentanın böbrek üzerinde herhangi bir değişikliğe sebep olmadığı belirlendi. Parasetamol sonrası bosentan uygulamasının dozlara göre fazla bir değişiklik göstermediği bununla beraber parasetamol toksisitesini ciddi bir şekilde önlediği ve/veya azalttığı belirlendi. Son cümleyi histopatolojik değerlendirme açısından genişletecek olursak; Parasetamol grubunda gördüğümüz şiddetli tübül dejenerasyonunun, glomerüler kapiller dilatasyonunun, nekrotik figürlü hücrelerin bosentan tedavi gruplarının her iki dozunda da düzeldiği gözlemlendi.



Şekil 4.1. Çalışma gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler

A: Sağlıklı kontrol grubu, B: Parasetamol toksisitesi uygulanmış grup, C: Sağlıklı + NAC grubu, D:Parasetamol + NAC grubu. Boya: hematoksilen & Eozin



Şekil 4.2. Çalışma gruplarına ait ışık mikroskopik görüntüler.

A: Sağlıklı + Bosentan 90 mg, B: Parasetamol + Bosentan 45 mg, C: Parasetamol + Bosentan 90 mg. Boya: hematoksilen & Eozin

4.2. Biyokimyasal Bulgular

4.2.1. Serum Kreatinin ve Üre Analizleri

Tablo 4.1 de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki serum kreatinin seviyeleri sırası ile; 0.48 ± 0.11 mg/dl, 0.55 ± 0.05 mg/dl, 0.52 ± 0.08 mg/dl, 1.36 ± 0.25 mg/dl, 0.73 ± 0.13 mg/dl, 0.66 ± 0.15 mg/dl, 0.63 ± 0.15 mg/dl olarak gözlemlendi. Gruplar arasında böbrek fonksiyonları bakımından serum kreatinin düzeyinin Parasetamol 2g/kg grubunda en yüksek olduğu gözlemlendi. 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC+Parasetamol 2 g/kg gruplarında parasetamol 2 gr/kg grubuna göre kreatinin seviyesi anlamlı bir şekilde azaltdı. Koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg grubunda gözlemlendi.

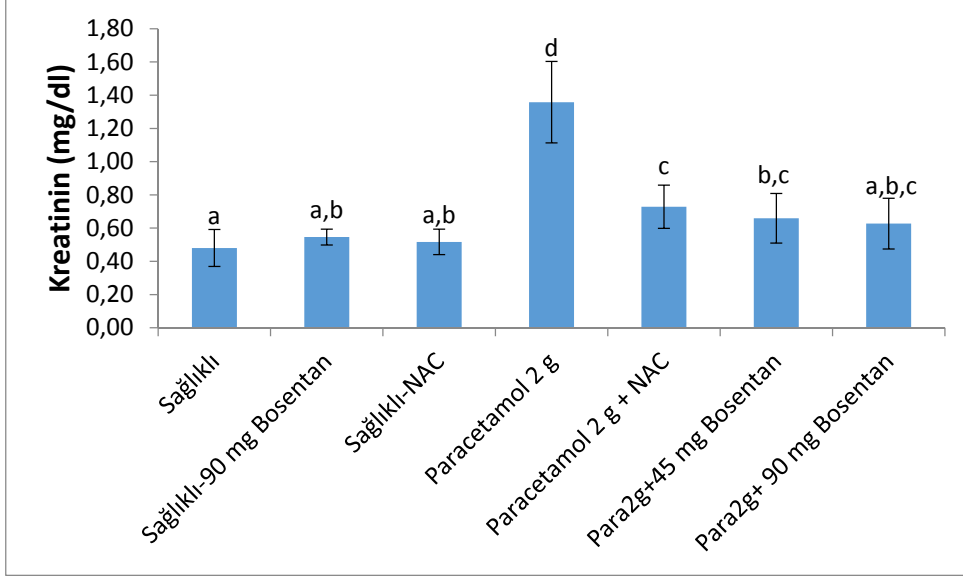
Tablo 4.1 de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki serum üre seviyeleri sırası ile; 47.55 ± 10.77 mg/dl, 43.83 ± 3.16 mg/dl, 48.80 ± 6.81 mg/dl, 104.90 ± 20.93 mg/dl,

68.68±11.06 mg/dl, 62.65±7.90 mg/dl, 59.52±14.06 mg/dl olarak gözlemlendi. Gruplar arasında böbrek fonksiyonları bakımından serum üre düzeyinin Parasetamol 2g/kg grubunda en yüksek olduğu gözlemlenirken, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC+Parasetamol 2 g/kg gruplarında parasetamol 2 g/kg grubuna göre üre seviyesi anlamlı bir şekilde azaldı. Koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg grubunda gözlemlendi.

Tablo 4.1. Sıçan Serumunda Ölçülen Kreatinin ve Üre Miktarları

Gruplar	Kreatinin (mg/dl)	Üre (mg/dl)
Sağlıklı	0.48 ± 0.11 ^a	47.55 ± 10.77 ^{a,b}
Sağlıklı-90 mg Bosentan	0.55 ± 0.05 ^{a,b}	43.83 ± 3.16 ^a
Sağlıklı-NAC	0.52 ± 0.08 ^{a,b}	48.80 ± 6.81 ^{a,b}
Parasetamol 2 g	1.36 ± 0.25 ^d	104.90 ± 20.93 ^d
Parasetamol 2 g + NAC	0.73 ± 0.13 ^c	68.68 ± 11.06 ^c
Para2g+45 mg Bosentan	0.66 ± 0.15 ^{b,c}	62.65 ± 7.90 ^c
Para2g+ 90 mg Bosentan	0.63 ± 0.15 ^{a,b,c}	59.52 ± 14.66 ^{b,c}

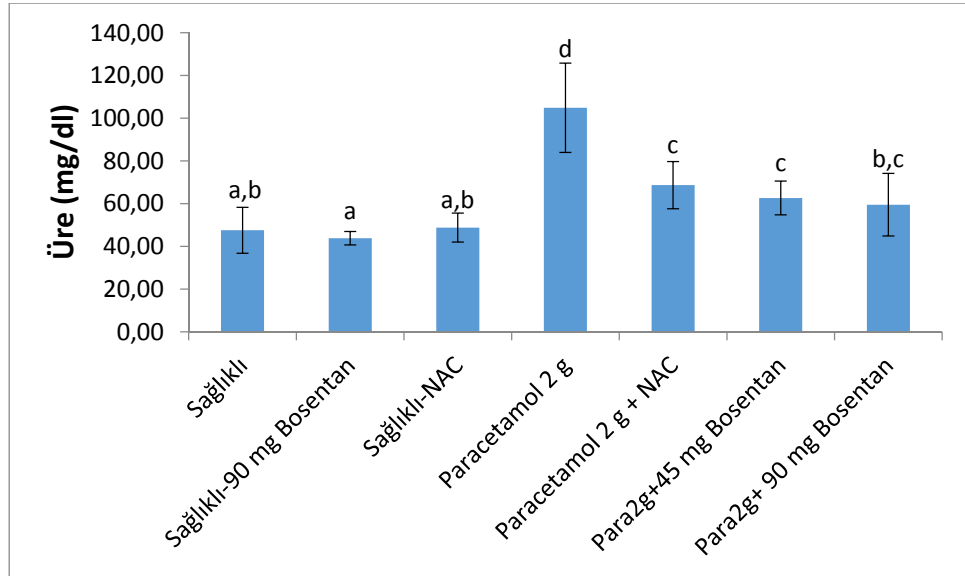
***SAĞ: Sağlıklı, BOS: Bosentan, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Post Hoc Duncan tekniği kullanılarak istatistiksel analize tutuldu. P< 0.05 anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler: ORT ±SD)



Şekil 4.3. Sıçan serumunda ölçülen kreatinin miktarının grafikte gösterilmesi

***SAĞ: Sağlıklı, BOS: Bosentan, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Aynı sütunda aynı harf veya

harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ($p<0.05$).



Şekil 4.4. Sıçan serumunda ölçülen üre miktarının grafikte gösterilmesi

***SAĞ: Sağlıklı, BOS: Bosentan, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Aynı sütunda aynı harf veya

harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ($p<0.05$).

4.2.2. SOD Aktivitesi, GSH, MDA Analizleri

Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki SOD seviyeleri sırası ile; 67.97±18.21 U/mg protein, 63.85±16.76 U/mg protein, 60.40±22.36 U/mg protein, 31.18±8.11 U/mg protein, 49.30±26.73 U/mg protein, 59.93±13.32 U/mg protein, 59.37±14.49 U/mg protein olarak gözlemlendi. Gruplar arasında antioksidan aktivite olarak SOD seviyesindeki en ciddi azalma Parasetamol 2g/kg grubunda gözlenirken, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC+Parasetamol 2 g/kg gruplarında parasetamol 2 gr/kg grubuna göre SOD miktarı anlamlı bir şekilde yükselmiştir. Koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg gruplarında gözlenmiştir. Ayrıca bu veriler bosentan uygulamasının antioksidan aktiviteyi NAC uygulamasından daha iyi arttırdığını göstermiştir.

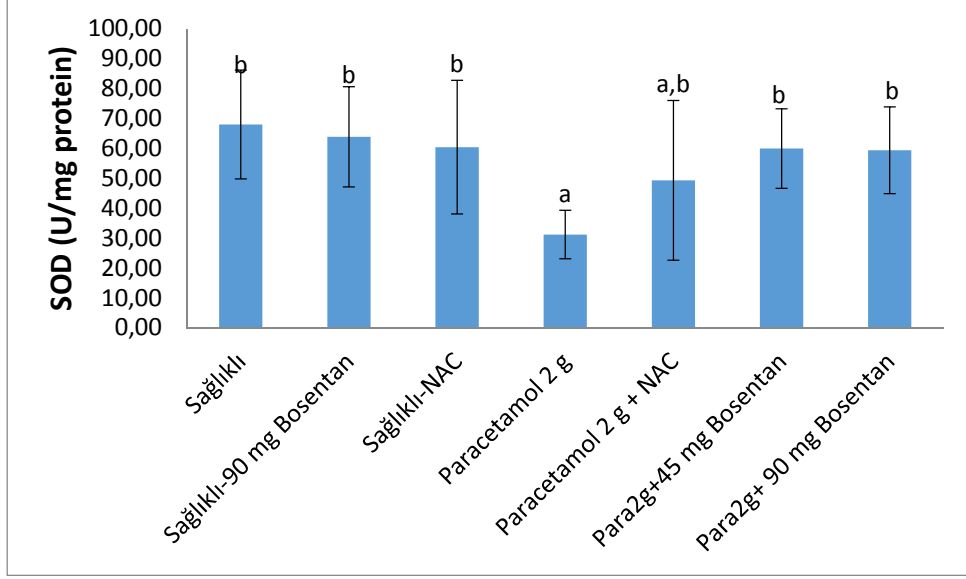
Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki GSH seviyeleri sırası ile; 2.34±0.38 nmol/mg protein, 2.27±0.45 nmol/mg protein, 2.56±0.66 nmol/mg protein, 1.65±0.59 nmol/mg protein, 2.38±0.21 nmol/mg protein, 2.16±0.57 nmol/mg protein, 2.24±0.56 nmol/mg protein olarak gözlemlendi. Gruplar arasında antioksidan aktivite olarak GSH seviyesi açısından en ciddi azalma Parasetamol 2 g/kg grubunda gözlenirken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC + Parasetamol 2 g/kg grubunda gözlemlendi.

Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi Sağlıklı, Sağlıklı-90 mg/kg BOS, Sağlıklı-NAC, Parasetamol 2 g/kg, NAC+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg deney gruplarındaki MDA seviyeleri sırası ile; 46.71±22.75 nmol/mg protein, 55.79±23.14 nmol/mg protein, 71.66±14.24 nmol/mg protein, 118.82±24.56 nmol/mg protein, 90.45±10.13 nmol/mg protein, 68.81±38.47 nmol/mg protein, 66.19±19.28 nmol/mg protein olarak gözlemlendi. Parasetamol 2 g/kg verilen grupta MDA seviyesinin önemli derecede arttığı gözlenirken, koruyucu etki oluşturulan gruplar arasındaki en iyi düzelme 90 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg, 45 mg/kg BOS+Parasetamol 2 g/kg ve NAC+Parasetamol 2 g/kg gruplarında gözlemlendi.

Tablo 4.2. Sıçan Böbrek Dokusunda Ölçülen SOD aktivitesi, GSH ve MDA Seviyeleri

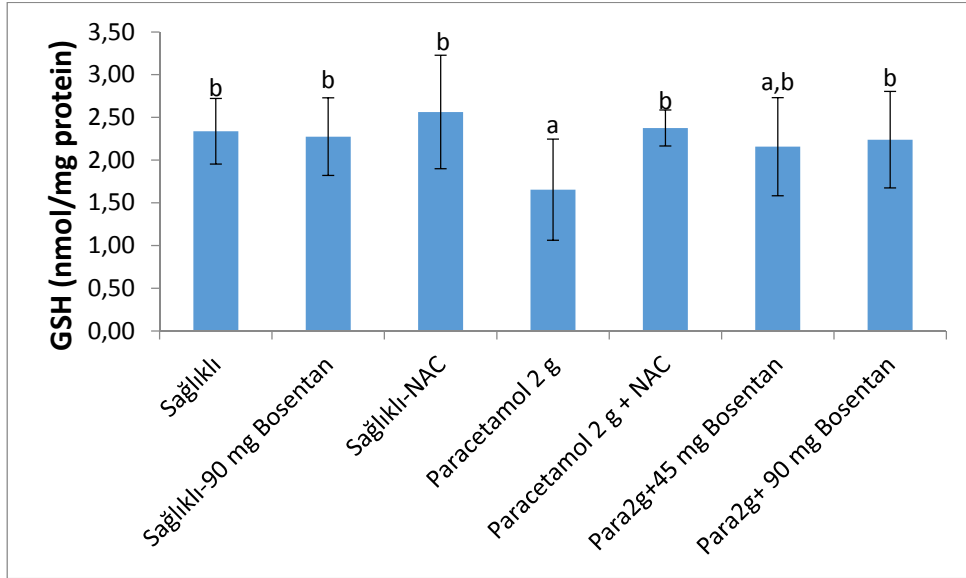
Gruplar	SOD (U/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)
Sağlıklı	67.97 ± 18.21 ^b	2.34 ± 0.38 ^b	46.71 ± 22.75 ^a
Sağlıklı-90 mg Bosentan	63.85 ± 16.76 ^b	2,27 ± 0.45 ^b	55.79 ± 23.14 ^a
Sağlıklı-NAC	60.40 ± 22.36 ^b	2.56 ± 0.66 ^b	71.66 ± 14.24 ^{a,b}
Parasetamol 2 g	31.18 ± 8.11 ^a	1.65 ± 0.59 ^a	118.82 ± 24.56 ^c
Parasetamol 2 g + NAC	49.30 ± 26.73 ^{a,b}	2.38 ± 0.21 ^b	90.45 ± 10.13 ^b
Para2g+45 mg Bosentan	59.93 ± 13.32 ^b	2.16 ± 0.57 ^{a,b}	68.81 ± 38.47 ^{a,b}
Para2g+ 90 mg Bosentan	59.37 ± 14.49 ^b	2.24 ± 0.56 ^b	66.19 ± 19.28 ^{a,b}

***SAĞ: Sağlıklı, BOS: Bosentan, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Sonuçlar One-Way ANOVA testinde Post Hoc Duncan tekniği kullanılarak istatistiksel analize tutuldu. P< 0.05 anlamlı olarak kabul edildi. (Değerler:ORT ±SD)



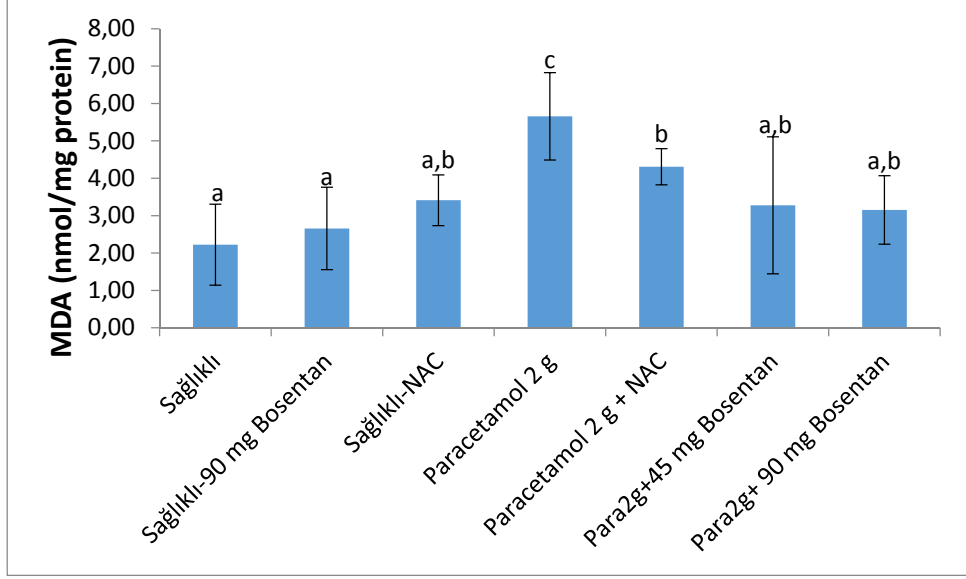
Şekil 4.5. Sıçan böbrek dokusunda ölçülen SOD aktivitesinin grafikte gösterilmesi

***SAĞ: Sağlıklı, BOS: Bosentan, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ($p < 0.05$).



Şekil 4.6. Sıçan böbrek dokusunda ölçülen GSH seviyesinin grafikte gösterilmesi

***SAĞ: Sağlıklı, BOS: Bosentan, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ($p < 0.05$).



Şekil 4.7. Sıçan serumunda ölçülen MDA miktarının grafikte gösterilmesi

***SAĞ: Sağlıklı, BOS: Bosentan, PARA: Parasetamol 2 g/kg. Aynı sütunda aynı harf veya harflerle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ($p < 0.05$)

5.TARTIŞMA

Çalışmamızda parasetamol toksisitesinde ET-1 reseptör antagonisti olan bosentanın sıçanlarda parasetamolle deneysel olarak oluşturulan akut böbrek toksisitesi üzerine etkileri araştırıldı.

Parasetamol dünyada çok yaygın kullanılan ilaçlardan biridir. Parasetamol, antienflamatuvar etkinliği olmayan fakat güçlü analjezik ve antipiretik etkisi olan NSAİ grubu ilaçların üyesidir¹. Parasetamolün aşırı dozda alınmasının karaciğer ve böbrek hasarı hatta karaciğer ve böbrek yetmezliğine yol açtığı bildirilmiştir.³⁻⁵ Parasetamol kaynaklı akut renal yetmezlik kendini akut tübüler nekroz (ATN) ile belli eder. ATN ya tek başına gerçekleşir ya da hepatik nekrozla eşzamanlı meydana gelir.⁹⁵⁻⁹⁸

Parasetamolün karaciğer hasarına sebep olduğu üzerinde çok çalışılan bir konu olmasına rağmen, parasetamolün oluşturduğu böbrek hasarı üzerinde pek az çalışma mevcuttur. Prescott ve arkadaşları terapötik dozlardaki parasetamolün hem insan hem de hayvanda prostaglandin E₂ ve sodyum salgılamayı, GFR ve RKA değerlerini düşürerek renal fonksiyonu etkilediğini bulunmuştur.^{99, 100} Ayrıca parasetamolün akut ve kronik nefrotoksik etkileri vardır. Parasetamolün fazla dozda alımı (10-15 g) proksimal tübülde hasar ve nekrozla karakterize edilen akut toksisiteye yol açar. Öte yandan kronik alımın çok düşük dozlarda (5000-1000 mg) analjezik nefropati ile sonuçlanan renal hasar oluşturabilir.¹⁰¹

Artmış serum üre ve kreatin değerleri, klinik öncesi, klinik sonrası çalışmalarda ve klinik bakımdan böbrek toksisitesini tespit etmek için kullanılan yaygın biyomarkerlerdir.¹⁰² Gerek klinik, gerekse hayvanlarda yapılan çalışmalarda parasetamolün karaciğer toksisitesinin yanı sıra önemli derecede renal bozukluğa yol açtığı plazma üre ve kreatin değerleriyle kanıtlanmıştır. Renal hastalıklarda üre üretim

hızının artması nedeniyle serumda üre birikimi olur çünkü serum üre üretim hızı klerans hızını geçer.¹⁰³

Yaşanan bir klinik vakada, parasetamol zehirlenmesi sebebi ile acil servise getirilen bir hastada oluşan böbrek hasarının kanıtı olarak artmış serum üre ve kreatin değerleri kaydedilmiştir. Uygulanan NAC tedavisi ile ilerleyen günlerde ilgili üre ve kreatin değerlerinin normale döndüğü gözlenmiştir.¹⁰²

Öte yandan Yousef ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, sıçanlarda parasetamol indüklemesi ile oluşturdukları böbrek hasarı, böbrek fonksiyonlarında bozulmanın yanı sıra hematoksite oluşturmuşlar ve plazma, beyin, mide, kalp, karaciğer, böbrek, testis gibi dokularda quercetin ve curcumin isimli maddelerin potansiyel koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta kontrol, sağlıklı ve tedavi gruplarına nazaran serum üre ve kreatinin seviyelerinde belirgin bir artış olduğunu bulmuşlardır.¹⁰⁴

Biz de çalışmamızda parasetamol toksisitesi oluşturulan sıçanların serum kreatinin ve üre değerlerindeki artmanın bosentan uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığını tespit ettik. Bu sonuç da bosentanın parasetamol toksisitesinde böbrek fonksiyonları üzerine olumlu etkilerini desteklemektedir.

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipit peroksidasyonunun en yaygın kullanılan belirleyicilerinden biridir. Oksidatif strese maruz kalan dokularda, MDA düzeyinde artış görülür. Başka bir deyişle plazma MDA düzeyi oksidatif stres için biyomarker olarak kullanılabilir.¹⁰⁵ Yine parasetamol toksisitesi oluşturulan sıçanlarda plazma, karaciğer, böbrek, mide ve beyindeki TBARS ve buna bağlı olarak ilgili dokulardaki MDA seviyelerinde artış olduğu bulunmuştur. Çünkü TBARS'ın %99'u MDA olduğu için numunelerin TBARS konsantrasyonu MDA'nın sönüm katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır (extinction coefficient of MDA)($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$

cm). Bu durumla eş zamanlı olarak ilgili grubun karaciğer, beyin, böbrek ve mide dokularının GSH miktarında önemli derecede azalma kaydedilmiştir. Ayrıca plazma ve organlardaki antioksidan enzim aktivitesi (GST, GPX, SOD ve CAT) inhibe olmuştur.¹⁰⁴

Çalışmamızda, benzer şekilde böbrek dokusundaki MDA değerinin, toksisite oluşturulan grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu saptandı. Bu sonuç da lipit peroksidasyonunun parasetamole bağlı doku hasarı ile ilişkili olduğunu desteklemektedir.

Konumuzla ilgili bir diğer çalışma da Newton ve arkadaşlarının çalışmasıdır. Newton ve ark. böbrekte deasetilasyon yoluyla parasetamolden toksik metaboliti olan PAP oluştuğunu ve bu metabolitin güçlü, özgül nefrotoksik bir bileşik olduğunu, renal GSH konsantrasyonunu azalttığını, bu sayede renal makromolekülleri arilleyerek yüksek dozda parasetamolün indüklediği renal nekrozdan bu bileşiğin sorumlu olabileceğini öne sürmüşlerdir. Genel olarak, parasetamol bağımlı renal hasarın böbreklerde ilacın metabolik aktivasyonuna bağlı olduğu kabul edilmektedir.¹⁰⁶

Ghosh ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sıçanlara parasetamol vererek böbrek toksisitesi oluşturmuşlar ve arjunolik asidin akut böbrek toksisitesindeki etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada akut böbrek toksisitesi oluşturulan grupta kontrol grubuna göre böbrek SOD ve GSH seviyesinde azalma, lipit peroksidasyon belirteci olan MDA seviyesinde artış görülmüştür.¹⁰⁷

Bizim çalışmamızda da parasetamol toksikasyonu oluşturduktan 24 saat sonra alınan böbrek örneklerinde yapılan ölçümlerde, toksisite oluşturulan grupta SOD ve GSH seviyelerinde belirgin azalmalar gözlenmiştir. Bosentan uygulamasında, böbrek hasarı nedeniyle azalan SOD değerlerinin toksisite oluşturulan kontrol grubuna kıyasla belirgin bir şekilde normale yaklaştığı tespit edildi. Bu sonuçlar bosentan ile yapılan

koruyucu etkinin, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde parasetamole bağı böbrek hasarını düzelttiğini göstermiştir. Öte yandan bosentan uygulanan grupta GSH değerlerinin toksisite grubuna göre normale yaklaşması da bosentan uygulamasının toksisite durumunda oluşan oksidatif strese karşı da koruyucu etki oluşturduğunun göstergesidir.

Böbrekte glutasyonun azalması renal nekrozla sonuçlanır. Öte yandan glutasyon prekürsörü olan sisteinle ön tedavinin parasetamol kaynaklı lezyonların şiddetini azalttığı bildirilmiştir. Böbrekte temel olarak glutasyon azaldığında toksik metabolit oluştuğu düşünülür. ¹⁰⁸ Yani yapılan hayvan çalışmaları böbreğin parasetamolle istila edildiği durumlarda P-450 sistemi aracılığıyla meydana gelen oksidasyonun tübüler hasar meydana getirdiğini göstermiştir. ¹⁰⁹ Becker ve arkadaşlarının yayınladıkları olgu sunumunda asiklovir nefrotoksitesisi ile akut renal yetmezlik gelişen hastada yaptıkları renal biyopside, proksimal tübülüslerde dilatasyon ve hasar tespit etmişlerdir. ¹¹⁰

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz böbrek kesitlerini histopatolojik olarak incelediğimizde Sağlıklı gruba ait kesitlerde glomeruller, proksimal ve distal tübüller gibi böbreğe ait yapılar normal olarak değerlendirilirken, parasetamol grubunda bu yapılarda şiddetli dejenerasyonlar gözlemlendi. Öte yandan Parasetamol grubunda gördüğümüz şiddetli tübül dejenerasyonunun, glomerüler kapiller dilatasyonunun, nekrotik figürlü hücrelerin bosentan tedavi gruplarının her iki dozunda da düzeldiği gözlemlendi. Bu histopatolojik bulgular Bosentan uygulamasının parasetamolle indüklenen böbrek hasarında iyileşme gösterdiğini desteklemektedir.

Konunun başında da belirttiğimiz gibi parasetamol toksisitesinde gerçek bir tedavi bulunmamaktadır. Bu sebeple literatüre baktığımız zaman pek çok deneysel veya klinik alternatif tedavi yöntemlerinin denendiği görülmektedir. Parasetamol zehirlenmesinin standart tedavisi NAC'dir. NAC, amino asit L-sistein ve GSH'nın her

ikisinin asetilenmiş bir prekürsörüdür ve yıllardır parasetamol aşırı alımlarına bağlı toksisitenin önlenmesi için bir antidot olarak kullanılmıştır. Günümüzde hayvan ve insan çalışmalarıyla NAC'ın güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir ve serbest radikaller ve oksidan hasarla karakterize çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel terapötik ajan olarak kullanılmaktadır. ¹¹¹ Bizim çalışmamızda sıçanlara parasetamol 2 g/kg vermeden 1 saat önce ve 12 saat sonra 140 mg/kg dozunda NAC oral olarak verildi. Gerek enzimatik parametrelere gerekse histopatolojik bulgulara baktığımızda her iki dozda da bosentan uygulamasının NAC uygulamasından daha iyi sonuçlar verdiğini görmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

“Bosentanın parasetamolle oluşturulan akut böbrek toksisitesi üzerine etkilerinin incelenmesi” adı altında yapılan çalışmanın sonuçları parasetamole bağlı gelişen toksisite üzerine çalışan bilim insanları için umut verici niteliktedir.

Parasetamol aşırı doz alımında mevcut antidot tedavisi NAC uygulamasıdır. Bu sebeple üzerinde çalıştığımız bosentanın etkilerini, NAC tedavisi ile kıyaslayarak çalıştık. Deneysel çalışmalarımız sonucunda;

Böbrek fonksiyonlarının önemli göstergesi olan serum kreatinin ve üre değerlerinde bosentan grubunda NAC grubuna göre daha iyi düzelme olduğu görülmüştür. Antioksidan sistem (SOD ve GSH) üzerine bosentanın etkileri ise yine NAC’a göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Doku hasarının primer belirteci olan MDA seviyelerinde ise bosentan ve NAC’ın etkileri birbirine yakın seviyede görülmüştür. Bu biyokimyasal değerlerin göstermiş olduğu olumlu etkileri histopatolojik çalışmalar da desteklemektedir.

Tüm bu sonuçlar da; endotelinlerin ve dolayısıyla böbrekte bulunan ET-1 reseptörlerinin parasetamole bağlı gelişen böbrek toksistesinde önemli bir rol üstlenebileceği gösterilmiştir. ET-1 reseptörlerinin bosentan ile inhibe edilmesi böbrek hasarını önlemiş ve bu nedenle gerek biyokimyasal gerekse histopatolojik iyileşme görülmüştür. Parasetamole bağlı oluşmuş artmış MDA seviyeleri bosentan uygulaması ile azalmış, SOD ve GSH seviyeleri anlamlı bir şekilde düzelme göstermişlerdir.

İleriki çalışmalarda ise ET-1’in böbrekte oluşturduğu hasarın mekanizması aydınlatılmalıdır. Aynı zamanda ET-1’in bu patolojik etkisinin diğer hastalıklardaki etkileri de incelenmelidir. Bu sayede yeni yöntemler ve yeni ilaçlar geliştirilerek bilim dünyasına katkı sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Kayaalp O.S. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 11. Baskı. Ankara, Hacettepe-Taş 2005.: 849-850.
2. Hawkins N, Golding J. A survey of the administration of drugs to young infants. The Alspac Survey Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. *British journal of clinical pharmacology*, 1995, 40: 79-82.
3. Lippman M. *Medical Emergencies*. Baskı.
4. Esener ZK. *Klinik Anestezi Genişletilmiş*. 3. Baskı. İstanbul-Türkiye, Logos Yayıncılık, 2004.
5. Jaeschke H, Knight TR, Bajt ML. The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicology letters*, 2003, 144: 279-88.
6. Miller RD. *Anesthesia*. Second Baskı. Churchill Livingstone, 1986.
7. Barash, GP, Bruce FC, Stoelding R. *Klinik Anestezi El Kitabı*. 3. Baskı. İstanbul-Türkiye, Logos Yayıncılık, 1989: 129-134.
8. Morgan G, Mikhail M, Murray M, Larson C. *Clinical Anesthesiology*. 3rd Baskı. Lange, 2001.
9. Mazze RI. The Safety of Sevoflurane in Humans. *Anesthesiology*, 1992, 77: 1062-1063.
10. Kandel L, Laster MJ, Eger EI, Kerschmann RL, Martin J. Nephrotoxicity in Rats Undergoing a One-Hour Exposure to Compound-A. *Anesthesia and Analgesia*, 1995, 81: 559-563.
11. Oliver L., Judith E., Tintinalli J., Stapczynski S. *Tintinalli's Emergency Medicine*. 7th Baskı. New York, McGraw-Hill, 2004: 1088-1094.

12. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Current opinion in pharmacology*, 2007, 7: 355-9.
13. Kanter MZ. Comparison of oral and i.v. acetylcysteine in the treatment of acetaminophen poisoning. *American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists* 2006, 63: 1821-7.
14. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Goto K, Masaki T. A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca²⁺ channels. *Journal of hypertension. Supplement : official journal of the International Society of Hypertension*, 1988, 6: S188-91.
15. Kohan DE. Endothelins in the normal and diseased kidney. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 1997, 29: 2-26.
16. Gabbay E, Fraser J, McNeil K. Review of bosentan in the management of pulmonary arterial hypertension. *Vascular health and risk management*, 2007, 3: 887-900.
17. Raja SG, Dreyfus GD. Current status of bosentan for treatment of pulmonary hypertension. *Annals of cardiac anaesthesia*, 2008, 11: 6-14.
18. Kohan DE, Padilla E. Osmolar regulation of endothelin-1 production by rat inner medullary collecting duct. *The Journal of clinical investigation*, 1993, 91: 1235-40.
19. Wesson DE. Endogenous endothelins mediate increased acidification in remnant kidneys. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2001, 12: 1826-35.
20. Sorokin A, Kohan DE. Physiology and pathology of endothelin-1 in renal mesangium. *American journal of physiology. Renal physiology*, 2003, 285: F579-89.

21. Ding SS, Qiu C, Hess P, Xi JF, Zheng N, Clozel M. Chronic endothelin receptor blockade prevents both early hyperfiltration and late overt diabetic nephropathy in the rat. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 2003, 42: 48-54.
22. Amann K, Simonaviciene A, Medwedewa T, Koch A, Orth S, Gross ML, Haas C, Kuhlmann A, Linz W, Scholkens B, Ritz E. Blood pressure-independent additive effects of pharmacologic blockade of the renin-angiotensin and endothelin systems on progression in a low-renin model of renal damage. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2001, 12: 2572-84.
23. Gomez-Garre D, Largo R, Liu XH, Gutierrez S, Lopez-Armada MJ, Palacios I, Egido J. An orally active ETA/ETB receptor antagonist ameliorates proteinuria and glomerular lesions in rats with proliferative nephritis. *Kidney international*, 1996, 50: 962-72.
24. Nakamura T, Ebihara I, Tomino Y, Koide H. Effect of a specific endothelin A receptor antagonist on murine lupus nephritis. *Kidney international*, 1995, 47: 481-9.
25. Rothermund L, Traupe T, Dieterich M, Kossmehl P, Yagil C, Yagil Y, Kreutz R. Nephroprotective effects of the endothelin ET(A) receptor antagonist darusentan in salt-sensitive genetic hypertension. *European journal of pharmacology*, 2003, 468: 209-16.
26. Hunley TE, Fogo A, Iwasaki S, Kon V. Endothelin A receptor mediates functional but not structural damage in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 1995, 5: 1718-23.
27. Suga S, Yasui N, Yoshihara F, Horio T, Kawano Y, Kangawa K, Johnson RJ. Endothelin a receptor blockade and endothelin B receptor blockade improve hypokalemic nephropathy by different mechanisms. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2003, 14: 397-406.

28. Dhaun N, Goddard J, Webb DJ. The endothelin system and its antagonism in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 2006, 17: 943-55.
29. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-Induced Hepatic Necrosis .1. Role of Drug-Metabolism. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1973, 187: 185-194.
30. Hocaoglu N, Kalkan S, Akgun A, Capar S, Tuncok Y. A retrospective evaluation of analgesic exposures from Izmir, Turkey. *Human & experimental toxicology*, 2007, 26: 629-36.
31. Akkose S, Bulut M, Armagan E, Cebicci H, Fedakar R. Acute poisoning in adults in the years 1996-2001 treated in the Uludag University Hospital, Marmara Region, Turkey. *Clinical toxicology*, 2005, 43: 105-9.
32. Morgan G, Mikhail, MS., Murray, MJ., Larson, CP. *Clinical Anesthesiology*. 3rd Baskı. Lange, 2001.
33. Kayaalp S.O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2. Cilt.* 8. Baskı. Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., 1998: 1040-1042.
34. Guyton AC., Hall JE. *Textbook of medical physiology*. Baskı. 1996: 883-886.
35. Boyer TD, Rouff SL. Acetaminophen-Induced Hepatic Necrosis and Renal Failure. *Journal of the American Medical Association*, 1971, 218: 440-&.
36. Brown R.A. Hepatic and renal damage with paractamol overdose. *Journal of clinical pharmacology*, 1968, 21: 793.
37. Brodie BB, Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1948, 94: 29-38.
38. Kittisupamongkol W. Liver injury from diclofenac or acetaminophen? *The American journal of gastroenterology*, 2009, 104: 1862.

39. Boyland E, Chasseaud LF. The role of glutathione and glutathione S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*, 1969, 32: 173-219.
40. Shahroor S, Shvil Y, Ohali M, Granot E. [Acetaminophen toxicity in children as a "therapeutic misadventure"]. *Harefuah*, 2000, 138: 654-7, 710.
41. Forrest JA, Clements JA, Prescott LF. Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clinical pharmacokinetics*, 1982, 7: 93-107.
42. Kayaalp S.O., Melli M. *Non-Steroidial Antiinflamatuvar ilaçlar* 13. Baskı. 2009.
43. Larson AM. Acetaminophen hepatotoxicity. *Clinics in liver disease*, 2007, 11: 525-48, vi.
44. Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drug metabolism. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 185-94.
45. Dahlin DC, Miwa GT, Lu AY, Nelson SD. N-acetyl-p-benzoquinone imine: a cytochrome P-450-mediated oxidation product of acetaminophen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, 81: 1327-31.
46. Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II. Role of covalent binding in vivo. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 1973, 187: 195-202.
47. Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC. Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Molecular pharmacology*, 1980, 18: 536-42.
48. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical reviews in toxicology*, 2001, 31: 55-138.

49. Hinson JA, Reid AB, McCullough SS, James LP. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug metabolism reviews*, 2004, 36: 805-22.
50. Barile AF. *Clinical Toxicology Principles and Mechanisms*. Baski. Boca Raton, Florida, CRC Press LLC, 2004.
51. Clissold SP. Paracetamol and phenacetin. *Drugs*, 1986, 32 Suppl 4: 46-59.
52. Lim RK, Guzman F, Rodgers DW, Goto K, Braun C, Dickerson GD, Engle RJ. Site of Action of Narcotic and Non-Narcotic Analgesics Determined by Blocking Bradykinin-Evoked Visceral Pain. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, 1964, 152: 25-58.
53. Milton AS, Wendlandt S. A possible role for prostaglandin E1 as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat. *The Journal of physiology*, 1970, 207: 76P-77P.
54. Feldberg W, Gupta KP, Milton AS, Wendlandt S. Effect of pyrogen and antipyretics on prostaglandin activity in cisternal c.s.f. of unanaesthetized cats. *The Journal of physiology*, 1973, 234: 279-303.
55. Swierkosz TA, Jordan L, McBride M, McGough K, Devlin J, Botting RM. Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of mouse and rabbit. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 2002, 8: BR496-503.
56. Botting R.M. Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2000, 31 Suppl 5: S202-10.

57. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2004, 18: 790-804.
58. Davies NM, Good RL, Roupe KA, Yanez JA. Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice error?--Not as easy as 1, 2, 3. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques*, 2004, 7: 217-26.
59. Graham GG, Scott KF, Day RO. Tolerability of paracetamol. *Drug safety : an international journal of medical toxicology and drug experience*, 2005, 28: 227-40.
60. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 10th Baskı. New York, McGraw Hill Companies Inc, 2007 591-592.
61. Goldfrank LR, Flomenbaum N, Howland MA, Hoffman RS, Lewin NA, Nelson LS. Acetaminophen. İçinde: Hendrickson R BK (Çeviri editörü). *Goldfrank's Toxicology Emergencies*, 8th. Baskı. New York, McGraw-Hill Professional Publishing, 2006: 523-543.
62. Cengiz G. Parasetamolün Toksikolojik Analizi, Plazma ve Doku Lipid Peroksidasyonuna Etkisi. Ankara: Ankara Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, 1997.
63. Manda K BAL. Role of β -carotene against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Nutrition Research*, 2003, 23: 1097-1103.
64. Dökmeci I. *Toksikoloji Tedavilerinde Tanı ve Tedavi*. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2001.
65. John Senior. Acetaminophen Overview. 2002, 2013.
66. Dursun N. Cardiovascular effects of Leptin *Erciyes medical journal*, 2005, 27: 167-176.
67. Torun E BF. Endothelium as an endocrine organ and role of

- endothelin in hypertension. *Erciyes medical journal*, 2004, 26: 126-131.
68. Richter CM. Role of endothelin in chronic renal failure--developments in renal involvement. *Rheumatology (Oxford)*, 2006, 45 Suppl 3: iii36-8.
69. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988, 332: 411-5.
70. Siobal MS. Pulmonary vasodilators. *Respiratory care*, 2007, 52: 885-99.
71. Channick RN, Simonneau G, Sitbon O, Robbins IM, Frost A, Tapson VF, Badesch DB, Roux S, Rainisio M, Bodin F, Rubin LJ. Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomised placebo-controlled study. *Lancet*, 2001, 358: 1119-23.
72. Raiesdana A, Loscalzo J. Pulmonary arterial hypertension. *Ann Med*, 2006, 38: 95-110.
73. Weber C, Schmitt R, Birnboeck H, Hopfgartner G, Eggers H, Meyer J, van Marle S, Viischer HW, Jonkman JH. Multiple-dose pharmacokinetics, safety, and tolerability of bosentan, an endothelin receptor antagonist, in healthy male volunteers. *J Clin Pharmacol*, 1999, 39: 703-14.
74. Weber C, Schmitt R, Birnboeck H, Hopfgartner G, van Marle SP, Peeters PA, Jonkman JH, Jones CR. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the endothelin-receptor antagonist bosentan in healthy human subjects. *Clin Pharmacol Ther*, 1996, 60: 124-37.
75. Weber C, Banken L, Birnboeck H, Schulz R. Effect of the endothelin-receptor antagonist bosentan on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin. *J Clin Pharmacol*, 1999, 39: 847-54.

76. Dingemans J, van Giersbergen PL. Clinical pharmacology of bosentan, a dual endothelin receptor antagonist. *Clinical pharmacokinetics*, 2004, 43: 1089-115.
77. Ubeaud G, Schmitt C, Jaeck D, Lave T, Coassolo P. Bosentan, a new endothelin receptor antagonist: prediction of the systemic plasma clearance in man from combined in vivo and in vitro data. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, 1995, 25: 1381-90.
78. Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, Galie N, Black CM, Keogh A, Pulido T, Frost A, Roux S, Leconte I, Landzberg M, Simonneau G. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *The New England journal of medicine*, 2002, 346: 896-903.
79. Rubin LJ, Badesch DB. Evaluation and management of the patient with pulmonary arterial hypertension. *Annals of internal medicine*, 2005, 143: 282-92.
80. Dormandy TL. Free-radical reaction in biological systems. *Ann R Coll Surg Engl*, 1980, 62: 188-94.
81. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*, 1991, 161: 488-503.
82. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science*, 1978, 201: 875-80.
83. Akkus I. *Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri*. Baskı. Konya, Mimoza, 1995: 723.
84. Kruszewski M. Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutat Res*, 2003, 531: 81-92.
85. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 1994, 74: 139-62.
86. Bachschmid M, Schildknecht S, Ullrich V. Redox regulation of vascular prostanoid synthesis by the nitric oxide-superoxide system. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338: 536-42.

87. Halliwell B, JM. G. *Free radical in biology and medicine*. 3. Baskı. Oxford, Oxford University Press, 2000: 160-165.
88. Rangan U, Bulkley GB. Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. *Br Med Bull*, 1993, 49: 700-18.
89. McCord JM, Edeas MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother*, 2005, 59: 139-42.
90. Pasaoglu H. *Harper Biyokimya*. 11. Baskı. Nobel Tıp Kitabevi, 2004: 133.
91. Yapar SB ES. Alfa lipoik asidin rat karaciğer homojenatlarında indüklenmiş lipid peroksidasyonuna etkisi. Trakya Üniversitesi. Uzmanlık Tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi, 2006.
92. Chamberlain CG, Mansfield KJ, Cerra A. Nitric oxide, a survival factor for lens epithelial cells. *Mol Vis*, 2008, 14: 983-91.
93. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: part II. *J Ethnopharmacol*, 2003, 89: 217-9.
94. Kuralay F, Akarca US, Ozutemiz AO, Kutay F, Batur Y. Possible role of glutathione in prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity enhanced by fish oil in male Wistar rats. *J Toxicol Environ Health A*, 1998, 53: 223-9.
95. Curry RW, Jr., Robinson JD, Sughrue MJ. Acute renal failure after acetaminophen ingestion. *JAMA*, 1982, 247: 1012-4.
96. Boyer TD, Rouff SL. Acetaminophen-induced hepatic necrosis and renal failure. *JAMA*, 1971, 218: 440-1.
97. Davenport A, Finn R. Paracetamol (acetaminophen) poisoning resulting in acute renal failure without hepatic coma. *Nephron*, 1988, 50: 55-6.
98. Jeffery WH, Lafferty WE. Acute renal failure after acetaminophen overdose: report of two cases. *Am J Hosp Pharm*, 1981, 38: 1355-8.

99. Prescott LF, Speirs GC, Critchley JA, Temple RM, Winney RJ. Paracetamol disposition and metabolite kinetics in patients with chronic renal failure. *Eur J Clin Pharmacol*, 1989, 36: 291-7.
100. Trumper L, Monasterolo LA, Elias MM. Probenecid protects against In vivo acetaminophen-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1998, 284: 606-10.
101. Blantz R.C. Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function. *Am J Kidney Dis*, 1996, 28: S3-6.
102. Mazer M, Perrone J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *J Med Toxicol*, 2008, 4: 2-6.
103. Mayne TJ, Norcross JC, Sayette MA. Admission requirements, acceptance rates, and financial assistance in clinical psychology programs. Diversity across the practice-research continuum. *Am Psychol*, 1994, 49: 806-11.
104. Yousef MI, Omar SA, El-Guendi MI, Abdelmegid LA. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48: 3246-61.
105. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*, 1997, 43: 1209-14.
106. Newton RW, Prescott LF, Matthew H. Letter: Treatment of paracetamol overdose. *Lancet*, 1974, 2: 215.
107. Ghosh J, Das J, Manna P, Sil PC. Acetaminophen induced renal injury via oxidative stress and TNF-alpha production: therapeutic potential of arjunolic acid. *Toxicology*, 2010, 268: 8-18.

108. Mitchell JR, McMurtry RJ, Statham CN, Nelson SD. Molecular basis for several drug-induced nephropathies. *Am J Med*, 1977, 62: 518-26.
109. Blakely P, McDonald BR. Acute renal failure due to acetaminophen ingestion: a case report and review of the literature. *J Am Soc Nephrol*, 1995, 6: 48-53.
110. Becker BN, Fall P, Hall C, Milam D, Leonard J, Glick A, Schulman G. Rapidly progressive acute renal failure due to acyclovir: case report and review of the literature. *Am J Kidney Dis*, 1993, 22: 611-5.
111. Alternative Medicine Review. N-acetylcysteine. . *A Journal of Clinical Therapeutic*, 2000, 5: 467-471.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: SEDA ÖZALTIN
Doğum Tarihi	: 04.02.1989
Doğum Yeri	: KADIKÖY/İSTANBUL
Medeni Hali	: Bekar
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya AD, 25240 / ERZURUM
Telefon	: 05059493999
E-posta	: ozaltinseda@gmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Nevzat Ayaz Lisesi (YDA)(2006)
Lisans	: Ahi Evran Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji (2010) : Yıldız Teknik Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Formasyonu(2014)
Yüksek Lisans	: Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı (2012-)
YABANCI DİL BİLGİSİ	
İngilizce	: İyi derece (ÜDS 91.75, Mayıs 2012)
Almanca	:Başlangıç seviye
İLGİ ALANLARI, HOBİLER	
Kitap okumak, Spor yapmak, Tiyatroya gitmek	

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



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



Sayı : B.30.2.ATA.0.23.85-37
Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

24.02.2012
ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 23.02.2012 tarih ve B.30.2.ATA.0.01.02/883 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji ve Histoloji Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan "**Bosentan'ın Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 24.02.2012 tarih ve 2 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 26 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Prof. Dr. Mustafa ATASEVER
Başkan

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI	
Kayıt No	0181
Tarih	29.02.2012
Dosya No	

Toplantı Tarihi : 24.02.2012

Toplantı Sayısı : 2

KARAR NO : 26- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Zekai HALICI'nın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Farmakoloji ve Histoloji Anabilim Dallarının Laboratuvarlarında yürütülecek olan "**Bosentan'ın Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 23.02.2012 tarih ve B.30.2.ATA.0.01.02/883 sayılı yazıları ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; (**Yönergenin 5/f maddesi gereğince, Prof.Dr. Bünyami ÜNAL oylamaya katılmadı**), karar verildi.

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